

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

**Peperiksaan Semester Pertama
Sidang Akademik 1995/96**

Oktober/November 1995

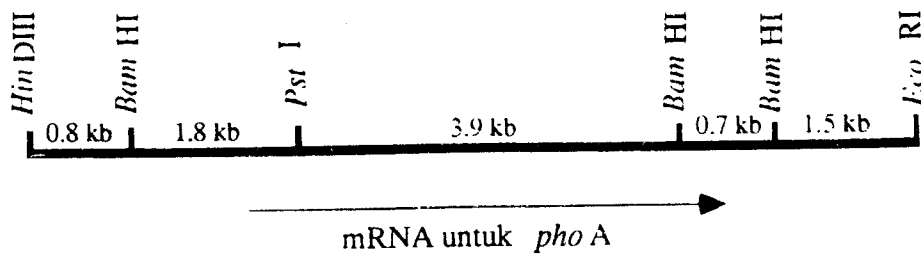
BTT 431/3 : Kejuruteraan Genetik

Masa: [3 jam]

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

Tiap-tiap soalan bernilai **20** markah.

1. Gambarajah berikut menunjukkan serpihan DNA *EcoRI* bersaiz 8.7 kilopasangan bes (kb) yang mengandungi gen struktur *phoA* daripada *Azotobacter vinelandi*. Gen *phoA* mengkod enzim alkalin fosfatase. Serpihan ini telah diklonkan dalam tapak penklonan berbilang plasmid pUC18. (Sila rujuk gambarajah plasmid pUC18 yang diberi sebagai panduan).



- (a) Jelaskan strategi dan kaedah yang akan anda gunakan untuk menentukan tapak permulaan traskripsi gen *phoA* dalam sel *A. vinelandi*.
- (b) Anda ingin memusnahkan jujukan gen yang mengandungi tapak pembatasan *PstI* tanpa mengganggu struktur primer polipeptida enzim tersebut. Berikut adalah jujukan DNA serta asid amino bahagian yang terlibat:

TTC GAA ATT TCT GCA GAT GCC GAG ATC

phe val ile ser ala asp ala glu ile

(jujukan pembatasan *PstI* = CTGCA ^G)

Terangkan langkah-langkah yang akan anda lakukan untuk memusnahkan tapak *PstI* tersebut.

(20 markah)

...3/-

[BTT 431/3]

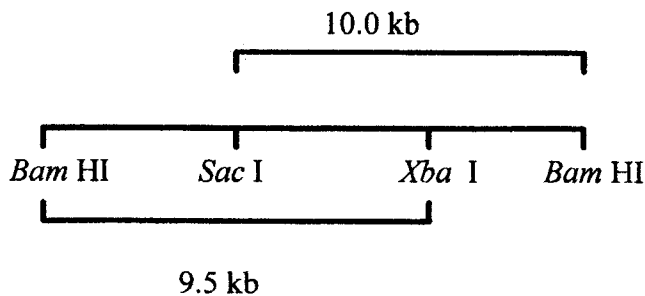
2. (a) Berikan tindakbalas yang dilakukan oleh enzim di bawah serta kegunaannya dalam kejuruteraan genetik:

serpihan Klenow
T4 polinukleotida kinase
T7 RNA polimerase
terminal deoksinukleotidil transferase

- (b) Huraikan sistem penklonan “kromosom buatan yis” (YAC) dengan menggunakan gambarajah.

(20 markah)

3. (a) Satu serpihan *Bam*HI bersaiz 12 kb yang mempunyai struktur di bawah dilabelkan dengan 32 P.



Serpihan *Bam*HI-*Sac*I yang bersaiz 10 kb dan *Bam*HI-*Xba*I yang bersaiz 9.5 kb dipencil dan ditulen secara berasingan dan dilakukan penghadaman separa dengan *Pst*I untuk tujuan pemetaan.

Saiz jalur yang dilihat adalah seperti berikut:-

Serpihan *Bam*HI-*Xba*I: 0.5 kb, 1.7 kb, 2.4 kb, 3.3 kb, 7.7 kb dan 9.5 kb.

Serpihan *Bam*HI-*Sac*I: 0.4 kb, 2.1 kb, 4.3, kb, 8.7 kb, 9.6 kb dan 10.0 kb.

.../4-

Berikan dua cara perlabelan serta peta pembatasan penuh serpihan *Bam*HI yang bersaiz 12 kb ini.

- (b) Dengan bantuan gambarajah, huraikan prinsip eksperimen penapak-
kakan DNase I (DNase I footprinting).
(20 markah)
4. (a) Bincangkan strategi yang boleh anda gunakan untuk membina satu
“vektor pengekspresian” yang melibatkan sistem pengawalaturan
bakteriofaj lambda (λ).
- (b) Bincangkan pembentukan dan perklonan cDNA ke dalam plasmid
pUC18 serta penyaringan klon yang dikehendaki.
(20 markah)
5. (a) Berikut adalah keputusan penyejajaran protein NifH daripada beberapa
mikroorganisma dengan menggunakan perisian komputer analisis
DNA.

B. japonicum DPYLVAVSRANIMTGTWKNVDFSYVGAK

A. vinelandi DYYIAPVGRSTLMTGTWKGDNKETTFLGGS

K. pneumoniae ... DPYLLAITNSNLMTGTWKGDNLEFTYVGRT

Berikan nilai keseirasan dan nilai kesamaan antara:

Protein NifH *Bradyrhizobium japonicum* dengan *Klebsiella pneumoniae*

Protein NifH *Bradyrhizobium japonicum* dengan *Azotobacter vinelandi*

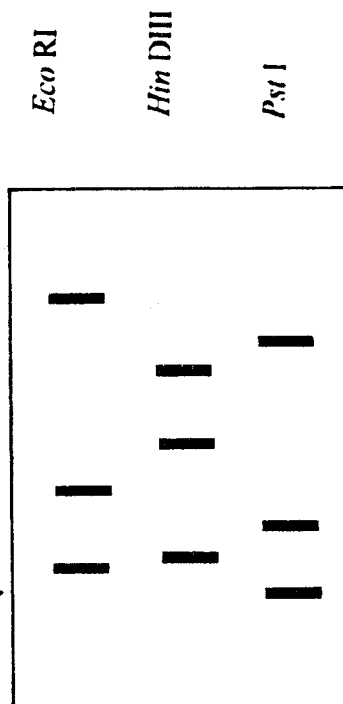
(4 markah)

..15-

5. (b) Jika anda ingin menklonkan gen *nifH* daripada perpustakaan genom *Bacillus azotofixans*, berikan jujukan oligonukleotida yang sesuai untuk digunakan sebagai prob. Gunakan jadual kodon yang diberi sebagai panduan.

(8 markah)

- (c) Anda telah menghibridkan prob terlabel tersebut dalam eksperimen pemblotan Southern menggunakan DNA kromosom *B. azotofixans* yang dihadam dengan beberapa enzim pembatasan. Keputusannya adalah seperti gambarajah di bawah:



Berikan intepretasi yang lengkap mengenai keputusan yang didapati eksperimen Southern ini.

(8 markah)

.../6-

[BTT 431/3]

6. Huraikan prinsip tindakbalas rantai polimerase (PCR) serta kegunaannya dalam keadaan berikut:

- (a) kajian pengekspresian gen
- (b) penjujukan DNA
- (c) mutagenesis gen

(20 markah)

-oooOooo-

(BTT 431/3)

Amino acid	Three-letter Abbreviation	One-letter Symbol
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Aspartic acid	Asp	D
Asparagine or aspartic acid	Asx	B
Cysteine	Cys	C
Glutamine	Gln	Q
Glutamic Acid	Glu	E
Glutamine or glutamic acid	Glx	Z
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Methionine	Met	M
Phenylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Serine	Ser	S
Threonine	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V

		2nd Position					
		U	C	A	G		
U	1st Position	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U	3rd Position
		UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	C	
		UUA Leu	UCA Ser	UAA End	UGA End	A	
		UUG Leu	UCG Ser	UAG End	UGG Trp	G	
C	1st Position	CUU Leu	CUU Pro	CAU His	CGU Arg	U	3rd Position
		CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C	
		CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	A	
		CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	G	
A	1st Position	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U	3rd Position
		AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C	
		AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	A	
		AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	G	
G	1st Position	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U	3rd Position
		GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C	
		GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A	
		GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G	

The codons read in the 5' → 3' direction.
Termination codons are in bold

KUMPULAN-KUMPULAN ASID AMINO

Asid amino tak berkhutub	=	Ala, A Ile, I Trp, W	Val, V Pro, P Met, M	Leu, L Phe, F
Asid amino berkhutub tetapi tak bercas	=	Gly, G Cys, C Gln, Q	Ser, S Tyr, Y	Thr, T Asn, N
Asid amino bersifat asid	=	Asp, D	Glu, E	
Asid amino bersifat bes	=	His, H	Lys, K	Arg, R
