

Opgave 1 Het bacteriële *lux* operon bestaat uit een aantal genen die coderen voor subunits van het enzym luciferase. Dit enzym kan gebruikt worden als reporter. Men wil het *lux* operon tot expressie brengen in zebravisjes.

a) Noem twee van de aanpassingen die men aan het operon moet doen om dit voor elkaar te krijgen.

b) Men wil de *lux* genen specifiek in het hart tot expressie laten komen. Hoe krijg je dit voor elkaar?

Opgave 2 PCR is een heel belangrijke techniek voor de biotechnologie.



5' AAACGTCAGTGCATGGGCTAAGT**TCTCGTAGTTCAGTCAACGGCCTGAATGCCTTGAT**
3' TTTGCAGACACGTACCCGATTCA**AGAGCATCAAGTCAGTTGCCGGACTTACGGAACTA**



CAGTTTTCAGGTCAAATGCAACGGTCAATTCAATCCGGAAGCCAATTGGCGCGCTGAT3'
GTCAAAGTCCAGTTTACGTTGCCAGTTAAGTTAGGCCTTCGGTTAACCGCGCGACTA5'

a) Stel je wilt het dikgedrukte stuk tussen de pijlen met PCR amplificeren. Bedenk de twee primers (10 nucleotiden lang) die je hiervoor kunt gebruiken.

b) Geef de drie stappen van een PCR cyclus weer met de bijbehorende temperatuur.

Stap 1

Stap 2

Stap 3

c) PCR kan ook gebruikt worden om te kijken naar de expressie van het genen. Leg uit hoe dit wordt gedaan.

Opgave 3 Men heeft een enzym gezuiverd dat betrokken is bij de productie van flavonolen in bosbessen. Men wil het bijbehorende gen met promotor isoleren om het in te brengen in een andere plantensoort. Men gaat eerst een bank (library) maken.

a) Zal men een chromosomale of een cDNA bank maken? Licht je antwoord toe

b) Beschrijf het maken van de bank.

c) De twee meest voorkomende typen transgene gewassen zijn de BT en Roundup gewassen. Welke twee eigenschappen zijn in deze gewassen geïntroduceerd?

Opgave 4 Wat wordt bestudeerd met behulp van het 'Yeast-Two Hybrid' systeem?

b) In dit systeem gebruik je twee eiwit domeinen, een DBD domein en een AD domein. Wat is de functie van die twee domeinen?

DBD domein =

AD domein =

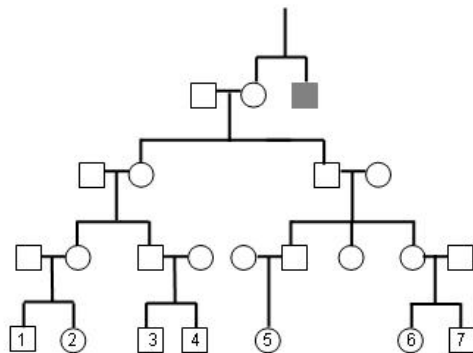
Opgave 5 Men heeft het gen dat codeert voor een eiwit van de anthrax bacterie *Bacillus anthracis* geïntroduceerd in chloroplasten van een tabaksplant.

- Welke techniek om DNA in planten te brengen zou je hiervoor gebruiken? Licht je antwoord toe.
- Noem een voordeel van het gebruik van chloroplast engineering.

Opgave 6 Transgene dieren kunnen gebruikt worden als bioreactoren voor het produceren van eiwitten. Zo heeft het Nederlandse bedrijf Pharming (van stier Herman) het humane enzym acid alfa-glucosidase in de melk van konijnen geproduceerd. Deficiëntie van dit eiwit leidt tot de ziekte van Pompe.

- Noem twee voordelen van transgene dieren boven andere productiesystemen.
- Deze konijnen zijn gemaakt met behulp van microinjectie. Beschrijf hoe deze methode werkt.
- Bij microinjectie wordt het DNA random in het genoom geïntegreerd. Er zijn ook twee technieken om op een specifieke plek in het genoom een gen in dieren in te brengen. Welke twee technieken zijn dat?

Opgave 7 Er is een stoffelijk overschot gevonden in een tuin en men heeft een vermoeden wie het is. De onderstaande stamboom geeft de betrokken familie weer en in grijs is de vermiste persoon aangegeven, waarvan het overschot waarschijnlijk is (rondjes zijn vrouwen, vierkantjes mannen).



- Om het overschot te identificeren analyseert men mitochondriaal DNA. Noem twee voordelen van het analyseren van mitochondriaal DNA.
- Er zijn 7 personen (1 t/m 7) die DNA willen afstaan om te analyseren. Noem alle personen waarvan het DNA gebruikt kan worden voor de analyse.
- Meeestal wordt voor het maken van een DNA profiel echter chromosomaal DNA gebruikt. Met welke techniek en welke type locus wordt op dit moment een DNA profiel gemaakt.

Opgave 8 A.L.S. is een erfelijke ziekte waarbij motorneuronen langzaam afsterven. Dimos et al (2008) hebben in het tijdschrift Science beschreven hoe ze van een oude vrouw met ALS geïnduceerde stamcellen hebben geïsoleerd en laten differentiëren in motorneuronen.

a) Beschrijf kort hoe je aan geïnduceerde stamcellen kunt komen.

b) Je wilt bepalen of de cellen die je geïsoleerd hebt ook echt stamcellen zijn. Noem de drie criteria voor humane stamcellen geformuleerd door de NIH (Nationale Institutes of Health) waaraan de cellen moeten voldoen.

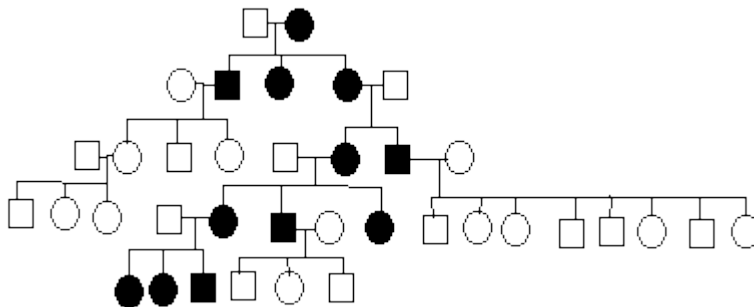
Opgave 9 Fenyketonuria is een autosomale recessieve ziekte. Onderzoekers vinden in een familie een SNP die verantwoordelijk is voor de ziekte. De SNP ligt verrassend genoeg niet in het gen, maar upstream van het gen.

a) Geef hiervoor een verklaring.

b) Men wil een diagnostische test ontwikkelen om de mutatie aan te tonen. Men kan geen RFLP gebruiken. Wat is hiervoor de meest waarschijnlijke reden?

c) Hieronder zie je een genetische stamboom voor een nog onbekende ziekte. Wat is de meest voor de hand liggende vorm van overerving. Licht je antwoord toe.

- A. autosomaal dominant
- B. autosomaal recessief
- C. X-linked recessief
- D. X-linked dominant
- E. Mitochondriaal



Opgave 10 Niet alle behandelingen hebben bij alle patiënten hetzelfde resultaat. Dit komt door genetische verschillen tussen de patiënten onderling.

a) Hoe noemt men het gebied waarin men behandelingen ontwikkelt die rekening houden met genetische verschillen tussen patiënten?

b) Een voorbeeld hiervan is het bepalen van de genexpressie in tumorcellen. Met behulp van DNA microarrays wordt de expressie van genen in tumorcellen bestudeerd om tot een goede keuze van de behandeling te kunnen komen. Beschrijf in het kort hoe je voor deze toepassing de microarray analyse zou uitvoeren.

Opgave 11 Cystic fibrosis (CF) is een van de meest voorkomende erfelijke ziektes. Sommige mutaties beïnvloeden de tertiaire structuur van het eiwit.

a) Met welke techniek kun je de tertiaire structuur van een eiwit bepalen?

CF is een van de ziektes waarvoor men bezig is met het ontwikkelen van gen therapie. Je wilt een vector

b) Zou je voor CF *in situ* of *ex situ* genterapie gebruiken? Licht je antwoord toe.

c) Welke vector zou je gebruiken als je het geïntroduceerde gen langdurig tot expressie wilt brengen door middel van integratie in het gastheer DNA?