

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

**Peperiksaan Semester Pertama
Sidang Akademik 1999/2000**

SEPTEMBER 1999

BTT 201/3 - Teknik-Teknik Bioteknologi Molekul

Masa : [3 jam]

Jawab **LIMA** daripada **ENAM** soalan.

Tiap-tiap soalan bernilai 20 markah.

1. Tulis nota bagi lima enzim berikut:
 - (a) Enzim pembatas
 - (b) Fosfatase alkali
 - (c) T4 Ligase DNA
 - (d) DNA Polimerase I
 - (e) Nuklease S1
 - (f) Transkriptase berbalik

(20 markah)

2. Jelaskan proses penjujukan DNA mengikut kaedah:
 - (a) Kaedah berenzim (Sanger)

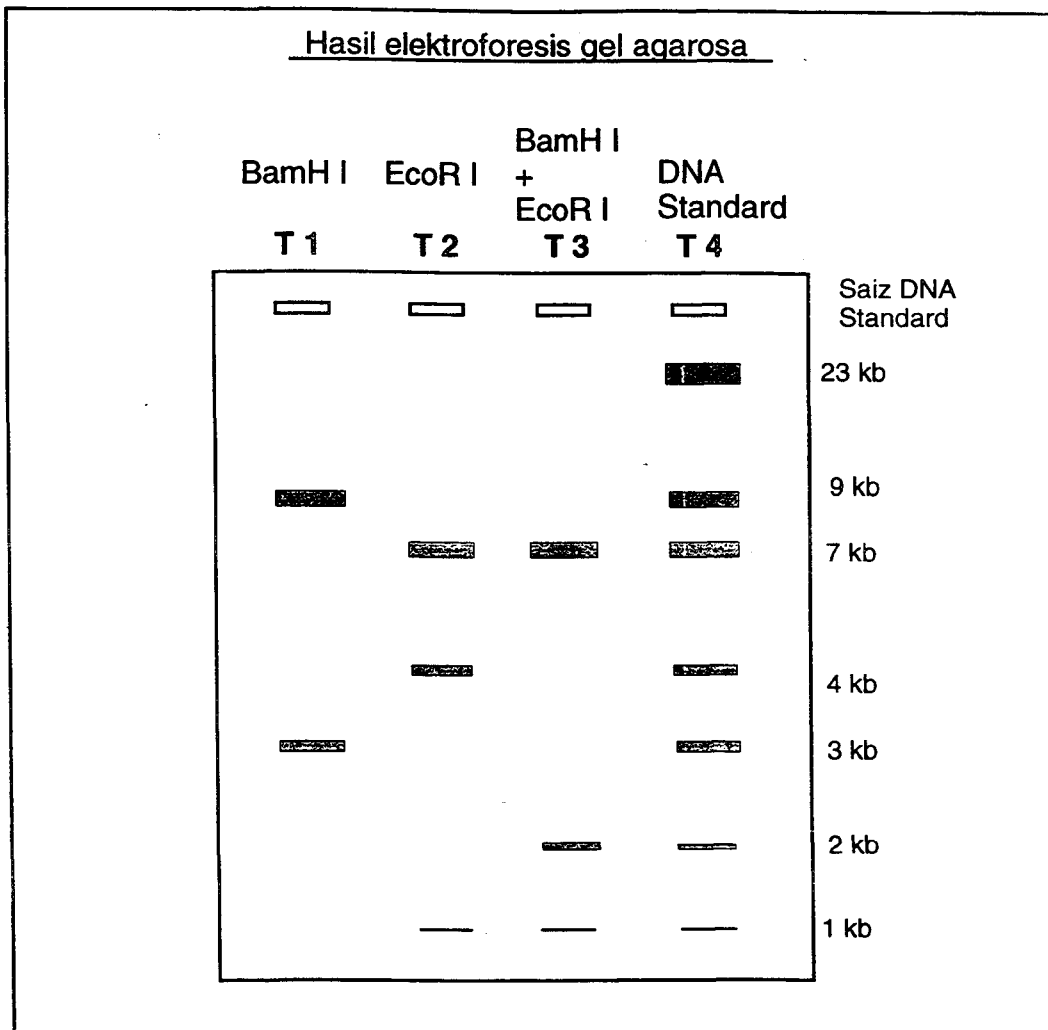
(10 markah)
 - (b) Kaedah kimia (Maxam-Gilbert)

(10 markah)

3. (a) Anda ditugaskan membina peta pembatasan satu fragmen DNA. Fragmen DNA tersebut telah dihadamkan dengan dua enzim iaitu BamH I dan EcoR I dalam 3 tiub seperti berikut:
 - (i) Tiub 1 - DNA dihadam dengan BamH I.
 - (ii) Tiub 2 - DNA dihadam dengan EcoR I.
 - (iii) Tiub 3 - DNA dihadam dengan BamH I dan EcoR I serentak.

Hadaman di atas telah dianalisis dengan elektroforesis gel agarosa. Kandungan Tiub 1 dimasukkan ke dalam Telaga T1, Tiub 2 ke dalam Telaga T2 dan Tiub 3 ke dalam Telaga T3. Telaga T4 pula mengandungi standard berat molekul DNA. Skema dan keputusan elektroforesis gel agarosa adalah seperti Rajah 1 di bawah.

[BTT 201/3]



Rajah 1. Skema ringkas penghadaman dengan enzim pembatas serta keputusan elektroforesis gel agarosa selepas penghadaman.

Berpandukan keputusan elektroforesis di atas, tentukan peta pembatasannya.

(10 markah)

.../4-

3. (b) Anda diberi satu larutan DNA bebenang dua yang bersaiz 2.3 kb. Oleh kerana kepekatan DNA adalah terlalu tinggi untuk dibaca dengan spektrofotometer, satu pencairan telah dilakukan dengan menambah 650 μ l air kepada 50 μ l larutan DNA. Ketumpatan optik cairan tersebut ialah 1.84. Jumlah isipadu larutan DNA yang diberi kepada anda ialah 2.5 ml. Dengan bantuan data asid nukleik yang dilampirkan, hitung faktor-faktor di bawah bagi larutan DNA yang asal, sebelum pencairan.
- (i) Berat molekul fragmen DNA.
 - (ii) Kepekatan DNA.
 - (iii) Jumlah kuantiti DNA yang anda terima.
 - (iv) Bilangan molekul fragmen DNA bagi jumlah di atas.
- (10 markah)
4. (a) Bincangkan ciri-ciri sesuai yang dipunyai oleh plasmid untuk penghasilan protein rekombinan.
- (10 markah)
- (b) Huraikan langkah yang sesuai dalam pembentukan perpustakaan genom.
- (10 markah)
5. Skema pembentukan perpustakaan cDNA daripada jantung lembu.
- (20 markah)
6. Terangkan dengan bantuan gambarajah penghibridan Southern dan senaraikan dua daripada kegunaannya.
- (20 markah)

DATA ASID NUKLEIK

(BTT 201/3)

Nucleic Acid Data

Average weight of α DNA basepair (sodium salt) = 650 daltons

- 1.0 A_{260} unit ds DNA = 50 $\mu\text{g/ml}$ = 0.15 mM (in nucleotides)
- 1.0 A_{260} unit ss DNA = 33 $\mu\text{g/ml}$ = 0.10 mM (in nucleotides)
- 1.0 A_{260} unit ss RNA = 40 $\mu\text{g/ml}$ = 0.11 mM (in nucleotides)

MW of a double-stranded DNA molecule = (# of base pairs) X (650 daltons/base pair)
 Moles of ends of a double-stranded DNA molecule = 2 X (grams of DNA) / (MW in daltons)
 Moles of ends generated by restriction endonuclease cleavage:
 a) circular DNA molecule: 2 X (moles of DNA) X (number of sites)
 b) linear DNA molecule: 2 X (moles of DNA) X (number of sites) + 2 X (moles of DNA)

- 1 μg of 1000 bp DNA = 1.52 pmol = 9.1×10^{11} molecules
- 1 μg of pUC18/19 DNA (2686 bp) = 0.57 pmol = 3.4×10^{11} molecules
- 1 μg of pBR322 DNA (4361 bp) = 0.35 pmol = 2.1×10^{11} molecules
- 1 μg of M13mp18/19 DNA (7250 bp) = 0.21 pmol = 1.3×10^{11} molecules
- 1 μg of λ DNA (48502 bp) = 0.03 pmol = 1.8×10^{10} molecules

- 1 pmol of 1000 bp DNA = 0.66 μg
- 1 pmol of pUC18/19 DNA (2686 bp) = 1.77 μg
- 1 pmol of pBR322 DNA (4361 bp) = 2.88 μg
- 1 pmol of M13mp18/19 DNA (7250 bp) = 4.78 μg
- 1 pmol of λ DNA (48502 bp) = 32.01 μg

1.0 kb DNA = coding capacity for 333 amino acids 37,000 dalton protein
 10,000 dalton protein 270 bp DNA
 50,000 dalton protein 1.35 kb DNA

Avogadro's number = 6.022×10^{23}

The Genetic Code

A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
Ala	Arg	Asn	Asp	Cys	Gln	Glu	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val
5' GCA	CGA	AAC	GAC	UGC	CAA	GAA	GGA	CAC	AUA	CUA	AAA	AUG	UUC	CCA	UCA	ACA	UGG	UAC	GUA
	C	C	U	U	G	G	C	U	C	C	G	U	U	C	C	C	U	U	C
	G	G					G		U	G				G	G	G			G
	U	U					U		U	U				U	U	U			U
		or								or					or				
		AGA								UUA					AGC				
		G								G					U				U

Termination Signals

- UAA (Ochre)
- UAG (Amber)
- UGA (Opal)

		Second Position					
		U	C	A	G		
First Position (5' end)	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } Ser UCC } UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA } Stop UAG } Stop	UGU } Cys UGC } UGA } Stop UGG } Trp	U C A G	
	C	CUU } Leu CUC } CUA } CUG }	CCU } Pro CCC } CCA } CCG }	CAU } His CAC } Gln CAA } CAG }	CGU } Arg CGC } CGA } CGG }	U C A G	
	A	AUU } Ile AUC } Met AUA } AUG }	ACU } Thr ACC } ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } Lys AAA } AAG }	AGU } Ser AGC } Arg AGA } AGG }	U C A G	
	G	GUU } Val GUC } GUA } GUG }	GCU } Ala GCC } GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } Glu GAA } GAG }	GGU } Gly GGC } GGA } GGG }	U C A G	
		Third Position (3' end)					

Isotope Data

Isotope	Particle Emitted	Half Life	
^{14}C	β	5,730 years	1 Ci = 1,000 mCi
^3H	β	12.3 years	1 mCi = 1,000 μCi
^{125}I	γ	60 days	1 μCi = 2.2×10^6 disintegrations/minute
^{32}P	β	14.3 days	1 Becquerel = 1 disintegration/second
^{33}P	β	25 days	1 μCi = 3.7×10^4 Becquerels
^{35}S	β	87.4 days	1 Becquerel = 2.7×10^{-5} μCi