

## **BXY 11: Grundlegende Methoden der Molekularbiologie und Gentechnik**

### **Modulabschlussklausur vom 08.02.2010**

Klausur war MultipleChoice-Test mit drei oder vier Antwortmöglichkeiten

1. Welche Vektoren können zur Generierung von Einzelstrang-DNA verwendet werden?
  - Plasmide
  - M13
  - Lambda
  - Plasmid + Helferphage
2. Was sind, chemisch betrachtet, Dye-Terminatoren?
3. Beim Schneiden von DNA liefert eine Restriktase „glatte Enden“. Wo in der Erkennungssequenz schneidet das Enzym?
  - 5'-von Symmetrieachse entfernt
  - 3'-von Symmetrieachse entfernt
  - genau an Symmetrieachse
4. Welche katalytischen Aktivitäten, außer der DNA-Syntheseaktivität, können DNA-abhängige DNA-Polymerasen noch besitzen?
  - keine
  - 5'-3'-Exonuklease
  - 3'-5'-Exonuklease
  - Endonuklease
5. Sie sollen aus einer polyA-minus-RNA (enthält keinen PolyA-Teil) eine cDNA herstellen. Welche Primer können Sie in der reversen Transkriptionsreaktion einsetzen?
  - Oligo-dT-Primer
  - Oligo-dA-Primer
  - Random-Primer
6. In einem Klonierungsexperiment soll ein DNA-Fragment mit 5'-überstehenden Enden mit einem Vektor ligiert werden, der mit einem Restriktionsenzym gespalten wurde, das glatte Enden liefert. Welche Möglichkeiten haben Sie?
7. Welche Eigenschaften sollten Polyacrylamidgele (oder Polymere in Kapillaren) aufweisen, die zur Auftrennung von Strangabbruchfragmenten (Sanger-Sequenzierung) dienen sollen?
8. Welcher Typ von Restriktionsendonukleasen wird vorrangig in der Gentechnologie eingesetzt?
  - Typ I
  - Typ II
  - Typ III
9. Welche Bedingungen müssen bei der Ligation vorherrschen, damit bevorzugt bimolekulare Reaktionen zwischen Vektor und Insert auftreten?
  - hohe DNA-Konzentration
  - niedrige DNA-Konzentration
  - Niedrige Ligasekonzentration
  - sehr hohe Konzentration an zwei-wertigen Ionen

10. Ein Säuger-Protein soll in einem E. coli-Expressionssystem als Fusionsprotein (Fusionspartner ist N-Terminal) exprimiert werden. Worauf müssen Sie bei der Klonierung achten?
  - Codon-Usage von Säuger und E. coli-Gen sollte ähnlich sein
  - Säuger-Sequenz sollte Promotor enthalten
  - Säuger-Sequenz muss Startcodon enthalten
  - Frame-Shift von Säuger-Gen und E. coli-Gen
  
11. Für die Herstellung einer genomischen Bibliothek wurden DNA-Fragmente mit einer durchschnittlichen Länge von 40-60kb erzeugt. Welchen Vektortyp könnte verwendet worden sein?
  - Cosmide
  - Pasmide
  - Lambda
  
12. Was sind Isoschizomere?
  
13. Sie sollen ein Oligonukleotid mit  $^{32}\text{P}$  endmarkieren. Was können Sie benutzen?
  - DNA-Polymerase und alpha- $^{32}\text{P}$ -dNTPs
  - Polynukleotidkinase und gamma- $^{32}\text{P}$ -ATP
  - Terminale Transferase und alpha- $^{32}\text{P}$ -dNTPs
  - T4-Ligase und alpha- $^{32}\text{P}$ -dNTPs
  
14. Bei der Ligation von Insert- und Vektor-DNA wird häufig der Vektor zunächst dephosphoryliert. Wozu führt dies?
  
15. Ein Plasmidvektor enthält zwei Antibiotikaresistenz-Gene, jedoch kein LacZ'-Gen. Welche Art der Selektion (von rekombinanten Molekülen) betet sich an?
  - Insertionsinaktivierung
  - Histochemische Selektion
  - Biologische Selektion
  
16. In einer PCR-Reaktion soll ein Fragment amplifiziert werden, das nur eine minimale Anzahl von Sequenzfehlern enthalten darf. Welche thermostabile Polymerase setzen Sie dazu ein?
  - eine mit 3'  $\rightarrow$  5' Exonukleaseaktivität
  - eine mit 5'  $\rightarrow$  3' Exonukleaseaktivität
  - eine ohne jede Exonukleaseaktivität
  
17. Welche Teile des Ti-Plasmids werden bei der Agrobacterium-vermittelten Transformation von Pflanzen übertragen?
  - nur T-DNA
  - Gene für Octopin-Nopalin-Katabolismus
  - gesamtes Ti-Plasmid
  
18. Bei der DNA-Sequenzierung nach Sanger werden Strangabbrüche wodurch erzeugt?
  - Mutierte DNA-Polymerase
  - Didesoxynucleotide
  - ...
  
19. Bei der Pyrosequenzierung wird der Einbau der dNTPs wodurch gemessen?
  
20. Wodurch unterscheidet sich das Cycle-Sequencing-Verfahren von einer regulären PCR?
  - nur ein Primer

- keine Amplifikation
  - ...
21. In der quantitativen PCR werden häufig sogenannte TaqMan-Sonden eingesetzt. Wodurch wird das Fluoreszenzsignal generiert?
22. Ein Microarray mit genspezifischen Oligonukleotiden soll zur Messung der Genexpression eingesetzt werden. Welche Art von Sonden verwenden Sie?
- mit RNA oder cDNA
  - mit genomischer DNA
  - mit Oligonukleotiden
23. Sie sollen eine genomische DNA-Bibliothek herstellen. Wie generieren Sie die Fragmente?
- durch möglichst vollständigen Verdau der genomischen DNA mit Restriktasen
  - durch partiellen Verdau der genomischen DNA mit Restriktasen
  - durch mechanisches Scheren der genomischen DNA und anschließende Reparatur („blunting“) der Enden
  - durch PCR-basierte Amplifikation der genomischen DNA
24. Worauf beruht die histochemische Selektion für rekombinante Plasmidvektoren?
25. Was versteht man unter RACE?
- Wettlauf um Sequenzierung des Humangenoms
  - Amplifikation unbekannter cDNA-Enden
  - ...
26. Bei Typ-II-Restriktionsendonukleasen sind Endonuklease und Methylase ...?
- getrennte Enzyme mit einer gemeinsamen Untereinheit
  - ein multifunktionelles Enzym aus 3 Untereinheiten
  - getrennte Enzyme ohne gemeinsame Untereinheit
27. Welches Protein kann im Nickel-Agarose-Gel getrennt werden?
- Beta-Galaktosidase
  - MBP (maltose-binding-protein)
  - His-tag
28. Welche Enzyme werden für Erststrangsynthese bei cDNA-Synthese benötigt?
- reverse Transkriptase + RNase H
  - nur reverse Transkriptase
  - DNA-Polymerase
29. Ein Enzym aus Drosophila soll im Expressions-System zur Expression gebracht werden. Das Enzym benötigt für die Aktivität eine posttranslationale Modifikation (Glykosylierung). Welches Expressionssystem ist geeignet?
- Saccharomyces cerevisiae - Expressionssystem
  - Bacillus-subtilis - Expressionssystem
  - zellfreies E.coli – Expressionssystem
  - Baculo(?) -Virus in Insektenzellen
30. Es soll eine Restriktionsschnittstelle in ein Amplikon eingefügt werden. Wo müssen diese eingefügt werden, wenn man PCR Fragmente in einen Vektor bringen möchte
- am 3' Ende

- am 5' Ende
  - intern
31. Wie kann man 5'-überhängende Enden glatt machen?
- mit DNA-Polymerase und den 4 dNTPs
  - mit S1 Nuclease
  - mit DNase I und Mn
32. Welches ist die am häufigsten angebaute transgene Pflanze?
- Sojabohne
  - Mais
  - Baumwolle
  - Canola
33. Was bedeutet Sicherheitsstufe S1?
- kein Risiko für die menschliche Gesundheit und Umwelt
  - geringes Risiko für die menschliche Gesundheit und Umwelt
  - mäßiges Risiko für die menschliche Gesundheit und Umwelt
34. Wozu dient die Pulsfeld-Gelelektrophorese?
- zur Auftrennung besonders kleiner DNA-Fragmente
  - zur Auftrennung von Fragmenten >100kb
  - zur Kartierung genomischer Bibliotheken
35. Was sind degenerierte Primer?
36. Was passiert bei quantitativer real-time PCR mit TaqMan-Sonden?
- Reporter wird durch Exonukleaseaktivität abgespalten, dadurch entsteht Fluoreszenz, weil dann entfernt von Quencher
  - SYBR Sonde macht irgendwas mit TaqMan
37. Was macht der Blast-Algorithmus?
- Vergleich von Sequenzen mit einer Datenbank
  - schreibt Nukleotidsequenz in Aminosäuresequenz um
38. Durch die Herstellung von subtraktiven cDNA-Bibliotheken kann man ...?
- Anreicherung von ...
  - Trennung von genomischer DNA ...
  - ...
39. Ein toxisches Protein soll in E. coli exprimiert werden, das auch für E. coli toxisch ist. Was muss beachtet werden?
40. Zu welcher Komplementierung des LacZ-Gens kommt es bei der Blau-Weiß-Selektion?
- intra-allelische Komplementierung
  - inter-allelische Komplementierung
  - ...