
UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

First Semester Examination
Academic Session 2009/20010

November 2009

BTT 202/3 – Techniques in Biotechnology
[Teknik-Teknik Bioteknologi]

Duration: 3 hours
[Masa : 3 jam]

Please ensure that this examination paper contains SEVEN printed pages before you begin the examination.

[Sila pastikan bahawa kertas peperiksaan ini mengandungi TUJUH muka surat yang bercetak sebelum anda memulakan peperiksaan ini.]

Instructions: Answer **FIVE** (5) out of **SIX** (6) questions, in English or Bahasa Malaysia. Each question carries 20 marks.

[Arahan: Jawab **LIMA** (5) daripada **ENAM** (6) soalan yang diberikan dalam Bahasa Inggeris atau Bahasa Malaysia. Tiap-tiap soalan bernilai 20 markah.]

In the event of any discrepancies, the English version shall be used.

[Sekiranya terdapat sebarang percanggahan pada soalan peperiksaan. versi Bahasa Inggeris hendaklah diguna pakai].

1. [a] What is Native PAGE and what is its purpose?
(5 marks)
- [b] What is SDS-PAGE (denaturing PAGE) and what is its purpose?
(5 marks)
- [c] Name **FIVE** (5) fundamentally different properties of a protein molecule which can be used in a purification scheme. For each property, name one technique which uses it for separation.
(10 marks)
2. [a] Using a diagram describe the mechanism of affinity chromatography.
(10 marks)
- [b] There are two methods to measure protein concentration, ultraviolet spectrophotometer and calorimetric. Describe the principle of the two methods.
(10 marks)
3. [a] When cells are grown in a batch reactor, they go through a series of stages. Using a diagram, name and describe the stages involve.
(10 marks)
- [b] What are the advantages of continuous bioreactors over batch bioreactors?
(10 marks)

4. Describe the techniques and steps needed for the following items:
- [a] Identification of a Klinefelter's Syndrome individual (having XXY chromosomes).
 - [b] Detection of a point mutation in the BRCA1 or BRCA2 genes, that cause breast cancer in a patient.
 - [c] Cloning of an *Eco*RI (G[^]AATTC) DNA fragment into a *Sma*I (GGG[^]CCC) cloning site in a plasmid.
 - [d] Analysis of the insulin mRNA cellular concentration in a diabetic and a normal individual.

(20 marks)

5. [a] The current human genome sequence is actually a DNA sequence of various individuals. Elaborate two reasons why individual genome sequencing is very much needed.

(8 marks)

- [b] Describe the polymerase chain reaction (PCR) process with the help of a diagram. Explain the basic principle of every step and label every component.

(12 marks)

6. An analysis of 120 families identified a region of chromosome 16 that might be associated with a protein that is present only in brain cancer tissue. The DNA sequence of three distinct portions of the gene of this protein are as follow:

A. 5' GCTGACACCGG GCACGGTAGG GTAACAATCC AGCCTGGGCG GAGCCGGAGT TCGGAGCCG ... 3'
3' CGACTGTGGCC CGTGCCATCC CATTGTTAGG TCGGACCCGC CTCGGCCTCA ACGCTCGGC ... 5'

B. 5' ATGGGCTGGA GGCCCCGGTG AGCTCGGGGG ACCCCGTTGC TGCTGCTGCT ACTACTGCTG ... 3'
3' TACCCGACCT CCGGGGCCAC TCGAGCCCC TGGGGCAACG ACGACGACGA TGATGACGAC ... 5'

C. 5' CACAGCTATG GGCTGGAGGC CCGGAGAGC TCGGGGGACC CCGTTGCTGC TGCTGCTACT ... 3'
3' GTGTCGATAC CCGACCTCCG GGGCCTCTCG AGCCCCCTGG GGCAACGACG ACGACGATGA ... 5'

- [a] Which of the sequences above encode the beginning of the protein?

(3 marks)

- [b] What criteria did you use to answer question [a]?

(3 marks)

- [c] Give the sequences of the pair of primers that you should develop to amplify the cDNA of this gene?

(4 marks)

- [d] Describe two techniques that you can use to measure the expression level of this gene in various types of tissues.

(10 marks)

1. [a] Apakah Native-PAGE dan tujuannya.
(5 markah)
- [b] Apakah SDS-PAGE (PAGE denaturan) dan tujuannya.
(5 markah)
- [c] Namakan **LIMA** (5) ciri yang ada pada sesuatu molekul protein yang dapat digunakan didalam proses penulenan. Untuk setiap ciri, namakan satu teknik yang dapat digunakan untuk tujuan pemisahan
(10 markah)

2. [a] Dengan menggunakan gambarajah, terangkan mekanisma kromatografi affiniti
(10 markah)
- [b] Terdapat dua kaedah untuk mengukur kepekatan protein, iaitu dengan menggunakan spektrofotometer ultraviolet dan kalorimetri. Huraikan prinsip dua kaedah ini.
(10 markah)

3. [a] Apabila sel-sel dikulturkan didalam reaktor kelompok, ia akan mengikuti satu siri peringkat pertumbuhan. Dengan menggunakan gambarajah, nama dan terangkan setiap peringkat yang terlibat.
(10 markah)
- [b] Apakah kelebihan bioreaktor berterusan berbanding bioreaktor kelompok.
(10 markah)

4. Huraikan teknik serta langkah yang perlu diambil untuk perkara tersebut:

- [a] Mengenalpasti kes sindrom Klinefelter yang mempunyai kromosom XXY.
- [b] Pengesanan mutasi titik dalam gen BRCA1 atau BRCA2 yang menyebabkan kanser payudara dalam pesakit.
- [c] Pengklonan fragmen DNA *EcoRI* (G[^]AATTC) dalam tapak pengklonan *SmaI* (GGG[^]CCC) dalam plasmid.
- [d] Analisis kepekatan mRNA insulin dalam sel individu berpenyakit kencing manis (diabetes) dan individu normal.

(20 markah)

5. [a] Jujukan genom manusia yang sedia ada adalah jujukan DNA daripada berbagai individu.
Terangkan dua sebab mengapa penjujukan genom individu sangat diperlukan.

(8 markah)

[b] Dengan menggunakan gambarajah, huraikan proses tindakbalas rantai polimerase (PCR).
Terangkan prinsip asas setiap langkah dan labelkan setiap komponen dengan jelas.

(12 markah)

6. Satu analisis terhadap 120 keluarga telah mengenalpasti satu kawasan kromosom 16 yang mungkin berkaitan dengan protein yang hanya hadir dalam tisu barah otak. Jujukan DNA dalam 3 bahagian berbeza dalam gen untuk protein ini adalah seperti berikut:

A. 5' GCTGACACCGG GCACGGTAGG GTAACAATCC AGCCTGGGCG GAGCCGGAGT TGCGAGCCG ... 3'
3' CGACTGTGGCC CGTGCCATCC CATTGTTAGG TCGGACCCGC CTCGGCCTCA ACGCTCGGC ... 5'

B. 5' ATGGGCTGGA GGCCCCGGTG AGCTCGGGGG ACCCCGTTGC TGCTGCTGCT ACTACTGCTG ... 3'
3' TACCCGACCT CCGGGGCCAC TCGAGCCCC TGGGGCAACG ACGACGACGA TGATGACGAC ... 5'

C. 5' CACAGCTATG GGCTGGAGGC CCCGGAGAGC TCGGGGGACC CCGTTGCTGC TGCTGCTACT ... 3'
3' GTGTCGATAC CCGACCTCCG GGGCCTCTCG AGCCCCCTGG GGC AACGACG ACGACGATGA ... 5'

- [a] Jujukan atas yang manakah yang mengkodkan untuk bahagian awal protein tersebut?

(3 markah)

- [b] Kriteria apakah yang anda gunakan untuk menjawab soalan [a]?

(3 markah)

- [c] Berikan jujukan pasangan primer yang anda patut bentuk untuk mengamplifikasi cDNA gen ini.

(4 markah)

- [d] Huraikan dua teknik yang patut anda gunakan untuk mengukur tahap ekspresi gen ini dalam berbagai jenis tisu yang berlainan.

(10 markah)

