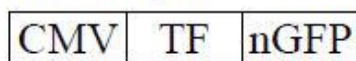


Examen 2011-II

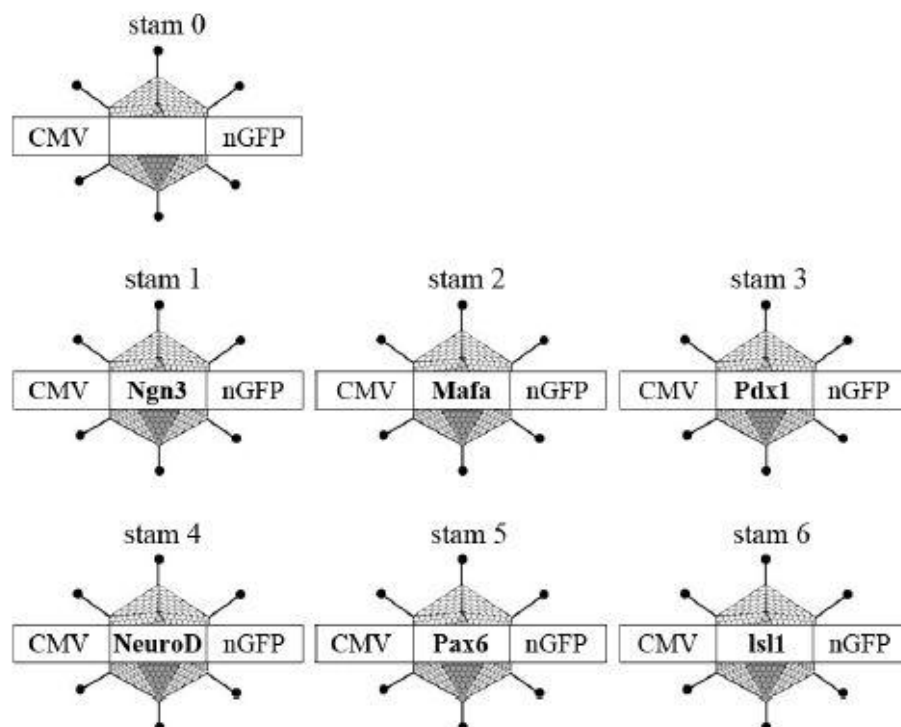
Voor het herprogrammeren van exocriene alveolaircellen moeten genen worden aangeschakeld of moeten genen worden uitgeschakeld in deze cellen. Het aan- en uitzetten van genen wordt geregeld door transcriptiefactoren. Door combinaties van transcriptiefactoren te gebruiken die kenmerkend zijn voor de endocriene β -cellen, probeerden de onderzoekers de exocriene cellen van muizen te herprogrammeren tot β -cellen. Voor het experiment maakte de onderzoeksgroep eerst (zie afbeelding 1) genconstructen bestaande uit een virale promotor (CMV), een gen coderend voor één van de zes transcriptiefactoren (TF) en een gen voor een groen fluorescerend proteïne (nGFP).

afbeelding 1



De gebruikte transcriptiefactoren waren: Ngn3, Mafa, Pdx1, NeuroD, Pax6 en Isl1. De onderzoekers brachten de genconstructen in het DNA van adenovirussen en creëerden zo zes verschillende virusstammen. Ook werd een virusstam (stam 0) gemaakt zonder transcriptiefactor (zie afbeelding 2).

afbeelding 2



- 2p 27 Wat is de functie van de virale promotor (CMV) in het genconstruct?
- A De promotor dient als bindplaats voor DNA-polymerase.
 - B De promotor dient als bindplaats voor reverse-transcriptase.
 - C De promotor dient als bindplaats voor RNA-polymerase.

1p 28 Wat is de functie van het gen voor het groen fluorescerend proteïne (nGFP) in het genconstruct?

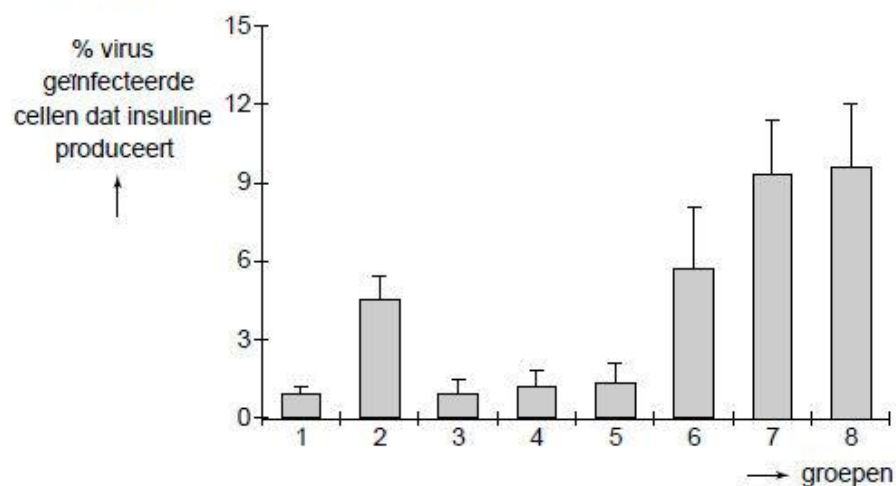
De gebruikte virusstammen werden geïnjecteerd in de alvelesklier van muizen met een verzwakt immuunsysteem.

De muizen werden in acht groepen verdeeld en kregen de volgende injecties:

- groep 1 alleen virusstam 0
- groep 2 een mengsel van alle virusstammen 1 tot en met 6
- groep 3 alle virusstammen, behalve stam 1 (Ngn3)
- groep 4 alle virusstammen, behalve stam 2 (Mafa)
- groep 5 alle virusstammen, behalve stam 3 (Pdx1)
- groep 6 alle virusstammen, behalve stam 4 (NeuroD)
- groep 7 alle virusstammen, behalve stam 5 (Pax6)
- groep 8 alle virusstammen, behalve stam 6 (Isl1)

Vervolgens bepaalden de onderzoekers welk percentage van de geïnfecteerde alveleskliercellen als gevolg van de nieuw ingebrachte transcriptiefactoren insuline ging aanmaken. De resultaten hiervan zijn weergegeven in afbeelding 3.

afbeelding 3



Uit de resultaten van dit experiment kan afgeleid worden wat de meest effectieve combinatie van transcriptiefactoren is om exocriene alveleskliercellen te herprogrammeren zodat ze insuline gaan aanmaken.

- 2p 29 Wat is de meest effectieve combinatie?
- A de combinatie van Isl1 en Pax6
 - B de combinatie van Isl1, Pax6 en NeuroD
 - C de combinatie van Ngn3, Mafa, en Pdx1
 - D de combinatie van alle zes transcriptiefactoren

Onderzoek naar veroudering bij muizen

Al sinds de oudheid zijn mensen geïnteresseerd in veroudering, en dan vooral het tegengaan daarvan. Het onderzoek hiernaar verloopt met vallen en opstaan: voortdurend veranderen de inzichten over de oorzaken van veroudering.

Bij één van de onderzoeken naar de oorzaak van verouderingsprocessen werden muizen gebruikt met een mutatie in het gen voor DNA-polymerase- γ . Jonge muizen die homozygoot zijn voor dit mutantgen worden vroeg oud. De dieren verliezen gewicht, krijgen kale plekken en soms een bochel. Ze lijden aan botontkalking, bloedarmoede en hartstoornissen en ze gaan voortijdig dood. Veranderingen in het mitochondriale DNA (mtDNA) zijn mogelijk de oorzaak van deze snelle veroudering. Het mtDNA kan gemakkelijk worden beschadigd door vrije radicalen. Deze zuurstofradicalen ontstaan tijdens de oxidatieve fosforylering in de mitochondriën. Er wordt ook onderzoek gedaan naar stoffen die deze vrije radicalen wegvangen of de effectiviteit van in de cel voorkomende antioxidanten verhogen.

Alleen in mitochondriën is het enzym DNA-polymerase- γ actief. Dit enzym kopieert, controleert en repareert het mtDNA. Het gen voor dit enzym bevindt zich niet in de mitochondriën, maar in de celkern.

In een cel kunnen de volgende processen optreden:

- 1 replicatie
- 2 splicing
- 3 transcriptie
- 4 translatie

- 2p 17 Welke van deze processen zijn voor de vorming van DNA-polymerase- γ noodzakelijk en in welke volgorde vinden deze processen daarbij plaats?
- A 2-3-4
 - B 3-2-4
 - C 3-4-2
 - D 1-2-3-4
 - E 1-3-2-4
 - F 1-3-4-2

Het DNA-polymerase- γ dat door de muizen met het mutantgen geproduceerd wordt, is wel in staat om mtDNA te kopiëren, maar niet in staat om het te controleren op fouten. Het gevolg is dat bij de muizen de activiteit van enzymen die betrokken zijn bij de energieproductie sterk afneemt.

- 3p 18 Beschrijf in drie stappen waardoor in een dergelijke muis steeds meer cellen met een gebrekkige energieproductie worden aangetroffen.

Bij de snel verouderende muizen blijken veel meer puntmutaties in het mtDNA voor te komen dan bij muizen zonder deze afwijking.

Verandering van één enkele base in een gen leidt echter niet altijd tot een minder goede werking van het enzym dat door dat gen wordt gecodeerd.

2p 20 Geef hiervoor twee mogelijke verklaringen.

Het snelle verouderen gaat bij muizen met het mutantgen gepaard met het krijgen van kale plekken in de vacht.

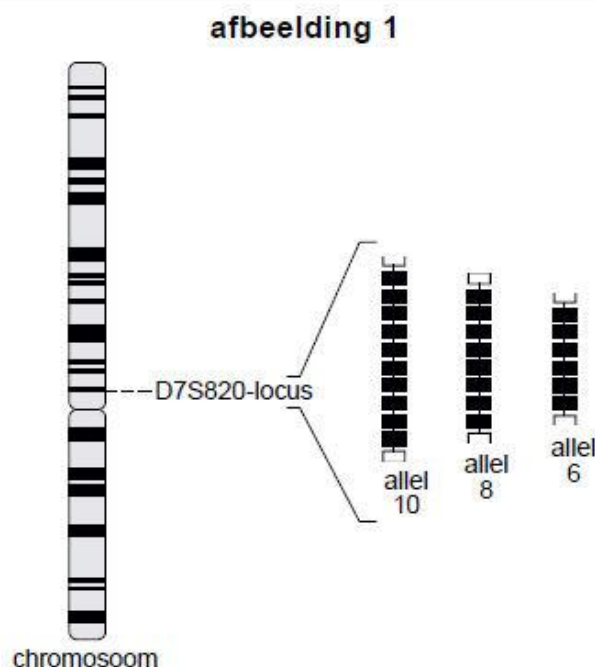
2p 19 Leg uit waardoor deze muizen sneller dan normaal kale plekken krijgen.

Forensisch onderzoek

Bij forensisch onderzoek op de plaats van een misdrijf wordt onder andere gezocht naar DNA-sporen. Daarmee kan een DNA-profiel worden gemaakt dat leidt naar een eventuele dader.

Voor het opstellen van een DNA-profiel wordt gebruikgemaakt van niet-coderend DNA.

Een groot deel van dit niet-coderend DNA is repetitief; het bestaat uit herhalingen (repeats) van bepaalde basenvolgorde. Een gebied met herhalingen van een bepaalde basenvolgorde, bijvoorbeeld agta, is een locus. De allelen worden genummerd naar het aantal repeats. Allel 4 op het 'agta' locus omvat dus de basenvolgorde agtaagtaagtaagta. In afbeelding 1 zijn drie mogelijke allelen van de locus D7S820 schematisch aangegeven.



De variatie in het aantal repeats (en dus het aantal allelen) per locus is talrijk, en daarmee de variatie onder de bevolking. De kans is klein dat twee niet-verwante personen dezelfde allelen hebben voor een specifieke locus.

Er zijn afspraken gemaakt over welke loci geschikt zijn voor het maken van een DNA-profiel. Bij standaardprocedures voor het maken van DNA-profielen worden minimaal tien onafhankelijk overervende loci onderzocht. Daardoor is een DNA-profiel karakteristiek voor één persoon, en bruikbaar voor identificatie.

Op de plaats van het misdrijf kan een dader allerlei soorten van sporen materiaal achterlaten, zoals bloedspetters, afgebroken haren, ontlasting, speeksel, sperma en vingerafdrukken.

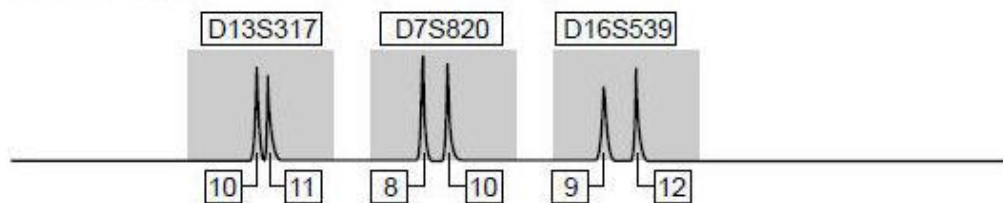
Niet alle sporen zijn even goed bruikbaar voor het maken van een eenduidig DNA-profiel.

2p 28 Leg uit waardoor speeksel aan een drinkglas een volledig DNA-profiel van de dader kan opleveren.

- 2p **29** Leg uit waardoor ontlasting niet geschikt is om het DNA-profiel van de dader te achterhalen.

Soms is het DNA van het sporenmateriaal van slechte kwaliteit en daardoor onvolledig. In afbeelding 2 is het profiel van een weefselspoor op de plaats van het delict weergegeven. De pieken, die met een elektroforesetechniek verkregen zijn, corresponderen met de allelen van drie loci: D13S317, D7S820 en D16S539.

afbeelding 2



- 2p **30** Kan een spermaspoor een dergelijk resultaat opleveren? Zo nee, waarom niet?
- A Ja.
 - B Nee, want spermacellen bevatten slechts ongeveer de helft van de totale hoeveelheid DNA.
 - C Nee, want in een spermaspoor is per locus maar één allel zichtbaar.

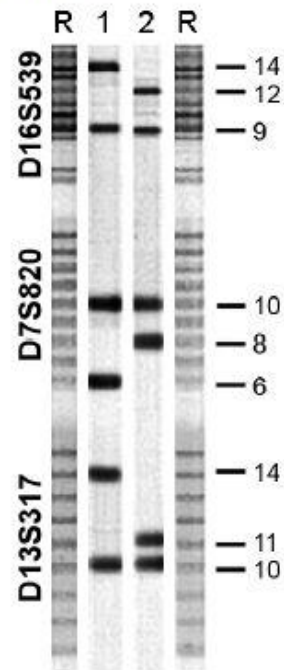
De recherche vergelijkt het onvolledige profiel van het weefselspoor (zie afbeelding 2) met het DNA-profiel van twee mannelijke verdachten.

In afbeelding 3 is een gedeelte van het DNA-profiel van deze twee verdachten (1 en 2) weergegeven. Alleen de bandjes van de allelen van de drie loci uit het onvolledige weefselspoor zijn in deze analyse te zien.

De kolommen die met R zijn aangeduid vormen de referentie: ze bevatten de banden van alle allelen (repeats) die bij de desbetreffende loci kunnen voorkomen.

De getallen rechts naast het profiel geven de nummers van de allelen aan.

afbeelding 3



Hoewel het profiel van het weefselspoor (zie afbeelding 2) niet volledig is, is het ontlastend voor één van de twee verdachten (zie afbeelding 3).

- 2p **31** Voor welke verdachte is het onvolledige profiel ontlastend? Op grond van welke van de drie onderzochte loci?

ontlastend voor:

op grond van de locus of de loci:

- | | |
|----------------------|----------------------------|
| A verdachte 1 | alleen D13S317 |
| B verdachte 1 | D13S317, D7S820 en D16S539 |
| C verdachte 2 | alleen D16S539 |
| D verdachte 2 | D16S539, D7S820 en D13S317 |

De twee verdachten beweren dat ze vader en zoon zijn. Wat betreft de leeftijd en het uiterlijk kan dat wel kloppen, maar in het bevolkingsregister is geen aanwijzing te vinden voor die bewering.

- 1p **32** Is het op basis van de afgebeelde DNA-profielen mogelijk dat de twee verdachten vader en zoon zijn? Leg je antwoord uit.

Bij forensisch onderzoek is het belangrijk dat de kans dat er nog iemand met hetzelfde DNA-profiel rondloopt, erg klein is. Als bekend is wat de allelfrequentie in een bepaalde populatie is voor elk van de onderzochte loci, kan berekend worden hoe groot de kans is dat een willekeurige, niet-verwante voorbijganger hetzelfde DNA-profiel heeft.

In tabel 1 zijn van de drie loci uit het weefselspoor van afbeelding 1 de allelfrequenties bij een representatieve steekproef uit een bepaalde Amerikaanse populatie weergegeven. Voor het maken van deze analyse zijn speekselmonsters gebruikt.

tabel 1

locus D16S539			locus D7S820			locus D13S317		
allel*	allel frequentie	N	allel*	allel frequentie	N	allel*	allel frequentie	N
5	0.000	0	6	0.000	0	7	0.000	0
6	0.000	0	7	0.019	8	8	0.087	36
7	0.000	0	8	0.099	41	9	0.184	76
8	0.012	5	9	0.075	31	10	0.077	32
9	0.101	42	10	0.283	117	11	0.229	95
10	0.181	75	11	0.266	110	12	0.244	101
11	0.300	124	12	0.220	91	13	0.121	50
12	0.268	111	13	0.031	13	14	0.053	22
13	0.118	49	14	0.007	3	15	0.005	2
14	0.019	8						
totaal	1.000	414		1.000	414		1.000	414

* het getal geeft het aantal repeats aan

2p 33 Uit hoeveel personen bestond de steekproef?

- A 124
- B 207
- C 414
- D 1000
- E 1242

Een verdachte heeft het volgende DNA-profiel: **D16S539** 9/12, **D7S820** 8/10, **D13S317** 10/11. Voor de rechtspraak is het van belang te weten hoe groot de kans is dat een willekeurige, niet-verwante voorbijganger voor de onderzochte loci hetzelfde DNA-profiel heeft als deze verdachte. Neem aan dat beide, de verdachte en de willekeurige voorbijganger, afkomstig zijn uit de Amerikaanse populatie waarvan de gegevens in tabel 1 staan.

2p 34 Hoe groot is de kans dat deze willekeurige, niet-verwante voorbijganger voor de drie loci hetzelfde DNA-profiel heeft als de verdachte?

- A $3,6 \cdot 10^{-2}$
- B $1,1 \cdot 10^{-4}$
- C $1,3 \cdot 10^{-5}$