

16.12.2011

1. Geenien säätely riboswitchin avulla & ribotsyymillä (tai jotain sinne päin) (10p)

Riboswitchissä muuttuu antitermination muodossa oleva RNA-sekvenssi terminaatiomuodossa olevaksi. Ribozymessä, mRNA-entsyymi inaktivoituu.

2. Anteriori-posteriori (etu-takapään) akselin kehityksen sekä jaokkeenmuodostuksen geneettinen säätely banaanikärpäsellä (10 p)

Munasolu on polarisoitunut maternaalisella erilailla lokalisoituneella mRNA:lla. bicoid ja oskar geenien tuotteet paikallistuvat munasolun vastakkaisiin päihin ja munasolun läpi on morfologinen gradientti. bicoid tekee etupäätä ja ohjaa pään alueen kehittymistä ja oskar perän alueen kehittymistä. Bicoid ja oskar ovat ranskriptiofaktoreita, jotka säätelevät gap geenejä (transkriptio ja translaatio). Gap-geenit säätelevät Pair-rule geenejä jotka vaikuttavat 7 jaokkeen muodostumiseen.

3. a) Geenien säätely kromatiinirakenteen muutosten avulla (5 p)

Asetylaatio, metylaatio, fosforylaatio, ubiquination, sumoylation, etc.

H3 ja H4 N-terminaalihännissä paljon lysiiniä ja ne ovat deasetyloituneina positiivisesti varautuneet, joka johtaa tiukkaan kromatiinirakenteeseen negatiivisesti varautuneen DNA:n ympärillä. DNA: asetointi neutraloi varausta ja avaa kromatiinirakennetta. HAT (Histone Acetylase) lisää asetyyliiryhmän lysiiniin, HDAC poistaa asetyyliiryhmiä lysiinistä. H3K14Ac

HMT lisää 1-3 metyyliiryhmää lysiiniin tai arginiiniin (1). Metyloidut histonit sitovat DNA:ta tiukemmin ja kromatiinirakenne tiivistyy, transkriptio inhiboituu. HDMT poistaa metyyliiryhmiä.

Säätely voi olla geenispesifistä, kun e. HAT tuodaan paikalle sekvenssispesifisten transkriptionfaktoreiden kanssa.

Kromatiinin uudelleenmallinnuskompleksit voivat muuttaa kromatiinin nukleosomirakennetta. Ne voivat muuttaa histonien assosiaatiota nukleosomin sisällä, mikä aikaansaa DNA:n osittaisen vapautumisen nukleosomirakenteesta, nukleosomin irtoamista tai siirtymistä.

b) Vertaile replikaation aikana tapahtuvaa alukkeiden poistoa ja okazaki-fragmenttien yhteenliittämistä pro- ja eukaryoottisoluissa (5p)

Prokaryootit: DNA Pol I poistaa RNA alukkeet ja syntetisoi tilalle DNA:ta. 5-3 eksonukleaasiaktiivisuudella ja 5-3 polymeraasiaktiivisuudella korvaa RNA:n DNA:lla. Ligaasi korjaa katkokset.

Eukaryootit: DNA-polymeraaseilla ei ole 5-3 eksonukleaasiaktiivisuutta, RNA alukkeet poistaa FEN1-eksonukleaasin avulla. Okasakifragmentin synteessin valmistuessa, polymeraasi jatkaa synteesiä ns. syrjäyttämisynteessinä. FEN1 katkaisee DNA:n syrjäytetyn alueen dsDNA:n liitoskohdasta. Ligaasi korjaa katkoksen.

16.12.2010

1. Metyloidun DNA:n merkitys a) bakteereilla,

Metylointi sytosiini/adeniini. Useimmiten replikaatioon, virheenkorjaukseen tai vierasta DNA:ta tunnistettaessa ja vain harvoin geeninsäätelyyn liittyen.

b) eukaryoteilla. (10 p)

Metylaatio replikaation jälkeen. Metyloidaan pääasiassa sytosiinin 5' ryhmää, mutta myös adeniinia. Kaikkien eukaryottisolujen prosessien säätelytekijä (replikaatio, transkriptio, korjaus, rekombinaatio), vaikuttava tekijä solujen erilaistumisessa, geenien hiljentämisessä, apoptoosissa. Metyloitu promoottori estää transkriptiofaktoreiden sitoutumista ja näin hiljentää promoottoriin kytkeytyneet geenit.

11.3.2010

1. Kuvaa lyhyesti a) TFIID:n osuus transkription aloituksessa eukaryooteilla (3p)

Koska eukaryoottien RNA Polymeraasit eivät voi itsenäisesti tunnistaa promoottoria tarvitaan transkriptiofaktoreita auttamaan promoottorin tunnistuksessa ja siihen sitoutumisessa. Jotta transkriptio voidaan aloittaa muodostuu esialoituskompleksi, joka sitoo myös RNA polymeraasia. Yksi viimeisistä kompleksin komponenteista on TFIID, jolla on entsymaattinen aktiivisuus jota vaaditaan transkription aloitukseen. TFIID:ssa on kaksi helikaasia ja proteiinikinaasikompleksi. Helikaasit avaavat promoottorialueen ja mahdollistavat transkription ja kinaasi fosforyloi RNA Pol II:n aktiiviseksi niin, että POL II irtaantuu initaatiokompleksista ja aloittaa elongaation. TFIID mahdollistaa myös ensimmäisen fosforidiesterisidoksen muodostumisen RNA:n synteesissä.

2. Selitä lyhyesti 4-5 rivillä/kohta

a) homologinen rekombinaatio (2p)

Kaksi-DNA-kaksoisjuostetta voi risteytyä, kun homologiset alueet asettuvan kohdakkain millä tahansa pitkällä homologia-alueella. Joko "breakage/reunion": Kummassakin homologisessa juosteessa tapahtuu katkos, risteymäkohta vaeltaa, katkokset korjataan. Tai DSB: "Juosteet katkeavat, eksonukleasi avaa katkoskohtaa, katkenneen juosteen 3' pää syrjäyttää dsDNA:n homologisen juosteen, syrjäytettyä juostetta käytetään mallina uuteen DNA:n.

b) Hollidayn liitos (2p)

Rekombinaatiomalli, jossa juosteet sitoutuvat ristiin kun yksijuosteiset hännät symmetrisesti täyttävät vastakkaista DNA:ta.

e) retrotransposoni (2p)

Geneettinen elementti joka voi amplifioida itseään genomissa ja liikkua genomissa. Ne voivat toiminnallaan kasvattaa genomien kokoa.

3. Määrittele/selitä a) Kuinka suuren osan ihmisgenomista arvioidaan koodaavan proteiineja? (1p)

Proteiineja ja toiminnallista RNA:ta vain 3%

b) β -kateniinin tehtävät soluissa (2p)

Tarvitaan luomaan ja ylläpitämään epiteelisolujen välistä adheesiota, ylläpitää solun sytoskeletonia.

c) C-arvon paradoksi (2p)

C-arvo = DNA:n määrä haploidissa genomissa. Genomin minimikoko kasvaa kussakin pääjaksossa suhteessa kompleksisuuteen, mutta geenien määrä ei itsessään kerro mitään organismin kompleksisuudesta. C-arvo kertoo geenitiheydestä.

d) Millainen on dorsal-mutantin fenotyyppi banaanikärpäsellä? (1p)

Ei vatsan rakenteita, vain selkää!

e) Hedgehog-perheen proteiinien toiminta morfogeneeinä? (4p)

Hedgehog vaikuttaa useimpiene elinten kehitykseen -> aivot, keuhkoputkien haaroittuminen, haima, hampaat. Kulkeutuu kauas sitä tuottavista soluista.

8.2.2010

2. Translaation initiaatio bakteereilla (10p)

Prokaryoottien translaatio voi alkaa, vaikka RNA:n synteesi olisi vielä kesken. RNAssa on itsessään translaation aloituskohta ja lopetuskohta. mRNA sitoutuu ribosomin pienen alayksikön (30S) ja usean initiaatiofaktorin kanssa (IF1, IF2, IF3), sekä GTP:n kanssa. Pieni alayksikkö tunnistaa SD-sekvenssin (translaation aloituskodonia edeltävä sekvenssi) komplementaarisella 3' pään sekvenssillä ja sitoutuu siihen. Translaation aloittava tRNA(met) kiinnittyy mRNA:n aloituskodoniin (AUG) ribosomin P-kohdassa. Ribosomin suurempi alayksikkö sitoutuu kompleksiin ja initiaatiofaktorit 1 ja 2 irtoavat kompleksista.

10.12.2008

1. Millä eri tavoin lopputuote voi vaikuttaa biosynteettisen operonin ekspressioon? Selvitä lyhyesti mekanismien toimintaa. (10p.)
2. Kuvaa lyhyesti (enintään ½ sivua/kysymys!)

a) okazaki-fragmenttien yhdistäminen eukaryoottien replikaatiossa (3p.)

FEN1 poistaa RNA-alukkeet ja katkaisee "syrjäyttämissynteessin" tuottaman syrjäytetyn DNA:n. RNA primerit korvataan DNalla (DNA Pol Gamma), DNA Ligaasi 1 yhdistää okazakifragmentit,

3. Määrittele/selitä lyhyesti (à 2p)
4. a) jaokkeen ja valejaokkeen ero banaanikärpäsellä,
5. **b)nukleoidi,**

Tumankaltainen alue jossa prokaryootilla on kaikki sen DNA-materiaali. Ei tumakalvoa.

6. d) Minkälainen on C. elegansin egl-1 mutantin fenotyyppi?,

Poistogeenisessä mutantissa ei tapahdu lainkaan kontrolloitua apoptoosia,

7. e) Ranskan lippu -malli solujen kommunikaatiossa.

Eri erilaistumisvasteet morfogeenin eri pitoisuuksille, suuret pitoisuudet aktivoivat kohdesoluissa eri geenien pitoisuuksia kuin pienet. Raja-arvokohdissa vaste muuttuu.

5.2.2008

1. Excision repair -mekanismi (10p)

2. Transkription initiaatio eukaryoottien mRNA:ta tuottavilla geeneillä.

Eukaryoottien RNA POLit eivät kykene itsenäisesti promoottorin tunnistukseen, ne tarvitsevat muita proteiineja avustamaan promoottorin tunnistuksessa ja siihen sitoutumisessa. Nämä proteiinit ovat yleisiä transkriptiofaktoreita. Sekvenssit joita vaaditaan transkription aloitukseen ovat TATA-box ja initiaattorialue/upstream-/downstream element.

TFIID tunnistaa TATABoxin ja sitoutuu siihen. TFIID-kompleksi sisältää TATA binding proteiinin (TBP). TFIIA (ei välttämätön) sitoutuu TBP:n ja stabiloi rakennetta. TFIIB sitoutuu TBP:n ja muodostaa alustan RNA pol II:lle RNA Pol II ja TFIIF liittyy kompleksiin. (TFIIF -> TFIIB) TFIIE katalysoi TFIIHin liittymistä RNA poliin ja muovaa sen entsyymaattista aktiivisuutta. TFIIH:ssa on kaksi helikaasia ja proteiinikinaasikompleksi. Helikaasit avaavat promoottorialueen ja mahdollistavat transkription ja kinaasi fosforyloi RNA Pol II:n aktiiviseksi niin, että POL II irtoaa initiaatiokompleksista ja aloittaa elongaation. TFIIH mahdollistaa myös ensimmäisen fosforidiesterisidoksen muodostumisen RNA:n synteesissä.

3. Määrittele lyhyesti (á 2p):

▪ **Banaanikärpäsän UAS-GAL4 -menetelmän periaate**

▪ Voidaan selvittää mitkä solut ekspressoivat geeniä. GAL4-linjakärpäset ekspressoivat GAL4 jossakin kudostyyppissä. UAS kantas antaa jotkin markkeriproteiinia. Yhdistettynä GAL4-UAS: GAL4 sitoutuu UAS alueelle ja mahdollistaa eism. vihreät fluoresenssin jolloin ekspressoivat solut värjäytyvät.

▪ **Mitä yhteistä on C. elegansin ced-3 ja ced-4 mutanttien fenotyypeissä?**

▪ Kummassakin lähes kaikki ohjelmoitu solukuolema estyy kehityksen aikana.

12.12.2007

1. Määrittele/selitä lyhyesti (á 2 p):

▪ **Millä olennaisella tavalla Notch signaali eroaa muista yleisistä signaaliintireiteistä?**

▪ Notch-signaali vaatii solukontaktia ja aiheuttaa lateraali-inhibitiota niin, että se vaikuttaa sitä ympäröivien solujen erilaistumiseen.

▪ **Hiirigenetiikassa käytettävän Cre-Lox menetelmän toimintaperiaate.**

▪ Tapa kontrolloida spesifisiä rekombinaatiotapahtumia DNAssa, päämääränä kontrolloida geenieskpressiota. Cre on alue-spesifinen DNA rekombinaasi, joka katalysoi rekombinaation loxP-sekvenssien välillä. Jos genomissa on Lox-sekvenssejä, voi rekombinaatio tapahtua niiden välillä. Kahden lox-alueen välille voidaan pistää loxP-alueet ja kun Cre-rekombinaasi rikkoo geenin toiminnan, markkerigeeniä esiintyy sen sijaan.

13.12.2006

1. Vertaile keskenään eukaryoottien ja *E. coli*n replikaaseja sekä replikaaseja avustavia proteiineja (10 p)

2. a) Millä periaatteella positiivinen ja negatiivinen geenisäätely tapahtuvat geeniekspression induktio- ja repressiotilanteissa? Mainitse muutamia prokaryooteihin liittyviä esimerkkejä (5p)

Induktion säätely: Neg: induktori inaktivoi repressorin. Pos: induktori aktivoi aktivaattorin.

Repression säätely: Neg: Korepressorin inaktivoi aktivaattorin. Pos: Korepressorin aktivoi repressorin.

Lac-operonin säätely repressorin avulla. Operonissa on 3 geeniä, josta lacZ ja lacY tarvitaan, jotta solu voisi käyttää hyväkseen laktoosia. Operonin yhteydessä on lisäksi negatiivinen säätelijä lacI, joka sitoutuu operaattorialueelle jos alustassa ei ole laktoosia. LacI-repressorin sitoutuu operaattorisekvenssiin ja estää geenin transkription.

Laktoosin muoto allolaktoosi sitoutuu LacI-proteiiniin ja aiheuttaa sen irtoamisen operaattorista, muuttamalla sen muotoa niin ettei se voi enää sitoutua DNA:n. Allolaktoosi on induktori.

CAP on allosteerinen säätelijä, joka toimii transkription aktivaattorina. Se tarvitsee toimiakseen cAMP-induktorin joka muuttaa sen rakennetta niin, että se stimuloi kohdegeenin transkriptiota. CAP toimii Lac-operonin aktivaattorina.

3. b) Kerro lyhyesti neljä tapaa, joilla RNA voi vaikuttaa bakteerin geeniekspression säätelyyn (5 p)

RNA-termosensorina: RNA:n sisäiset rakenteet estävät ranslaatiota alhaisessa, mutta ei korkeassa lämpötilassa. Esim.v virulenssigeenien aktivaattori muodostaa sekundaarirakenteita ja ei ole toiminnallinen alle 30°C:ssä, mutta lämpötilan noustessa 37, rakenteet sulavat ja translaatio voi alkaa.

RNA:n sitoutuvat metaboliitit: RNA:ssa on kytkiminä toimivia allosteerisia RNA-jaksoja mRNA:n sisällä.

RNA:n sitoutuvat sRNA:t. Vaikutus voi olla joko translaatiota estävä tai aktivoiva. Emäspariutumisen vaatii RNA-chaperonin.

Antisense-RNA.

E. Colin trp-operoni:

"Attenuaatio" vaimentaminen: Translaation eteneminen ratkaisee päättykö transkription ennen *trp*-rakennegenejä koodaavaan alueen alkua. *trp*-operonin säätelyalueelta muodostettavat sekvenssit ovat palindromisia ja muodostavat loopeja, riippuen sekvenssien pariutumisesta voi vaikutus olla terminaatio (kun tryptofaania on riittävästi) tai antiterminaatio (kun tryptofaania on vähän).

4. Määrittele/selitä lyhyesti (á 2 p):

- **Balanserikromosomit**

- Estävät rekombinaation vastinkromosomin kanssa. Sisältävät resessiivisen letaaligeenin, niin että bal/bal ei synny. Sisältävät dominoivan merkkimutaation. Balansoitu kanta ylläpitää itseään.

- **geneettinen redundanssi**

- Toiminnallinen päällekkäisyys. Yksittäisen geenin mutaatiolla on vain vähäinen vaikutus fenotyyppiin, koska kyseisen geenin aktiivisuuden puutos korvautuu toisen geenin toiminnalla.

- **"forward" ja "reverse" genetiikan erot**

- Forward: aloitetaan fenotyyppisestä analyysistä, yritetään löytää mutaation aiheuttava geeni.
- Reverse: Aloitetaan identifioidusta geenistä, yritetään tuottaa mutaatio. Analysoidaan fenotyyppi.
- satelliitti DNA

7.2.2006

Vastaa **kolmeen** kysymykseen (á 10 p) / Answer to **three** of the following questions (10 cr each)

1. Selitä lyhyesti / *explain shortly* (2-3 rivillä / *lines*)

- **a) Faasivariaatio / phase variation**

- Inversio, jossa esim. toiminnallisen geenin promoottorialue käännetään toiseen suuntaan ja geenin synteesi estyy, mutta toiseen suuntaan luettavien geenien synteesi alkaa.

- **b) Geenikonversio / gene conversion**

- Alleeli korvautuu toisella rekombinaation aikana kopioitumalla sen tilalle

- **d) Chi-välitteinen rekombinaatio / Chi-dependent recombination**

- Chi-sekvenssi on E.Coliilla yleinen homologinen sekvenssi, joka stimuloi RecA-välitteistä homologista rekombinaatiota 10000bp säteellä sekvenssistä. RecBCD katkaisee dsDNA:n toisen juosteen chi-kohdassa. Juosteen vapaa pää aloittaa ristinmenon RecA-avulla, muodostuu hollidayn liitos joka migroituu kunnes se katkaistaan.

- e) Central dogma / *central dogma*

- **f) Allosteerinen säätelijä / *allosteric regulator***
- Muovautuva säätelijä, ilman kofaktoria inaktiivinen. Kofaktori indusoi proteiinissa muodonmuutoksen ja tekee siitä aktiivisen säätelytekijän.
- **g) Operaattori / *operator***
- Sekvenssi, joka on osittain päällekkäinen promoottorin ja transkription aloituskohdan kanssa.
- **h) Induktori / *inductor***
- Molekyyli, joka poistaa repression esim. muuttamalla repressorin rakennetta niin, ettei se voi enää sitoutua DNA:n
- **i) Repressori / *repressor***
- Proteiini, joka estää transkription tapahtumisen (esim. sitoutumalla operaattoriin)
- **j) Korepressor / *corepressor***
- Repressori yksinään ei kykene sitoutumaan operaattoriin vaan tarvitsee ko-repressorin joka muuttaa sen rakennetta sellaiseksi että se voi.

3. Vastaa molempiin kysymyksiin / answer both questions:

- **a) Miten tehdään tietyn geenin suhteen poistogeeninen hiirilinja? / *How to create a gene-specific knock-out mouse line?***
- DNA:n kloonaukseen ja homologinen rekombinaatio alkion kantasoluihin. Injektio blastokysteihin ja niiden siirto vastaanottajanaaraisiin, syntyy kimeerisiä jälkeläisiä. Lisäristeytyksissä selektoidaan kanta.
- **b) Miten voidaan tutkia mikroRNA:iden kudosspesifistä ilmentymistä? / *How to study tissuespecific expression on microRNAs?***

7.3.2006

1. Signaalimolekyylit yksilönkehityksessä ja niiden yleiset toimintaperiaatteet

Signaalimolekyylit ovat osa solujen keskinäistä viestintää. Signaalimolekyylien vaikutus riippuu solutyypistä. Signaalin aktivoima reseptori käynnistää solusisäisen välitysreihin, joka johtaa esim. transkriptiotekijän aktivoitumiseen. Eri pitoukset signaalimolekyyliä johtavat eri vasteeseen. Esim. Notch/Hedgehog

2. sRNA ja RNA-kytkimet bakteereilla