
UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

Peperiksaan Semester Kedua
Sidang Akademik 2003/2004

Februari/Mac 2004

BTT 202/3 - Teknik-Teknik Bioteknologi

Masa : [3 jam]

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

Jawab LIMA daripada ENAM soalan yang diberikan, dalam Bahasa Malaysia.

Tiap-tiap soalan bernilai 20 markah.

1. Jadual 1 diperolehi dari satu elektroforesis **SDS-PAGE** yang telah dijalankan oleh seorang pelajar.

Protein (Berat molekul dalam Dalton)	Jarak Pergerakan (cm)
1. Aprotinin (6,500)	18
2. Lysozyme (14,400)	16
3. Carbonic anhydrase (31,000)	10
4. Albumin (66,200)	8
5. β -galactosidase (116,250)	5
6. Myosin (200,000)	3
7. Protein A	13
8. Protein B	7

(Nota: Jarak pergerakan bromophenol blue adalah 20 cm)

JADUAL 1

- (a) Apabila pelajar tersebut melakukan elektroforesis **PAGE**, protein A menunjukkan jarak pergerakan yang sama dengan protein B. Terangkan mengapa pemerhatian ini diperolehi.

(6 ,markah)

- (b) Dengan menggunakan kertas graf yang disediakan, cari berat molekul dalam Dalton untuk protein A dan protein B.

(2 markah)

- (c) Sekiranya protein A dan protein B mempunyai berat molekul yang sama tetapi adalah dua protein yang berlainan, terangkan teknik elektroforesis yang dapat dilakukan untuk membezakan keduanya beserta lakaran keputusan yang dijangkakan. Mengapa keduanya dapat dibezakan dengan menggunakan teknik yang disebutkan.

(6 markah)

[BTT 202/3]

(d) Terangkan mekanisma elektroforesis gel agarose DNA.

(6 markah)

2. Proses pemencilan dan penulenan protein melibatkan sifat fizikal kimia sesuatu protein yang dikehendaki.

(a) Senaraikan sifat-sifat fizikal kimia yang boleh digunakan untuk tujuan pemencilan dan penulenan protein.

(5 markah)

(b) Apakah yang dimaksudkan dengan istilah "*salting-in*" dan "*salting-out*"?

(5 markah)

(c) Bincangkan bagaimana "*salting-in*" dan "*salting-out*" dapat digunakan untuk tujuan pemencilan dan penulenan protein yang dikehendaki. Berikan contoh-contoh yang sesuai.

(10 markah)

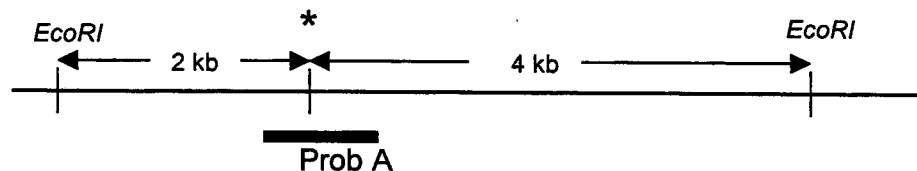
3. Teknik kromatografi digunakan dalam proses penulenan protein.

(a) Dengan bantuan gambarajah, terangkan prinsip asas kromatografi pertukaran ion ('ion exchange chromatography').

(10 markah)

.../4-

- (b) Dalam kromatografi penyingkiran saiz ('size exclusion chromatography'), dua maklumat iaitu V_o dan V_t diperlukan.
- (i) Apakah V_o dan V_t ? (2 markah)
- (ii) Bagaimanakah mendapatkan V_o dan V_t ? (5 markah)
- (iii) Apakah kepentingan V_o dan V_t dalam melakukan kromatografi penyingkiran size? (3 markah)
4. (a) Dengan bantuan gambarajah, terangkan setiap langkah dalam pemblotan Southern. (12 markah)
- (b) Penyakit Distrofi Otot Duchenne (Duchenne Muscular Dystrophy) merupakan penyakit genetik yang menyebabkan otot pesakit mengecut apabila memasuki umur tigapuluh. Anda telah berjaya menjumpai kepelbagaian bahagian kromosom yang terlibat di posisi bertanda "*". Tapak pembatasan *EcoRI* tidak hadir dalam pesakit dan sementara individu normal pula hadir. Terangkan bagaimana anda boleh menggunakan maklumat ini untuk membentuk satu sistem diagnosis untuk penyakit genetik tersebut menggunakan kaedah Southern dengan menggunakan prob A. Lukiskan keputusan pemblotan Southern yang dijangka.



(8 markah)

[BTT 202/3]

5. (a) Dengan bantuan gambarajah, terangkan prinsip tindakbalas rantai polimerase (PCR).
(10 markah)

- (b) Terangkan bagaimana perubahan parameter berikut akan mempengaruhi tindakbalas (PCR).

- (i) Kepekatan primer tinggi
- (ii) Peningkatan suhu penyepuhan
- (iii) Kepekatan ion magnesium tinggi
- (iv) Jumlah kitaran tinggi
- (v) Kepekatan templat tinggi

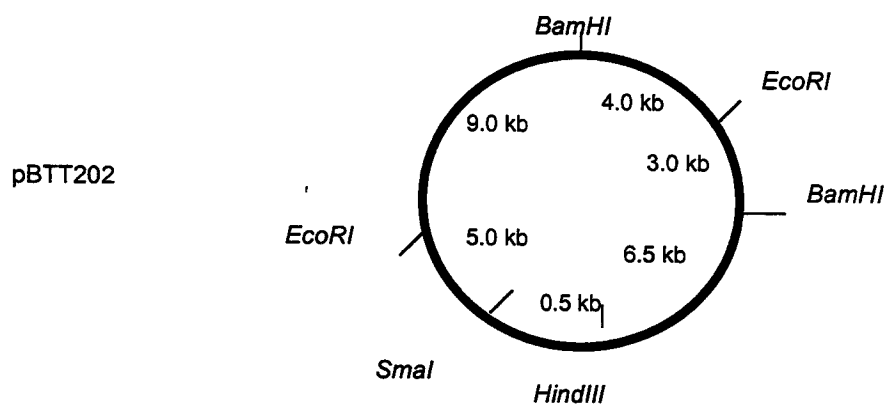
(10 markah)

6. (a) Terangkan tindakbalas serta fungsi yang dilakukan oleh enzim di bawah:

- (i) Polinukleotida kinase
- (ii) Transkriptase berbalik
- (iii) T4 DNA ligase
- (iv) Terminal transferase
- (v) Enzim Klenow

(10 markah)

- (b) Anda telah diberi plasmid bernama pBTT202 yang mempunyai peta pembatasan seperti di bawah:

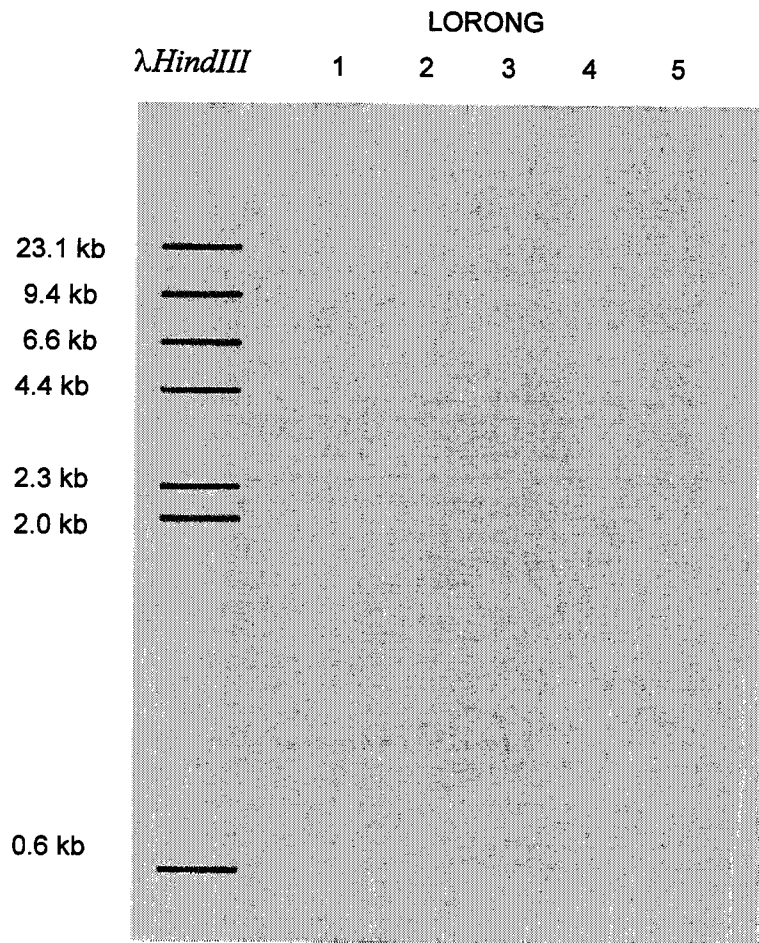


.../6-

Dengan menggunakan gambarajah gel agarosa yang diberi, lukiskan gambar jalur megikut keputusan yang dijangka apabila plasmid pBTT202 bulat dan tertutup diperlakukan dengan enzim berikut:

- Lorong (1) Penghadaman lengkap dengan *EcoRI* sahaja
- Lorong (2) Penghadaman lengkap dengan *EcoRI* dan *BamHI*
- Lorong (3) Penghadaman *EcoRI* diikuti dengan RNAase
- Lorong (4) Penghadaman lengkap dengan *EcoRI* dan *HindIII* diikuti dengan S1 nuklease
- Lorong (5) Penghadaman dengan *HindIII* metilase, diikuti dengan penghadaman lengkap dengan *EcoRI* dan *HindIII*

(10 markah)



LUKISKAN JALUR DNA HASIL PENGHADAMAN DALAM SOALAN 6 (b).