



Emnekode : ML-208
Kandidatnr. : 8538
Dato : 1/12-16
Ark nr. : 1 av 5

1
Se tegning
neste side

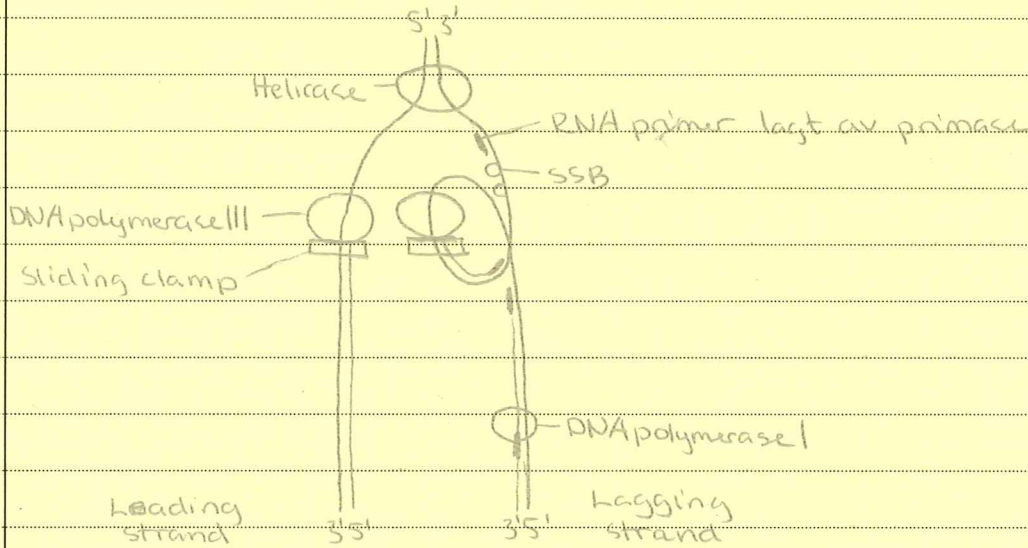
Hos prokaryoter starter replikasjonen i et punkt som kalles OriC. DnaA binder seg til dobbeltråden og åpner heliksen. Deretter fester Helicase seg og åpner heliksen, ~~men~~ (bytter hydroggenbindingene) mens den vandrer langs tråden. Replikasjonen er bidireksjonell, altså den går begge veier. På begynnelsen av syntesen, festes det en RNA primer av ~~RNA~~ primase (RNA polymerase). På primeren binder DNA polymerase III seg og begynner å replikere tråden i 5' → 3'. Begge trådene må syntetiseres i samme retning, derfor må den ene tråden dannes i etapper. Denne tråden kalles lagging strand. Her legges primeren ved replikasjonsgaffelen, DNA pol III fester seg, og syntetiserer ny tråd til den treffer en annen primer. Slik fortsetter det til tråden er ferdig replikert. Den tråden som dannes ^{i kun} i en etappe kalles leading strand. En etappe, fra en primer til neste, kalles et okazaki fragment. Disse må bli "limt" sammen. Det gjøres ved at først blir primeren fjernet ved hjelp av DNA polymerase I som deretter syntetiserer ny tråd. Trådene blir så festet sammen av DNA ligase.

Hovedenzymet
hos prokaryote → DNA polymerase III blir holdt på plass av en sliding clamp. For at begge DNA pol III'ene skal gå i samme retning, dannes det en brykke på lagging strand.

Enkeltrådet DNA er utsatt for ødeleggelse og liker best å være bundet til noe, derfor festes SSB til enkeltrådet DNA.



Emnekode : ML-208
Kandidatnr. : 8538
Dato : 1/12-16
Ark nr. : 2 av 5



Under replikasjonen dannes det positive supercoils. Det vil si at det dannes ekstra tvinginger på DNA tråden mens den replikeres. En topoisomerase som kalles DNA gyrase, legger derfor inn negative supercoils ved at den kutter begge rygggradene og "surer opp" tråden.

Hos eukaryote begynner replikasjonen på flere steder langs DNA.



Emnekode : ML-208
Kandidatnr. : 8538
Dato : 1/12-16
Ark nr. : 3 av 5

- 2 a) DNA polymerase III har selv evnen til å oppdage om feil nukleotid er satt inn. Da kutter den denne ut med en gang og setter inn riktig nukleotid. DNA pol har dermed to aktive seter, ett for den riktige basen og et exonucleotid-sete for den feile basen.
- b) Nukleotide excision repair er at området rundt en skade blir gjenkjent av enzymet exonuclease. Området rundt skaden og skaden blir kuttet bort. DNA polymerase syntetiserer ny tråd og DNA ligase limer sammen trådene. Dette er en utkutteringsreparasjon.

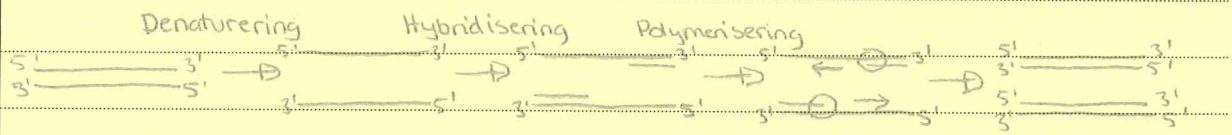
3. Et microarray er en liten chip med mange små felt. Man kan isolere mRNA fra ~~blodceller~~ de hvite blodcellene hos et individ når individet ikke går på medikamentet, deretter gjør det samme når individet går på medikamentet. Man må alltid isolere mRNA når det er snakk om genekspressjon. Deretter gjør man det om til cDNA ved revers transkriptase. cDNAene merkes med forskjellige farger, m/medikament merkes blått og u/medikament merkes rødt. På microarrayet er det mange felt. Hvert felt inneholder prober som er komplementær til cDNAene. Ett felt inneholder prober for ett gen/cDNA. Blandingen legges på mikroarrayet og man kan da studere hvordan genekspressjonen blir påvirket. Hvis et felt blir blått, er det økt genekspressjon av det genet i

forts oppg. 3

hvite blodceller ~~merkes~~ når individet går på medikamentet. Hvis et felt blir lilla (blanding av blå og rød) er det ca. like stor genekspressjon når individet er påvirket og ikke påvirket av medikamentet.

4. a)

PCR brukes for å kopiere/amplifisere DNA fragmenter. En PCR-mix inneholder templat-DNA, to forskjellige primere, dNTP og DNA polymerase. I løpet av en syklus skjer denaturering, hybridisering og polymerisering. I syklus 1 blir blandingen varmet opp til ca. 95°C slik at DNA denatureres. Deretter blir den avkjølt til ca. 55°C og da fester primerene seg. En primer er komplementær til en tråd. Det blir varmet opp igjen til ca. 72°C slik at DNA polymerase fester seg. DNA pol syntetiserer tråden og vi har nå fått dobbelt så mange kopier. I syklus 2 gjentar dette seg og vi får dobbelt så mange kopier som i syklus 1.



Deretter gjentas dette:





Emnekode : MI-208
Kandidatnr. : 8538
Dato : 1/12-16
Ark nr. : 5 av 5

Forts. oppg. 4a) PCR brukes blant annet til påvisning av sykdomsgener, mutasjonsanalyser og identifikasjon av personer.

pga. ikke optimal temperatur →

b) En grunn kan være at primeren har festet seg til andre deler av DNA, selv om den ikke passer helt, og amplifisert det området. Ved å benytte perfekt temperatur for primeren, kan det gjøre at den kun festes til områder som er helt komplementære.

Det kan også hende at andre DNA fragmenter kommer med i løsningen.