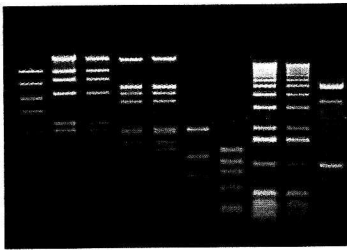


4. (Kap2_Enzyme)

(2 P)

a) Kleine DNA-Fragmente haben weniger negative Ladungen als große, aber das Masse/Ladungs-Verhältnis ist gleich. Warum wandern sie trotzdem schneller in der Agarose-Gelelektrophorese? (1P)



Antwort:

.....

.....

.....

.....

b) Warum geben bei Auftrennung der Produkte eines Restriktionsverdau in einer Spur eines Agarosegels große DNA-Fragmente im Ethidiumbromid-gefärbten Agarosegel normalerweise ein stärkeres Fluoreszenzsignal als kleinere? (1P)

.....

.....

5. (Kap3_Vektoren)

(2 P)

Nennen Sie 4 wesentliche Funktionslemente der pUC-Serie von Klonierungsvektoren (Funktionselemente konkret benennen!).

.....

.....

.....

.....

6. (Kap3_Vektoren)

(2 P)

Nennen Sie zwei Methoden/Verfahren wie man bei Klonierungsexperimenten Plasmid-DNA in Bakterien einbringen kann

.....

.....

7. (Kap4_PCR)

(2 P)

a) Bei der PCR werden in der Regel zwei unterschiedliche Primer verwendet. Binden beide am selben, oder an unterschiedlichen DNA-Strängen der DNA-Doppelhelix? (1P)

.....

b) In welcher Richtung wird bei der PCR polymerisiert (5→3 oder 3→5)? (1P)

.....

8. (Kap4_PCR)

(2 P)

Was muss alles in einem PCR-Ansatz vorhanden sein? Nennen Sie 4 Komponenten (Wasser ist nicht gemeint).

.....
.....
.....
.....

9. (Kap4_PCR)

(2 P)

a) Bei einer *real-time* PCR wird das PCR-Produkt während der PCR mit SYBR-Green I nachgewiesen. Primerdimere sollen dabei nicht erfasst werden. Findet die Fluoreszenzmessung bei 55°C, 72°C oder >72°C statt? (1P)

.....

b) Bei welcher der obigen Temperaturen erfolgt bei der LightCycler-PCR die Fluoreszenzmessung, wenn hybridisierende Sondenpaare (Hybprobes) statt SYBR-Green I verwendet werden? (1P)

.....

10. (Kap5_AltAmp)

(2 P)

Nennen Sie eine Methode zur Signalamplifikation, mit der man z.B. virale RNA sehr sensitiv nachweisen kann, ohne diese, oder auch nur Teile davon zu amplifizieren.

.....

11. (Kap6_AnwPCR)

(2 P)

Bei der Mutationsanalyse mit dem LightCycler ist die Detektionssonde von der Wildtyp-Sequenz abgeleitet. Bei einer heterozygoten Person erhalten Sie zwei „melting peaks“. Entspricht der „melting peak“ mit der hohen Schmelztemperatur der normalen oder der mutierten Sequenz?

.....

12. (Kap7_Sequenzierung)

(2 P)

- a) Mit welchen Nukleotiden kann man bei der Polymerisation (Sequenzierung) ein DNA-Fragment terminieren (ein Terminator-Nukleosidtriphosphat konkret benennen, Kürzell). (1P)

.....

- b) In welcher Gelmatrix werden Sequenzierfragmente aufgetrennt (Agarosegel oder Acrylamidgel)? (1P)

.....

13. (Kap7_Sequenzierung)

(2 P)

- a) An welcher Stelle des Zuckermoleküls (C-Atome 1' bis 5') unterscheidet sich ein dNTP von einem ddNTP? (Position eintragen) (1P)

Position:

- b) Welche der beiden DNA-Polymerasen verwendet man beim Cyclesequencing (bitte ankreuzen) (1P)

Klenow-Enzym

Taq-Polymerase

14. (Kap8_GenExpr)

(2 P)

Bei der quantitativen PCR in *real time* PCR Geräten wird der PCR-Verlauf mit Hilfe von Fluoreszenzmessungen erfasst. Mit welchen Molekülen bzw. Sonden werden PCR-Produkte in der *real time* PCR sichtbar gemacht? Nennen Sie zwei Möglichkeiten.

.....

.....

15. (Kap8_GenExpr)

(2 P)

Sie erhalten bei einer quantitativen LightCycler-Analyse aus zwei unterschiedlichen DNA- Proben zwei um 3 Zyklen versetzte sigmoide Kurven. Die eine erscheint bei etwa 20 PCR-Zyklen, die andere bei 23 PCR-Zyklen. Was können sie bezüglich der Anzahl der zu detektierenden DNA-Moleküle (oder RNA-Moleküle) in den Originalproben sagen?

.....

.....

16. (Kap8_GenExpr)

(2 P)

a) Was ist der wesentliche Unterschied zwischen einer Northern-Blot und einer Microarray-Genanalyse?

.....
.....

b) Könnte man mit beiden Techniken auch die Expression von ribosomaler RNA untersuchen oder eignen sie sich nur für mRNA?

.....
.....

17. (Kap09_Regulation)

(2 P)

Was ist der funktionelle Unterschied in der Wirkung von alkalischer Kälberdarm-Phosphatase (CIP) und Tabak Saure Phosphatase (TAP)?

.....
.....

18. (Kap09_Regulation)

(2 P)

Sie haben mit Hilfe eines Reportergenassays einen Promotor vor einem Gen auf eine 1.000 bp Region eingegrenzt. Wie gehen Sie nun vor um den Promotor noch mehr einzugrenzen (nennen Sie zwei Methoden/Verfahren)

.....
.....

19. (Kap10_GenbankAUF)

(2 P)

Wie können Sie feststellen, ob eine eukaryotische total-RNA-Präparation "gut" ist (RNA nicht degradiert)?

.....
.....

20. (Kap10_GenbankAUF)

(2 P)

Ich möchte einen Partialverdau von humaner DNA mit dem Enzym *EcoRI* machen. Wie erreiche ich, dass daraus kein Komplettdau resultiert? (2 Lösungsansätze nennen).

.....
.....

21. (Kap11_GenbankSCR)

(2 P)

Was versteht man unter Colonylift und Plaquelift beim Genbankscreening?

.....
.....
.....

22. (Kap11_GenbankSCR)

(2 P)

Bei der DNA-Hybridisierung bei einem Southernblot wird doppelsträngige DNA auf eine geeignete Membran übertragen und mit einer markierten, einzelsträngigen Sonde hybridisiert. Was müssen Sie mit der DNA bzw. der Membran machen, damit die Sonde hybridisieren kann? (Zwei Aktionen vor der Vorhybridisierung sind gefragt)

.....
.....

23. (Kap12_Oligosynthese)

(2 P)

Nennen Sie 4 Anwendungen für die Verwendung von Oligonukleotiden (Schlagwörter ausreichend, je 0,5 Punkte)

1.
2.
3.
4.

24. (Kap12_Oligosynthese)

(2 P)

Bei der chemischen Oligonukleotidsynthese werden DMT (Dimethoxytrityl) und auch Cyanoethyl-N,N-diisopropylaminophosphit als Schutzgruppen der Phosphoramidite verwendet. Welche funktionelle Gruppe des Nukleotids wird mit diesen jeweils geschützt?

- 5'-OH mit
- 3'-OH mit

25. (Kap12_Oligosynthese)

(2 P)

Bei der *in vitro* Mutagenese wird ein mutiertes (die Mutation enthaltendes/spezififizierendes) Oligonukleotid an die ss-Form eines Plasmids hybridisiert und durch Polymerisation die ds-Form des Plasmids generiert. Nennen Sie 2 Techniken (mit wenigen Schlagworten beschreiben), die es möglich machen, dass nach Transformation von *E. coli* bevorzugt der mutierte Strang des doppelsträngigen Plasmids vermehrt wird.

- 1
- 2