

Molbi Nachklausur 2009

Hier mal so die Fragen die mir noch so einfallen.

Also es war gefragt:

Warum man nicht schon in der SDS- Page eine Immunfärbung machen kann.

Warum bei A-Tailingzyklus die A's nicht immer mehr werden

Warum bei der elektrophoretischen Trennung von Plasmiden kein Polyacrylamid -Gel benutzt werden darf.

Wofür die Tag-Sequenz in Expressionsvektoren ist

Warum Low-Copy Plasmide für Proteine genutzt werden.

Frage nach Blau- Weiß- Screening (richtiges war an zukreuzen)...

Dann war noch ne Frage zum ankreuzen erinner mich aber nicht mehr wonach gefragt wurde (musste man das falsche suchen)

Es war auch noch ne Frage zu E.coli wo man mit ja oder nein antworten sollte. Ich mein es wurde gefragt ob alle E.coli stämme mit DpnI geschnitten werden können. (echt ne blöde frage weil im skript steht das die meisten E.coli stämme das können.) 😊

Joah das wars erst mal so weit von mir. Würds toll finden wenn sich jemand finden würde der die Fragen hier mal beantworten würde. Ich hab bei vielen Sachen doch ziemlich rumgerätselt und nicht unbedingt ne befriedigende Antwort ,selbst mit dem Skrip, erarbeiten können. 🤔

Dann gab es da noch eine Tabelle mit verschiedenen Puffern und man sollte für zwei vorgegebene Enzyme sagen, mit welchen Puffern man arbeiten würde und was dabei zu beachten sei.

die zweite multiple choice frage lautete: welche aussagen zur PCR ist falsch

So war heute mal bei der Nachbesprechung, erster Punkt es gibt eine Dritte Klausur die, die jetzigen Drittsemester dann nach dem erneuten besuch der Vorlesung ganz normal mitschreiben könne und dann zu den antworten...

Zu Frage mit der Immunfärbung in der SDS : Da Antigene auch nur Proteine sind, sind diese ziemlich groß und würden nie freiwillig in das Gel eindringen.

Low Copy benutzt man für Proteinsynthese da die Energie der Zelle dafür genutzt werden soll und nicht für die Replikation.

Dann hat er noch mal erwähnt das die Taq Polymerase nicht transkribiert sondern

repliziert. Transkription ist nur wenn DNA in RNA umgeschrieben wird (muss wohl öfter vorgekommen sein. hat er extra nochmal betont)

Dann zu den Tag's im Expressionsvektor das sind kurz Sequenzen die der Aufreinigung dienen

und zum Schluss zum Polyacrylamid-Gel die Plasmide passen einfach nicht ins Gel weil das Gel sehr kleine Poren hat und deswegen nur kurze Sequenzen durchpassen.

Wenn eine Fehler entdeckt oder noch was zu sagen möchte bitte =>



Hier nochmal die Klausurfragen mit Antworten:

1. Warum reichern sich die „A“s beim A-Tailing nicht mit zunehmender Zyklenzahl an?
- Das A wird nicht mitamplifiziert, weil es jenseits ("hinter") der Primerregion liegt. Es wird von der Taq-Polymerase bei jedem Zyklus neu angehängt.

2. Welche Aussage ist falsch?
- Taq-Polymerase kann DNA und RNA amplifizieren

3. Welchen Puffer wählt man um DNA mit NcoI und TstI zu schneiden? Was muss man beachten?

Hierzu gab es einen Ausschnitt aus einer Puffertabelle, und man nimmt natürlich den Puffer, bei dem beide Enzymaktivitäten möglichst hoch (100%) liegen. Am Ende der Tabelle gab es Symbole, wie z.B. einen Stern für Staraktivität, DAM+ (=> Das Enzym schneidet nur bei methylierter DNA) und ein Symbol für 80°C (=>darf nicht über 80°C erhitzt werden)

4. Warum führt man Immunfärbungen nicht direkt im SDS Page durch, sondern überträgt die aufgetrennten Proteine auf eine Membran?

- Die Stoffe sind im Gel nicht für die AK erreichbar, weil sie sich in der Gelmatrix befinden. Die Membran ist stabiler als ein Gel, kann also besser aufbewahrt werden etc. Die Proteine könnten im Gel mit der Zeit weiterdiffundieren, so dass die Banden unscharf werden, an der Membran wären sie fest gebunden.

5. Rechenaufgabe: Aus 2,5 molarer HCl soll 1 L 0,2 molare HCl hergestellt werden.

6. Kann DpnI basierte Mutagenese mit jedem E.coli Stamm durchgeführt werden? Begründe.

- Nein, nur mit dam+ Stämmen, weil DpnI nur methylierte DNA schneidet. Dabei bleibt nur das Amplifikat mit den mutagenisierten Primern übrig.

7. Warum verwendet man Low-Copy-Plasmide wenn ein Protein exprimiert werden soll?

- Low-Copy-Plasmide verwenden die Energie (ATP) für die Expression statt sich zu vervielfältigen --> wenige Genkopien, viel Protein

8. Warum befinden sich in vielen Expressionsvektoren sogenannte „Tag“s?
- Zum Nachweis dafür, dass der Vektor exprimiert, also das Insert produziert wird. Das Tag (z.B. Flag Tag bei scFv) wird ebenfalls exprimiert und kann einfach nachgewiesen werden --> wenn Nachweis positiv ist, kann man davon ausgehen, dass das Insert auch exprimiert wird.

9. Warum verwendet man für die elektrophoretische Auftrennung von Plasmiden keine Polyacrylamidgele?

- Weil die Fragmente (Plasmide) zu groß sind und nicht durch die Poren passen.

10. Welche Aussage ist richtig?

- Positive Klone nach Blau-Weiß-Screening sind weiß



molbi 3.sem. jan.09

so daran kann ich mich noch erinnern, falls wem noch was einfällt bitte ergänzen!!!

1. Herstellen von 0,5l einer 100 mM CaCl₂ aus CaCl₂·2H₂O (mol/l war für H₂O und CaCl₂ angegeben)
2. war ne MC Frage: warum nimmt man bei Routine PCR einen Primer gegen pflanzeneigene Gene? (Antwortmöglichkeiten weiss ich nimmer)
3. Zuordnen von Restriktionsschnittstellen zu den Typen (z.B. TypII und so, war alles angegeben man musste nur die Richtigen miteinander verbinden)
4. Nennen der Eigenschaften eines idealen Labororganismus
5. Welches Restriktionsenzym man nehmen muss um cDNA aus a) pflaume und b) Bacillus schlag mich tot (subtilis??) zu kriegen (Antwortmöglichkeiten waren gegeben)
6. Wie sind die Pole beim Agarosegel? (war ne Abbildung von so nem Gel und man sollte + und - an die Enden schreiben)
7. Warum nimmt man Low-Copy für Proteinexprimierung?
8. Welche Farbe nimmt ne Immunfärbung beim Waschen an wenn man an.... Stelle was falsch gemacht hat (hab ich vergessen^^)
9. Welche Fehler macht Karl-Heinz? (da war so ein Text von wegen Karl Heinz füllt 12,1 l Tris auf 1 l Reinstwasser um ne 100 mM fürn Puffer zu kriegen, pipetiert mit ner Eppendorf ca 5 ml HCL auf pH von 8, stellt das ganze innen Kühlschrank zu 4°C um am nächsten Tag bei 4°C weiterzuarbeiten ohne pH nochmal zu prüfen)
10. Welche Aussage zum Blau-Weiß-Screening ist... (weiss nicht mehr ob richtig oder falsch; war ne MC Frage Antwortmöglichkeiten weiss ich nimmer)

Was passiert mit der Immunfärbung, wenn man das Waschen zwischen dem 1. und dem 2. Antikörper vergisst?

bei der Frage mit dem Blau-Weiß-Screening sollte man ankreuzen, was falsch ist und das war:

Die blauen Kolonien sind positiv. Oder so ähnlich.

Saß neben nem 3. Semester, wir haben schön verglichen 😊
Fast alles identisch, nur eben ein Gorilla statt ner Pflaume bei 5, andere Reihenfolgen beim Kreuzen und bei 1 ne 200mM Konzentration.
Man musste Typen von Restriktionsenzymen den Schnittstellen zuordnen (identische Frage bei 3&5).

Reinard: Molekularbiologie 28.01.07

10 Klausurfragen, jede 10 Punkte. 50 Minuten Zeit.

- Unterschiede/Gemeinsamkeiten von siRNA u. miRNA
- ein Gen ist aufgemalt, mit bp-Zahlen, TATA-Box, ATG-Basen markiert.
Aufgabe: Markieren Sie: Start der Transkription, Start Translation, Anfang des ersten Exons
- 1ml Protein + ? ml 100%er Ammoniumsulfat-Lsg => ? ml 80% Lsg?
1ml Protein in 20% Ammoniumsulfat + ? ml 100%er Ammoniumsulfat-Lsg => ? ml 80% Lsg?
- Warum muss beim Southern Blot depuriniert werden? Warum tut man Heringssperma auf das Nylon?
- Ein Agarosegel mit drei Spuren ist dargestellt. Von links nach rechts werden die Spuren immer dicker, aber auch verwischter. Frage: Primer und Template waren bei den drei Ansätzen gleich, wie haben sich die drei Faktoren geändert: Temperatur, MgCl₂-Konz., DCMU. Je ein Wort als Antwort, 10 Punkte.
- 6 Begriffe sollten paarweise mit Strichen zugeordnet werden (Sequenzgleichheit mit U=T): Codogener Strang, sense RNA, template, Matritze, mRNA, tRNA
- welchen Primer braucht man für reverse PCR (ankreuzen, kurz begründen): TTTTTTTTTTTT, NN(-T)TTTTTTTTTT, Hexamer
- Welche Eigenschaften muss ein Plasmid minimal haben, damit man es zum Klonieren verwenden kann? Was braucht man, um ein Phagemid in eine Phagenhülle zuverpacken?
- Wird Paramutation nach Mendel vererbt? Ja/Nein (dafür gab es schon 6 Punkte!!!), Begründen Sie (aber nicht Paramutation erklären!)(4 Punkte)

was passiert, in Bezug auf die Expression, wenn die DNA bzw. Histone methyliert werden.

Lutz hat Folgendes geschrieben:

[*]Ein Agarosegel mit drei Spuren ist dargestellt. Von links nach rechts werden die Spuren immer dicker, aber auch verwischter. Frage: Primer und Template waren bei den drei Ansätzen gleich, wie haben sich die drei Faktoren geändert: Temperatur, MgCl₂-Konz., DCMU. Je ein Wort als Antwort, 10 Punkte

Ich glaub es war nach DMSO gefragt (statt DCMU).

Lutz hat Folgendes geschrieben:

[*]welchen Primer braucht man für reverse PCR (ankreuzen, kurz begründen):
TTTTTTTTTTTT, NN(-T)TTTTTTTTTT, Hexamer

Hier stand noch irgendwo was mit Prokaryoten (also wäre Hexamer richtig gewesen).
Die selbe Frage kam heute in der Wiederholungsklausur dran, nur das es diesmal um
Eukaryoten (Kartoffeln) ging.

Weitere Fragen aus der Wiederholungsklausur:

- Wo kommt doppelsträngige RNA vor?
- Was sind Insulatoren?
- Was braucht man für eine PCR (5 Antworten)?
- Was bezweckt EDTA bei molekularen Experimenten?
- Proteinwege: Es standen 5 Begriffe zur Auswahl die man entweder dem sekretorischen Weg oder dem cytoplasmatischen Weg zuordnen sollte (z.B. cytoplasmatischer Weg --> Mitochondrium usw.).