

**UNIVERSITI SAINS MALAYSIA**

**Peperiksaan Semester Pertama  
Sidang Akademik 1998/99**

**OGOS/SEPTEMBER 1998**

**BTT 201/3 - Teknik-Teknik Bioteknologi Molekul  
BTT 321/3 - Teknik-Teknik Bioteknologi Molekul**

**Masa : [3 jam]**

---

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

Tiap-tiap soalan bernilai 20 markah.

---

1. (i) Anda diberi satu larutan fragmen DNA bebenang dua yang bersaiz 1.78 kb. Oleh kerana kepekatan DNA adalah terlalu tinggi untuk dibaca dengan spektrofotometer, satu pencairan telah dilakukan dengan menambah 5 bahagian air kepada 1 bahagian larutan DNA. Cairan tersebut mempunyai penyerapan pada 260 nm ( $OD_{260}$ ) sebanyak 2.5 unit. Jumlah isipadu larutan tersebut ialah 3.2 ml. Jumlah isipadu larutan tersebut ialah 3.2 ml. Dengan bantuan data asid nukleik yang dilampirkan, hitung faktor-faktor di bawah bagi larutan DNA yang asal (sebelum dicairkan).

- (a) Berat molekul fragmen DNA
- (b) Kepekatan DNA
- (c) Kuantiti DNA
- (d) Bilangan molekul fragmen DNA

(10 markah)

- (ii) Anda diberi 9  $\mu$ l larutan vektor plasmid pBluescript (bersaiz 2.96 kb) yang berkepekatan 5.0  $\mu$ g/ $\mu$ l yang telah siap disediakan untuk pengklonan fragmen DNA di atas (fragmen 1.78 kb). Bagi tujuan pengklonan, 3 tabung uji perlu disediakan. Setiap tabung uji mempunyai nisbah kuantiti vektor:selitan yang berlainan iaitu 1:1, 1:3 dan 3:1.

- (a) Nyatakan bilangan mol dan isipadu larutan DNA di atas (1.78 kb) yang mempunyai bilangan molekul yang sama dengan 15  $\mu$ g pBluescript.
- (b) Hitungkan berapa banyakah isipadu larutan DNA (fragmen 1.78 kb) yang perlu bagi setiap satu tabung uji dengan menggunakan keseluruhan pBluescript yang diberi, dengan sama rata.
- (c) Andaikan fragmen DNA tadi membawa satu gen yang panjangnya ialah 1.55 kb, berapakah saiz protein yang terhasil jika gen tadi diekspres?

(7 markah)

[BTT 201/3]  
[BTT 321/3]

- (iii) Anda diberi 2 larutan NaCl yang berkepekatan 100 mM dan 3 M. Hitungkan isipadu setiap satu larutan yang anda perlu untuk mendapatkan 225 ml larutan NaCl berkepekatan 135.7 mM.

(3 markah)

2. DNA boleh dianalisis dengan kaedah penyerapan, pendafluoran dan elektroforesis. Bincangkan ciri setiap kaedah tersebut.

(20 markah)

3. Lakarkan langkah-langkah penglonan sesuatu fragmen DNA menggunakan vektor plasmid. Bincangkan ciri-ciri vektor plasmid yang memudahkan pemilihan klon rekombinan.

(20 markah)

4. Berikan tindak balas yang dilakukan oleh enzim ini serta kegunaannya dalam bioteknologi molekul.

Fragmen Klenow  
DNA Ligase  
*Eco* RI (mengenali jujukan 5'-G<sup>^</sup>AATTC-3')

T4 polinukleotida kinase  
Transkriptase berbalik

(20 markah)

5. (a) Beberapa enzim pembatasan boleh menghasilkan hujung jelekut serasi. Pilih semua kombinasi enzim pembatasan yang mempunyai hujung jelekut serasi dan lukiskan hasil ligasi pasangan hujung jelekut yang anda pilih.

*Bam* HI      G<sup>^</sup>G A T C C  
                  C C T A G<sup>^</sup>G

*Eco*RI        G<sup>^</sup>A A T T C  
                  C T T A A<sup>^</sup>G

[BTT 201/3]  
[BTT 321/3]

*Bg1II*      A^G A T C T  
              T C T A G^A

*ApoI*        R^A A T T Y  
              Y T T A A^R

\*\* "R" bermaksud "purina"  
"Y" bermaksud "pirimidina"

(6 markah)

- (b) Saiz kromosom *Salmonella typhimurium* ialah 4800 kilo pasangan bes (kb). Hitungkan jumlah fragmen yang dijangka diperolehi setelah DNA kromosom bakteria ini dihadam dengan enzim pembatasan berikut:

*NofI*        G C^G G C C G C  
              C G C C G G^C G

*HincII*     G T Y^R A C  
              C A R^Y T G

\*\* "R" bermaksud "purina"  
"Y" bermaksud "pirimidina"

(8 markah)

- (c) DNA kromosom daripada bakteria *Azotobacter vinelandii* telah ditulen dan dilakukan analisis kimia. Sebahagian daripada nukleotida deoksiadenosina telah didapati dalam keadaan termodifikasi. *Sau3A* dan *MboI* adalah dua jenis enzim pembatasan yang mengenali jujukan DNA yang sama (GATC). DNA kromosom ini boleh dihadam dengan enzim pembatasan *Sau3A* tetapi tidak dengan enzim pembatasan *MboI*.

Berikan keterangan yang mungkin mengenai fenomena di atas serta ujikaji yang sesuai untuk menyokong keterangan anda.

(6 markah)

6. (a) Dengan menggunakan gambar rajah, terangkan proses tindak balas rantai polimerase (PCR). Labelkan setiap komponen dengan jelas.  
(12 markah)

- (b) Satu fragmen DNA lurus bersaiz 1000 pasangan bes (bp) telah dihadam untuk menentukan peta pembatasannya. Keputusan yang diperolehi daripada larian elektroforesis agarosa adalah seperti berikut:

<u>Penanda berat molekul (bp)</u>	<u>Tanpa hadaman</u>	<u>HindIII</u>	<u>EcoRI</u>	<u>HindIII + EcoRI</u>
1000	_____		_____	
650		_____		
500				_____
300		_____		_____
200			_____	_____

Tentukan saiz setiap fragmen di atas dan lukiskan peta pembatasannya.

(8 markah)

**DATA ASID NUKLEIK**

**Nucleic Acid Data**

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

(BTT 201/3)  
(BTT 321/3)

- 1.0 A<sub>260</sub> unit ds DNA = 50 µg/ml = 0.15 mM (in nucleotides)
- 1.0 A<sub>260</sub> unit ss DNA = 33 µg/ml = 0.10 mM (in nucleotides)
- 1.0 A<sub>260</sub> unit ss RNA = 40 µg/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 X 10<sup>11</sup> molecules
- 1 µg of pUC18/19 DNA (2686 bp) = 0.57 pmol = 3.4 X 10<sup>11</sup> molecules
- 1 µg of pBR322 DNA (4361 bp) = 0.35 pmol = 2.1 X 10<sup>11</sup> molecules
- 1 µg of M13mp18/19 DNA (7250 bp) = 0.21 pmol = 1.3 X 10<sup>11</sup> molecules
- 1 µg of λ DNA (48502 bp) = 0.03 pmol = 1.8 X 10<sup>10</sup> 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

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

**Isotope Data**

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