



# UiO : **Institutt for medisinske basalfag**

Det medisinske fakultet

Eksamen i ERN4300

17. desember kl. 09:00 – 11:00.

*Hver oppgave teller like mye*

Oppgavesettet består av 6 oppgaver.

Gjennomsnittlig tidsbruk per oppgave er 20 minutter.

Kontaktinformasjon:

Hastesaker: Tlf. 45 24 39 16

E-post: : [m.v.bjerke@medisin.uio.no](mailto:m.v.bjerke@medisin.uio.no)

Husk å oppgi navn og tlf.nr. slik at vi kan nå deg.

For faglige henvendelser kan dere benytte e-posten over. Husk å kopiere hele oppgaveteksten.

# 1 Kvalitetssystemet

## Oppgave 1 (Svar kort, 1-3 setninger per deloppgave) (Totalt 6 poeng)

- A. Beskriv kort innholdet i «Kvalitetssystemet for medisinsk og helsefaglig forskning» ved UiO.
- B. Hvordan vil du normalt bygge opp diskusjonen i en vitenskapelig artikkel over et klinisk forsøk.
- C. Beskriv hovedinnholdet i Vancouverkonvensjonen.
- D. Hva er Helseforskningsloven?

Skriv ditt svar her

A

- 
- *UiO har et eget regelverk som alle ansatte/studenter må følge*
- *Sikre at forskning planlegges, gjennomføres, rapporteres og avsluttes slik at etiske, medisinske, helsefaglige, vitenskapelige og personvernmessige forhold ivaretas*
- *Sikre at forskningen holder en faglig forsvarlig standard*
- *Inneholder en rekke nyttige verktøy for å ivareta helseforskningsloven og interne retningslinjer. (0.5 p maks 2p)*

B

- 
- *Første avsnitt; evt kort bakgrunn/hensikt med studien, deretter oppsummere hovedfunn i generelle termer*
- *Andre avsnitt: Gjengi kort hovedfunn (primært endepunkt) og diskutere dette grundig opp mot litteraturen*
- *Tredje avsnitt etc: deretter diskutere sekundære endepunkt opp mot litteraturen. Vanligvis ett endepunkt per avsnitt.*
- *Neste avsnitt: Styrker og svakheter ved forsøksdesign og metoder. Begrensninger.*
- *Siste avsnitt: Oppsummere resultatene. Svare konkret på problemstillingen som er beskrevet i siste avsnitt av introduksjonen.*
- *Evt. avslutte med en setning eller to som peker fremover. Hva leder resultatene til, videre forskning etc. (0.5 p maks 3p)*

C

- 
- *Beskriver krav til manuskripter som innsendes til medisinske journaler. Definerer også krav til forfatterskap, medforfatteransvar, etiske hensyn ved publisering, redaktøransvar og innhold i manuskripter (0,5 p)*

D

- 
- *Helseforskningsloven regulerer medisinsk og helsefaglig forskning på mennesker, humant biologisk materiale og helseopplysninger i Norge (0,5 p)*

## 2 Klinisk Forsøk

### Oppgave 2 (Svar kort, 2-5 setninger per deloppgave) (Totalt 6 poeng)

- A. Hva er hensikten med en «run-in» periode i et klinisk forsøk?
- B. Hvilket forsøksdesign regnes normalt som en «gullstandard» i kliniske forsøk hvor man skal undersøke om en behandling virker? Forklar hovedprinsippene ved dette forsøksdesignet.
- C. Hvilke forsøkstyper benyttes normalt i systematiske kunnskapsoppsummeringer om kostholdets betydning for forebygging av livsstilssykdommer?

#### Skriv ditt svar her

A

- 
- *Skal redusere variasjon mellom forsøksdeltagere ved baseline. (1p)*

B

- 
- *Randomisert kontrollert studie (RCT)*
- *Randomisering til to eller flere grupper*
- *Inkluderer kontrollgruppe*
- *Placebo hvis mulig*
- *Dobbel blinding hvis mulig (0,5p, maks 2p)*

C

*Man gjør en helhetlig kunnskapsoppsummering hvor alle tre følgende studietyper normalt inngår:*

- 
- *Epidemiologiske studier, spesielt prospektive*
- *Mekanistiske forsøk (celle og dyreforskning)*
- *Kliniske forsøk, spesielt*
  - relativt korte RCT med biomarkører som endepunkt, eller*
  - RCT med risikopersoner med harde endepunkt*

*(3p, 1p hver)*

---

Maks poeng: 6

### 3 Musemodeller

#### Oppgave 3: Musemodeller (Svar kort, 2-5 setninger per deloppgave) (Totalt 6 poeng)

- A. Hva vil mus med «loss of function» mutasjon i genet for leptin (*ob*) eller leptin reseptor (*db*) være gode modeller for, og hvorfor?
- B. Kan en kompensere for disse «loss of function» mutasjonene ved medikamentell behandling?
- C. Foreslå en annen egnet modell som erstatning for disse to «loss of function» modellene?
- D. Både ApoE<sup>-/-</sup> og Ldlr<sup>-/-</sup> modeller er mye brukt til å studere aterosklerose. Hvilken av disse er en bedre modell for utvikling av aterosklerose hos mennesker, og hvorfor?

#### Skriv ditt svar her

- A. *Mangel på leptin-signallering gjør at begge modellene mangler metthets-signal og vil overspise. Modellene er dermed gode modeller for overvekt/overspising (1 poeng).*
- B. *Mutasjon i leptin genet (*ob*) kan behandles med injeksjon av hormonet leptin. Med korrekt dose vil musen få normal fenotype. Mutasjon i leptin reseptor (*db*) kan i realiteten ikke behandles (1 poeng).*
- C. *Ulike modeller som generer overvekt vil kunne erstatte modellene over. Det forventes at studenten trekker frem energirik diett med høyt fettinnhold (ofte 60%E fra fett, for det meste mettet fett) (1 poeng). Det finnes andre genetisk modeller som medfører overvekt (ble ikke undervist).*
- D. *Ldlr<sup>-/-</sup> er mer lik utvikling av aterosklerose hos mennesker (1 poeng). Dette skyldes at delesjon av ApoE og Ldlr gir ulik opphopning av lipoproteiner i sirkulasjonen. Hos mennesker skyldes aterosklerose (overordnet) forhøyede nivåer av LDL og opphopning av LDL i karveggen. Mutasjon i Ldlr<sup>-/-</sup> fører til redusert opptak av LDL, og mimikerer dermed bedre sykdomsforløpet hos mennesker. ApoE finnes på VLDL og IDL partikler, men ikke på LDL partikkelen. I ApoE<sup>-/-</sup> mus hoper VLDL og IDL seg opp i sirkulasjonen. Selv om dette fremmer utvikling av aterosklerose er de molekylære trinnene involvert ulike (2 poeng).*

---

Maks poeng: 6

## 4 Metoder RT-qPCR

### Oppgave 4 (Svar kort, 3-6 setninger per deloppgave) (Totalt 6 poeng)

Signalomformer og aktivator for transkripsjon 1 (STAT1) er en transkripsjonsfaktor som aktiveres som respons på en virusinfeksjon. Aktivering av STAT1 resulterer i økning i RNA ekspresjonsnivåer av mange cytokiner and kjemokiner inkludert C-X-C motif chemokine ligand 10 (CXCL10). Disse endringene i RNA-nivåer kan påvises ved kvantitativ-PCR (RT-qPCR).

A) Polymerasekjedereaksjon (PCR)-reaksjon består av et denatureringstrinn, et annealingstrinn og et forlengelsestrinn i hver syklus. Syklusene gjentas opptil 40 ganger eller mer under et PCR-eksperiment. Beskriv kort de tre fasene av produktdannelse som skjer under et PCR-eksperiment.

B) Forklar hvordan SYBR-grønn og TaqMan / probe-baserte metoder brukes til å oppdage amplifisert DNA under kvantitativ PCR (RT-qPCR). Hva er fordelene og ulempene med disse to deteksjonsmetodene?

C) CXCL10 mRNA er transkribert fra et gen som er sammensatt av 4 eksoner. Beskriv hvordan du vil designe et qPCR-primerpar for å amplifisere CXCL10 mRNA med SYBR-basert PCR.

**Skriv ditt svar her**

### Oppgave 4 (Svar kort, 3-6 setninger per deloppgave) (Totalt 6 poeng)

Signalomformer og aktivator for transkripsjon 1 (STAT1) er en transkripsjonsfaktor som aktiveres som respons på en virusinfeksjon. Aktivering av STAT1 resulterer i økning i RNA ekspresjonsnivåer av mange cytokiner and kjemokiner inkludert C-X-C motif chemokine ligand 10 (CXCL10). Disse endringene i RNA-nivåer kan påvises ved kvantitativ-PCR (RT-qPCR).

A) Polymerasekjedereaksjon (PCR)-reaksjon består av et denatureringstrinn, et annealingstrinn og et forlengelsestrinn i hver syklus. Syklusene gjentas opptil 40 ganger eller mer under et PCR-eksperiment. Beskriv kort de tre fasene av produktdannelse som skjer under et PCR-eksperiment.

B) Forklar hvordan SYBR-grønn og TaqMan / probe-baserte metoder brukes til å oppdage amplifisert DNA under kvantitativ PCR (RT-qPCR). Hva er fordelene og ulempene med disse to deteksjonsmetodene?

C) CXCL10 mRNA er transkribert fra et gen som er sammensatt av 4 eksoner. Beskriv hvordan du vil designe et qPCR-primerpar for å amplifisere CXCL10 mRNA med SYBR-basert PCR.

[Skriv ditt svar her](#)

---

Maks poeng: 6

## 5 ELISA Kompetitiv

### Oppgave 5. (Svar kort, 3-6 setninger per deloppgave) (Totalt 6 poeng)

En metode som brukes for å studere nivået av proteiner i serum- eller plasmaprøver er en "sandwich" enzym-koblet immunosorbent-analyse (ELISA).

A. Forklar kort prinsippet bak en sandwich-ELISA.

B. Beskriv hvordan et sandwich-ELISA-eksperiment gjøres for å finne ut konsentrasjonen av et interferon beta (IFN $\beta$ ), et cytokin som øker i respons til virusinfeksjon, i en plasmaprøve.

#### Skriv ditt svar her

A

- *the assay requires a capture antibody and a detection antibody that recognize the target protein or in this cytokine. Two antibodies the recognize the same protein BUT bind to different parts of that protein. The protein is sandwiched between the two antibodies, hence its name (1,5 p)*
- *A secondary antibody or streptavidin-biotin linked to horseradish peroxidase (HRP), or similar detection enzyme is needed to detect the signal (0,5p)*
- 

B

- *96-well culture plates are precoated with an antibody that recognizes IFN $\beta$*
- *the plasma sample and standard curve of known amount of the protein are added to the plate and incubated – capture antibody binds IFN $\beta$*
- *plates are washed and a second antibody, the detection antibody, is added and binds to IFN $\beta$  and incubated. It is possible that a streptavidin-linked HRP is also added to the reaction OR that the detection antibody is fused to HRP – or another enzyme. This is critical to detect the protein.*
- *After washing a substrate solution (usually Tetramethylbenzidine (TMB) – the abbreviation is fine)) is added and incubated. The reaction is stopped by addition of acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (sulfuric acid)) causing the color to change from blue to yellow (most common). The absorbance is measured at nm 450 for yellow*
- *The concentration of the amount of IFN $\beta$  in the plasma can be determined. (1 p hver, maks 4p)*

---

Maks poeng: 6

## 6 CRISPR/Cas

### Oppgave 6 (Svar kort, 3-6 setninger per deloppgave) (Totalt 6 poeng)

Protein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) er viktig for opptak av lavdensitetslipoprotein (LDL) og dermed kolesterol. Sletting av PCSK9 vil senke serumkolesterolnivået. Som en del av masterprosjektet ditt har du blitt bedt om å slette PCSK9 fra hepatocytter avledet fra humane pluripotente stamceller. Din veileder vil at du skal bruke Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic repeats (CRISPR), Cas9 som et genredigeringsverktøy for å generere PCSK9-delesjoner.

Forklar kort hva CRISPR Cas9-systemet er og hvordan teknikken kan brukes til å slå ut **og** sette inn et gen i et genom.

#### Skriv ditt svar her

• *CRISPR-Cas9 stammer fra bakterier der den fungerer for å beskytte bakteriene mot fremmed DNA, men gjenkjenner fremmed DNA fra en tidligere infeksjon og spalter eller skjærer det (1p). Cas9 er en RNA-avhengig nuklease som spalter DNA. Hvor det spalter DNA avhenger av sekvensen til guideRNA (gRNA). gRNA eller sgRNA består av 17-20 nukleotider og et 5-NGG-3 protospacer adapter motiv (PAM) (1p). CRISPR-Cas9 binder seg til stedet av interesse basert på gRNA og forårsaker et dobbeltstrengs DNA-brudd nær PAM-stedet (1p).*

• *På grunn av feiltilbøyelige ikke-homologe endesammenføyninger (NHEJ – forkortelsen er greit) kan det forekomme innsettinger eller slettinger i DNA-sekvensen (1p). Disse kan føre til rammeskift (endret proteinsekvens) som fører til et for tidlig stoppkodon (1p). Når to gRNA-er brukes, fjernes sekvensen mellom dem og DNA-et liggeres sammen igjen.*

*For å sette inn et gen, må donor-DNA som inneholder DNAet som skal settes inn, inkluderes i transfeksjonen med CRISPR-Cas9 og gRNA (1p). Denne donor-DNA-sekvensen må inneholde ytterligere DNA-sekvens som er homolog med målet for å tillate innsetting av det nye DNA. Denne prosessen er avhengig av homolog rekombinasjon (HR) (1p). Derfor må oppstrøms og nedstrøms homologregioner inkluderes i donor-DNA.*

---

Maks poeng: 6