

**Zusammenfassung Biologie I/B
Universität Köln 2007**

Autor: Denis Meuthen

**Bei Verbesserungsvorschlägen, Fragen und
sonstigem Kontaktinteresse wenden Sie sich über
denmeu@web.de an mich. Ich übernehme keine
Garantie auf Vollständigkeit und Korrektheit.**

Viren, Bakteriophagen und Bakterien

-ein Virus ist ein sehr kleiner, infektiöser, zellulärer Parasit, der ein Genom aus RNA oder DNA hat und sich über Infektion von Zellen, Einschleusung der DNA und sich durch Neusynthese sowie Zelllyse reproduziert. Viren haben keinen eigenen Stoffwechsel und können sich nur durch Zellinfektion reproduzieren.

Beispiele für virale Infektionen sind Tabak-Mosaik-Krankheit, Blattrollkrankheit (Pflanzenviren), Tollwut, Maul- und Klauenseuche (tierische Viren) sowie Grippe und AIDS (Menschenviren)

-ein Viroid ist ein Virus mit einer sehr kleinen, ringförmig geschlossenen RNA als Nukleinsäure

-ein Prion ist ein infektiöses Protein ohne enthaltene Nukleinsäure, die das ZNS degenerieren. Scrapie (Schafe), BSE (Rinder) und Creutzfeld-Jakob-Krankheit (Mensch) sind Beispiele.

-Der Nachweis, dass nur die Nukleinsäuren bei Viren die genetische Information enthalten, erfolgte durch ein Experiment, in dem man die Proteine und die Nukleinsäure der Viren biochemisch trennte und einen Infektionstest machte.

-Bei einem Plaquetest (Lebendtitrierbestimmung) wird eine hohe Verdünnung einer Bakteriophagensuspension mit einer Bakteriensuspension versetzt und diese ausplattiert. Über die Anzahl der entstandenen Plaques durch Bakterienlyse lässt sich nun die Anzahl der in der Suspension enthaltenen Bakteriophagen bestimmen.

-der lytische Zyklus der Bakteriophagen sieht wie folgt aus: Adsorption, Penetration, Synthese, Reifung, Lyse

-Der Nachweis, dass die Bakteriophagen-DNA in die Wirtszelle eingeschleust wurde, verlief über das Hershey-Case-Experiment. Hierbei wurden die Proteine mit Phosphor und die DNA mit Schwefel markiert und die Nachkommen der infizierten Zellen betrachtet. Sie wiesen natürlich nur eine Schwefelmarkierung auf.

-Bakterien können gegen Bakteriophagen resistent bzw. immun werden, indem sie durch Konjugation das F-Plasmid austauschen, das die genetische Information für eine Veränderung der Oberflächenstruktur beinhaltet. Da der Austausch dieses Plasmids nur bei F⁺- (haben ein F-Plasmid in der Zelle) und Hfr-Bakterien (haben das F-Plasmid im Genom eingebaut) möglich ist, können nur diese immun werden.

-Eine Escherichia coli – Zelle ist ca. 2µm groß und hat eine Stäbchenform. Man kann sie auf einem Minimalmedium, das nur aus Agar und Wasser besteht, kultivieren. Unter Optimalbedingungen teilt sich eine E.coli Zelle alle 20 Minuten.

DNA-Aufbau, Struktur und Replikation

-Der Versuch, mit dem die DNA als genetisches Material nachgewiesen wurde, war der Griffith-Versuch. Er wies nach, dass Pneumokokken eines R-Stammes (d. h. ein Stamm mit einer rauen Oberfläche) mit Hilfe der Inhaltsstoffe von hitzeabgetöteten Pneumokokken eines S-Stammes (d. h. glatte Oberfläche durch eine Schleimkapsel) ihren Nachkommen die Fähigkeit zur Kapselbildung vererben können. Dazu wurden die intakten Pneumokokken des R-Stammes (ungefährlich) mit den hitzeabgetöteten Pneumokokken des S-Stammes (letal) zusammengebracht.

-Ein DNA-Strang besteht aus Abfolgen von Nucleotiden. Jedes Nucleotid ist aus einer Base (Adenin, Cytosin, Guanin, Thymin), einem Zucker (Desoxyribose) und einer Phosphatgruppe (PO₄) zusammengestellt. Die Phosphatgruppe ist das Bindeglied, das die Nucleotide miteinander verbindet. Unter Nucleosiden versteht man die Base-Zucker Kompartimente. Unter den 3' und 5'-Enden der DNA versteht man die C-Atome in der Desoxyribose, die an den Phosphatgruppen hängen. Ein Einzelstrang hat immer ein 3'- und ein 5'-Ende.

-Die DNA ist eine Doppelhelix aus 2 zusammengefügt komplementären Einzelsträngen. Die Basen der beiden Einzelstränge gehen miteinander eine komplementäre Bindung ein. Dabei können im Normalfall nur Purine mit Pyrimidinen ein Basenpaar bilden. A und T gehen 2 Wasserstoffbrückenbindungen miteinander ein, C und G 3 WBB. Damit sind C und G hitzestabiler.

-Die bekannte DNA-Doppelhelix ist eine Idealform, die vom größten Teil der DNA eingenommen wird. Allerdings ist die Doppelhelix nicht starr sondern flexibel, was am Desoxyribose-Ring und der Phosphat-Zucker-Bindung liegt. Die Idealform wird B-Form genannt. Es gibt noch die A-Form, bei der die Basenpaare nicht senkrecht zur Zentralachse stehen sondern in einem Winkel von etwas mehr als 70° gekippt und zur großen Rinne hin verschoben wird. Dadurch ist ein großer Innenraum aber dafür eine enge, tiefe große Rinne. Die Z-Form ist im Gegensatz zur rechtsläufigen A- und B-Form linksläufig und nimmt dabei eine Zick-Zack-Form ein. Das liegt daran, dass syn- und anti-Konformationen sich in der Zucker-Base-Bindung abwechseln und so das Phosphodiesterband die typische Form erhält.

-Das Experiment, mit dem die semikonservative DNA-Replikation bewiesen wurde, war das Meselson/Stahl-Experiment. In diesem Experiment wird die DNA in eine Lösung mit einem schweren Stickstoff-Isotop gelegt, wodurch dieses in die DNA eingebaut wird, und anschließend in Lösungen mit normalem Stickstoff-Isotop replizieren lassen. Da unabhängig von der Generation immer nur 2 Einzelstränge mit schweren Stickstoff-Isotopen gefunden wurden, war der Beweis für die semikonservative Replikation erbracht.

-Es gibt verschiedene Typen von Polymerasen in Pro- und Eukaryonten, die unterschiedlichen Aufbau und Funktion haben. Diese sind bei:

Prokaryonten:

- DNA-Polymerase I : DNA-Reparatur, Entfernung von RNA-Primern
- DNA-Polymerase II: DNA-Reparatur, vor allem im Zuge der SOS-Antwort
- DNA-Polymerase III: DNA-Replikation, 3 Untereinheiten
- DNA-Polymerase IV: DNA-Reparatur im Zuge der SOS-Antwort
- DNA-Polymerase V: DNA-Reparatur im Zuge der SOS-Antwort, 3 Untereinheiten
- RNA-Polymerase: Transkription, selbstständig

Eukaryonten :

- DNA-Polymerase α : Primase, Replikationseinleitung, 4 Untereinheiten
- DNA-Polymerase δ : DNA-Replikation, Reparatur
- DNA-Polymerase ϵ : DNA-Replikation, Reparatur
- DNA-Polymerase β : Reparatur
- DNA-Polymerase γ : mitochondriale DNA-Replikation

RNA-Polymerase I: Transkription von rRNA

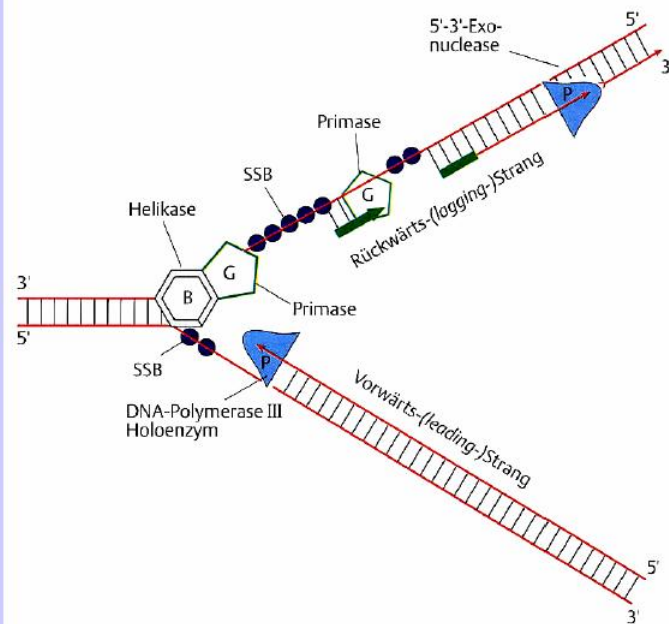
RNA-Polymerase II: Transkription von mRNA und snRNA

RNA-Polymerase III : Transkription von tRNA

Die RNA-Polymerase bei den Eukaryonten kann aber nicht selbstständig binden sondern nur mit Transkriptionsfaktoren zusammen arbeiten

Ereignisse an der Replikationsgabel:

- Dna B-Helikase bewegt sich in 5'-3'-Richtung, entwindet unter ATP-Verbrauch die Doppelhelix
- Einzelstrangbereiche werden durch Einzelstrang-Binde-Proteine abgedeckt
- Vorwärtsstrang: Pol III heftet dNTPs an 3'-OH Ende
- Rückwärtsstrang: Primase bildet Primer-Stücke (RNA), Pol III synthetisiert Okazaki-Fragmente (1000 –2000 Nucleotide)
- 5'-3'-Exo von Pol III, RNaseH bauen RNA-Primer ab
- Pol III schließt entstandene Lücken
- Ligase verknüpft Stränge



-Die Intiation der Replikation erfolgt bei Bakterien über die Bindung eines Initiator-Proteins an das Origin. Die Termination erfolgt über die Bindung des Proteins Tus an die entsprechenden Terminationsstellen, das die Helikase blockiert.

-Eukaryonten haben aufgrund ihrer Größe viele Replikationsstartpunkte, an denen die Replikation zeitgleich verläuft. Aktive Initiatorproteine binden an diese Origins und werden durch die Einleitung der Replikation inaktiv, bleiben aber immer noch am Origin. So verhindern sie die neuerliche Aktivierung des Origins. Erst durch den Zerfall der Kernhülle bei der Mitose werden diese wieder durch aktive Initiatorproteine ersetzt. Treffen bei der Replikation 2 Replikationsgabeln aufeinander, so beseitigt die Topoisomerase II die entstehenden Supercoils. Die Replikation an den Enden linearer DNA-Doppelstrangmoleküle würden normalerweise immer kürzer werden, aus diesem Grund gibt es Telomerasen, die die Enden (= Telomere = endständige repetitive DNA-Sequenzen) mit Hilfe des in ihnen enthaltenen RNA-Teils, der als mobile Matrize dient, weitersynthesisieren.

DNA-Verpackung in Chromatin und Chromosomen

-Die DNA-Kondensation erfolgt durch das Auffalten derselben durch Histone (=basische Proteine). Dadurch entstehen Nucleosomen, die sich zum Chromatin zusammenballen. In den Chromosomen, die während der Mitose entstehen, werden die Chromatin-Fasern dicht gebündelt.

-Der Zellkern dient der Abgrenzung des Genoms vom Cytoplasma. Die Kernhülle besteht aus 2 Lipidmembranen, wovon die äußere ein Bestandteil des ER ist. Die innere Membran ist mit der Kernlamina (=Intermediärfilamente) verbunden, die der Kernhülle ihre Festigkeit verleihen. Diese wird von Kernporen unterbrochen, die aus vielen verschiedenen Proteinen bestehen. Deren Funktion ist der Transport von Molekülen in den Zellkern und aus diesem heraus.

-Es gibt chromosomale Vererbung, wo die Zelle ihre Erbinformation weitergibt. In dieser ist allerdings nicht der Bauplan für die Mitochondrien enthalten, aus diesem Grund gibt es noch eine extrachromosomale Vererbung, wo die Mitochondrien ihr eigenes Genom enthalten und sich durch selbstständige Zellteilung duplizieren.

DNA-Schäden und Reparatur

-Eine Mutation ist eine Veränderung des Erbgutes eines Organismus durch Veränderung der Abfolge der Nucleotidbausteine oder durch Veränderung der Chromosomenzahl, die nicht auf Rekombination oder Segregation beruht. Durch eine Mutation wird die in der DNA gespeicherte Information verändert und dadurch können einzelne Merkmale (der Phänotyp) verändert werden.

-Mutationen sind immer ungerichtet, nie gerichtet. Es gibt verschiedene Mutationstypen:

Chromosomen-Mutationen/Genom-Mutationen:

Translokation: Verlagerung eines Chromosomenstücks von seinem ursprünglichen Ort auf ein anderes Chromosom oder an eine andere Stelle des gleichen Chromosoms.

Deletion: Verlust von Abschnitten eines Chromosoms

Insertion: Einbau eines DNA-Stücks in ein Chromosom

Inversion: Verdrehung eines Chromosomen-Abschnitts

Gen-Mutationen/Punkt-Mutationen:

Basenaustausch, missense: Ein Nucleotid wird ausgetauscht, so dass die translatierte AS eine andere wird.

Basenaustausch, nonsense: Ein Nucleotid wird ausgetauscht was zu einem Stop-Codon führt → AS nutzlos, können aber durch Suppressor-tRNA's mit anderem Anticodon wieder translatiert werden.

Basenaustausch-Typen: Transition (Pyrimidin- / Purin-Nucleotid wurde mit einem anderen ausgetauscht) und Transversion (Purin-Nucleotid ersetzt ein Pyrimidin-Nucleotid)

Leseraster-Mutation: Durch Insertion oder Deletion hat der Triplett-Takt eine andere Bedeutung bekommen. Es folgt ein Leseraster-Wechsel (frame shift)

Reversionen: Alle o.g. Mutationen können durch Zweitmutationen wieder rückgängig gemacht werden.

-Es gibt verschiedene Mutagene:

Chemische Mutagene:

Alkylierende Chemikalien: Methylieren oder ethylieren die DNA-Basen

Polycyclische Kohlenwasserstoffe: Schwächen die glykosidische Bindung zwischen Zucker und Base

Physikalische Mutagene

Ultraviolettes Licht: Erzeugt Thymin-Dimere in der DNA → verzerrt dieselbe

Ionisierende Strahlen: Verändern Basenstruktur

-UV-geschädigte DNA wird bei Pro- und Eukaryonten durch die Nucleotid-Exzision repariert:

Prokaryonten:

Zwei UVRa-Proteine und ein UVrB-Protein bilden durch ATP einen Dreierkomplex, der an Schäden bindet. UVRa-Protein wird durch ein UVrC-Protein ersetzt, der Komplex schneidet die DNA, 8 Nucleotide in 5'-Richtung und 3 Nucleotide in 3'-Richtung

Die UVrD-Helikase entfernt nun das geschädigte Stück (ca. 13 Nucleotide)

DNA-Polymerase I synthetisiert das fehlende Stück, Ligase versiegelt die Phosphodiester-Bindungen

Eukaryonten:

Das Protein XPA spürt die beschädigte Stelle auf und bindet mit Hilfe des Einzelstrang-Bindeproteins (SSB)

Die Proteine XPB bis XPG gesellen sich dazu und bilden einen Komplex, der die DNA schneidet, 5'-wärts an der 22. Phosphodiesterbindung, 3'-wärts an der 4.-6. Phosphodiesterbindung. Im Komplex enthaltene Helikasen schneiden 27-29 Nucleotide heraus.

Das Protein XPG vermittelt die Beladung mit dem Prozessivitätsfaktor PCNA. DNA-Polymerase δ und ϵ synthetisieren das fehlende Stück, Ligasen verschließen.

Die Krankheit Xeroderma pigmentosum, die ein erhöhtes Hautkrebsrisiko bewirkt, basiert auf Mutationen in den XPA bis XPG-Genen, die sie unbrauchbar machen

-Fehlpaarungen werden repariert:

Bindung des MutS-Proteins an das unkorrekte Basenpaar.

MutL-, dann MutH-Proteine lagern sich an, der Komplex schneidet den Strang an der nächsten GATC-Folge

Der Strang wird durch Helikase entwunden und die Exonucleasen bauen den Strang ab

Die DNA-Polymerase III synthetisiert neu und Ligase schließt die Lücken

-Doppelstrang-Brüche werden wie folgt repariert:

Bakterien und Hefezellen verlassen sich auf ihr Rekombinationssystem, die Enden des gebrochenen DNA-Stranges werden auf homologe Abschnitte eines intakten Genoms geleitet. (sie besitzen 2 oder mehrere Genome)
Eukaryonten arbeiten mit einer DNA-abhängigen Protein-Kinase und 2 Proteinen Ku70 und Ku80, dieser Komplex begünstigt das Aneinanderlegen von gebrochenen Enden. Durch Exonucleasen werden die Enden zugeschnitten und durch Ligasen wieder miteinander verknüpft.

-Bakterien reagieren auf Genom-Schäden mit der SOS-Antwort, einem speziellen Reparatursystem:

Der LexA-Repressor blockiert normalerweise die Transkription von 2 Dutzend E.coli Genen. Bei Genschäden wird dieser Repressor allerdings, durch das recA-Protein vermittelt, proteolytisch gespalten und die Gene abgelesen. Die Gene sind folgende:

sfiA-Gen: hemmt die Zellteilung und schafft somit Zeit für DNA-Reparatur

uvr-Gene: Komponenten der Nucleotid-Exzisions-Reparatur

polB-Gen für die DNA-Polymerase II und das dinB-Gen für die DNA-Polymerase IV, sie ersetzen Pol III

Dadurch hervorgerufen laufen DNA-Synthesen über die DNA-Schäden hinweg und garantieren damit die Integrität der DNA, allerdings um den Preis einer erhöhten Mutationsrate, da Pol II und Pol IV nicht so genau arbeiten können wie Pol III.

-zum Test der Mutagenität von Substanzen wird der Ames-Test durchgeführt.

Bei diesem werden 4 Petri-Schalen mit jeweils einem Filterpapier benetzt, das verschiedene Substanzen enthält:

#Wasser, dient der Bestimmung der spontanen Mutationsrate

#ein bekanntes Mutagen, dient der Bestätigung, dass das System funktioniert

#eine Substanz, deren Mutagenität untersucht werden soll

#die zu untersuchende Substanz mit einem Zusatzfaktor wie z.B. Leber-Extrakt, um zu überprüfen, ob das Mutagen durch Zusatz einer anderen Substanz gestärkt wird

DNA-Rekombination und Genkartierung

-die drei Mendelschen Regeln lauten:

Uniformitätsgesetz:

Die Nachkommen homozygoter Individuen sind untereinander gleich.

Spaltungsgesetz:

Die Nachkommen einer Kreuzung mischerbiger Individuen sind nicht mehr gleichförmig, sondern spalten ihr äußeres Erscheinungsbild in einem bestimmten Zahlenverhältnis auf.

Gesetz der freien Kombinierbarkeit der Gene:

Die Erbanlagen einer Rasse mit all ihren Ausprägungen liegen auf einzelnen Genen und sind frei kombinierbar.

-Kreuzung: Der Vorgang, bei dem Pflanzen oder Tiere verschiedener Arten, Rassen oder Sorten miteinander gepaart werden, um neue Arten und Sorten zu züchten.

-Komplementation: Ausgleich zweier verschiedener Defektmutanten zum Normalphänotyp nach Kombination nicht-alleler Gene oder von Allelen mit nicht identisch mutierten Untereinheiten.

-Rekombination: Die Entstehung neuer Kombinationen von Genen (genauer: von DNA oder RNA-Sequenzen).

-Gene können zwischen pro- und eukaryontischen Organismen übertragen werden:

Konjugation: Zwei Bakterien derselben Art lagern sich aneinander und bilden eine Brücke aus, über die die DNA ausgetauscht wird

Transduktion: Phagen nehmen bei ihrer Vermehrung auch Teile der Zell-DNA mit und pflanzen diese mit in ihren neuen Wirt ein

Transformation: Manche Zellen können durch ihre Zellwand hindurch freie DNA aufnehmen.

-bei der homologen Rekombination werden die Basen zweier nebeneinanderliegenden Stränge mit den Basen des jeweils anderen Stranges kovalente Verknüpfungen ein. Dabei sind viele Enzyme, vor allem Topoisomerasen vertreten.

-Als Transposition bezeichnet man eine Art der Rekombination, bei der ein im Genom vorhandenes DNA-Element an eine andere Stelle des gleichen Genoms oder auf ein anderes Genom versetzt wird. Dabei sind Deletionen und Inversionen gewöhnlich. Es gibt verschiedene Elemente:

IS-Elemente: Insertionssequenzen, Abschnitte in der DNA, die häufig an eine beliebige andere Stelle des Genoms übertragen werden, führt zu hohen Mutationsraten, da das Gen eine andere Funktion erhalten kann
Transposons: Haben neben den Transpositions-Genen noch Gene, die den Bakterien ein Überleben in extremen Lebensbedingungen ermöglichen und sind daher länger als IS-Elemente. Funktionieren aber ebenso.

P-Elemente: bewegliche genetische Elemente bei einem Stamm der Drosophila (P-Stamm), die bei der Befruchtung der Eizelle transponiert werden, wenn die Eizelle einem M-Stamm angehört.

-Unter integrativer Rekombination versteht man die Integration von DNA in das Genom durch Phagen.

-Durch Konjugation können Plasmide zwischen Bakterien ausgetauscht werden. Gelegentlich wird das F-Plasmid in das Bakterienchromosom eingebaut, es entstehen Hfr-Stämme. Als seltenes Ereignis kann aber ein integriertes Plasmid wieder herausgeschnitten werden. Gelegentlich werden dabei durch ungenaue Exzision benachbarte DNA-Abschnitte mit herausgeschnitten, dadurch haben die entstehenden Plasmide zusätzliche chromosomale Gene, es ist ein F'-Plasmid-Stamm entstanden (substituierte F-Plasmide)

-Unter Genkonversion versteht man folgendes: Wenn in einer Zelle 2 Formen eines Gens vorhanden sind, kann die eine Form korrigiert werden, so dass sie der anderen entspricht.

DNA-Techniken und Enzyme

-In Bakterien ist die DNA aufgrund ihrer ringförmigen Struktur oft verdrillt – sie bilden eine Superhelix. In den meisten natürlichen DNA-Ringen treten negative Supercoils auf. Positive Supercoils treten meist nur vorübergehend auf, z.B. vor einer Replikationsgabel, wo sie von Topoisomerasen direkt entwunden werden.

-Um Supercoils nachzuweisen, kann man die Elektroporese verwenden, Supercoils laufen schneller durch das Agarose-Gel zum positiven Pol als offene DNA.

-Bei der Zentrifugation kann man das Gewicht der DNA ausnutzen, hier liegt diese dann im Pellet am Boden.

-Durch Färbung mit Ethidiumbromid, einem interkalierenden Farbstoff, kann man DNA anfärben

-Da die DNA und andere Moleküle unterschiedliche Lichtabsorptionswerte haben, kann man auch ein Photometer zum Nachweis von DNA verwenden.

-Es gibt mehrere Enzyme, die die DNA beeinflussen:

Endonucleasen: DNA wird durch Spaltung „innerer“ Phosphodiester-Bindungen abgebaut.

Exonucleasen: DNA wird von den Enden her abgebaut

Restriktionsnucleasen: bauen aufgenommene artfremde DNA bei Bakterien ab

Modifikationsnucleasen: Schützen arteigene DNA vor Abbau durch Methylierung (Markierung) der Basen

Topoisomerasen: lösen Supercoils durch Bindungsbruch in einem Strang (Typ I) oder in beiden Strängen (Typ II)

Kinasen: übertragen Phosphatrest von ATP auf andere Substrate, dort insbesondere auf Hydroxygruppen

-DNA kann durch nick-Translation markiert werden, hierbei werden DNA-Sonden für den Nachweis mit fluoreszierenden Farbstoffen markiert. Gibt man als Substrat radioaktiv (^3H , $\alpha\text{-}^{32}\text{P}$) oder durch ein Makromolekül (Digoxigenin, Biotin, Fluoreszenzmarker) markierte Nukleotide hinzu, werden diese von der DNA-Polymerase I eingebaut und markieren einen langen Bereich des DNA-Stranges. Die Markierungsintensität hängt von der Anzahl der Strangbrüche ab und dies wird durch die Konzentration an hinzugegebener DNase I bestimmt, die die nicks verursacht.

-DNA kann durch die PCR (Polymerase chain reaction) außerhalb von Organismen vervielfältigt werden:

1. Denaturierung: Durch Erhitzen auf höhere Temperatur wird der Doppelstrang durch WBB-Bruch zu Einzelsträngen denaturiert

2. Hybridisierung: Temperatur wird soweit gesenkt, dass sich die hinzugefügten Primer an die DNA anlegen

3. Elongation: Die DNA-Polymerase synthetisiert den fehlenden Strang neu

Diese drei Schritte können mehrere hundert Male wiederholt werden, benutzt man thermostabile DNA-

Polymerasen (Taq-Pol), kann die PCR automatisiert werden, andernfalls muss man immer neue Pol hinzufügen.

-Um eine DNA-Sequenz zu bestimmen, geht man wie folgt vor:

1. Restriktionskartierung: man schneidet die DNA mit Restriktionsnucleasen an bekannten Stellen

2. PCR: Vervielfältigung der geschnittenen Fragmente

3. Southern blot: Gelelektroporese, dann Übertragung auf eine Nitrocellulose-Membran

4. DNA-Fragmente auf der Membran können durch Hybridisierung mit Sonden identifiziert werden

Gentechnik

-Plasmide sind ringförmig geschlossene DNA-Stücke bei Bakterien, sie kommen ein bis zweimal pro Zelle vor. Sie haben eine geringe Größe und zerbrechen daher leicht. Durch Konjugation werden sie ausgetauscht.

-Es gibt mehrere Möglichkeiten, veränderte DNA-Fragmente über Vektoren in das Genom einer Zelle einzuschleusen:

Plasmide: Klonieren über Schnitt per Restriktionsnukleasen und Zusammenfügung der sticky ends (nur kurze Fragmente einbaubar, da längere DNA-Stücke die Plasmid-Vermehrung einschränken)

Lambda-DNA: Einbauen des Fragmentes in die „Arme“ des Lambda-Genoms, Lambda-Phagen übertragen die Erbinformation auf Bakterien und bauen diese in deren Genom ein.

Cosmide: Plasmide mit cos-Sequenzen von der Lambda-DNA, die geschnitten werden können und in diese die Fremd-DNA eingesetzt wird. Anschließend Verpackung in Phagenhüllen und Infektion.

YAC: Mit Restriktionsendonukleasen wird der Vektor zerschnitten und das YAC (Künstliches Hefechromosom) eingebaut. Allerdings sind sie nicht stabil und es kann zu Rekombinationen kommen.

PAC: Einfügung eines bakteriellen Chromosoms in einen Vektor, das Informationen enthält, die die Replikation der Bakterien über viele Generationen sicherstellen.

T-DNA: Manipulation von Pflanzen-DNA über Manipulation eines Ti-Plasmids, das übertragen wird. Diese im Ti-Plasmid enthaltene DNA hat an beiden Enden bestimmte genetische Signale, die für die Übertragung auf Pflanzen zwingend erforderlich sind. Zwischen diese Enden kann man eigene DNA-Fragmente einbauen.

-Um eine genomische Bank zu erstellen, muss man die Schnittstellen von Restriktionsnucleasen Stück für Stück untersuchen.

-Um eine cDNA-Bank zu erstellen, wendet man reverse Transkriptase auf die mRNA an. Dadurch fallen die in den Introns enthaltenen Informationen weg und die relevante Geninformation wird dargestellt.

-Screening ist eine Möglichkeit, gewünschte Klone zu selektieren. Hierbei verwendet man cDNA als Sonde zum Durchsuchen der Genbibliothek, denn sie hybridisiert mit der komplementären DNA.

Transkription

-RNA hat im Gegensatz zu DNA keine Desoxyribose als Zucker, sondern einfache Ribose. Auch ist anstelle von der Base Thymin Uracil vorhanden, was komplementär zu Adenin ist.

-Unter der Transkription versteht man die Synthese von RNA, ausgehend von der DNA:

Die RNA-Polymerase bindet dazu an den Promotor (Stelle vor dem Genanfang) der DNA, die transkribiert werden soll. Der Promotor wird meist Pribnow-Box oder TATA-Box genannt. Anschließend wird der Doppelstrang um den Startpunkt der Transkription herum entwunden, wodurch die Polymerase einen größeren Bereich umschließen kann, es bildet sich im Enzym eine Rinne, durch die die DNA gleitet. Gibt man ATP oder seltener, GTP hinzu, so beginnt die Transkription, RNA wird gebildet. Sobald die Polymerase den Promotor verlassen hat, kann sich wieder eine neue Polymerase binden, damit die Transkription schnell mehrfach ablaufen kann. Die Elongation besteht aus folgenden Schritten:

Bindung des „passenden“ Nucleotid-Triphosphates

Ersatz des Pyrophosphates im NTP durch das 3'-OH-Ende der RNA

Freisetzen des Pyrophosphates

Bewegung des Enzyms relativ zum DNA-Matrizenstrang

Die Ableserichtung der DNA verläuft vom 3'-Ende zum 5'-Ende, die Synthese der komplementären RNA dementsprechend von 5' nach 3'. Die Öffnung der DNA-Doppelhelix erfolgt nur in einem kurzen Bereich (Transkriptionsblase), so dass der bereits synthetisierte Teil der mRNA aus dieser Öffnung heraushängt und zwar mit dem 5'-Ende der mRNA voran.

Die Termination erfolgt Rho-unabhängig oder Rho-abhängig. Bei ersterer wird die Transkription durch eine Terminationssequenz beendet. Bei zweiterer wird auf eine Verzögerung der RNA-Polymerase gewartet, dann bindet sich nämlich das Rho-Protein an das frisch transkribierte Stück und terminiert dadurch den Vorgang.

-prokaryontische mRNA besitzt im Gegensatz zu eukaryontischer keine Introns → keine Spleißung. Auch bekommt die eukaryontische mRNA noch ein CAP-Protein zum Ausschleusen aus dem Nucleus und einen Poly-A Schwanz zum Schutz gegen Abbau.

-es gibt verschiedene RNA-Typen, das sind:

mRNA: messenger RNA → bringt die Geninformationen zu den Ribosomen zur Translation → Proteinsynthese

tRNA: transfer RNA → Hilfsmolekül bei der Proteinbiosynthese

rRNA: ribosomale RNA → Bestandteil des Ribosoms, Stoffwechselfunktion

hnRNA = prä-mRNA, ungepleißte RNA von Eukaryonten

snRNA: small nuclear RNA → Hilfsmittel beim Spleißen im Spliceosom

snoRNA: im Nucleolus vorhanden

siRNA: small interference RNA, entsteht bei einem Signalweg der Zelle (RNAi = RNA Interference)

micro-RNA: dient der Regulation zellulärer Prozesse wie z.B. Proliferation und Zelltod.

Antisense-RNA: Regulation der Genexpression.

-Introns (Intervening region) sind die nichtcodierenden Abschnitte der DNA innerhalb eines Gens, die benachbarte Exons trennen. Introns werden transkribiert, aber dann aus der prä-mRNA herausgespleißt, bevor diese zur Translation aus dem Zellkern herausgeschleust wird. Die in der reifen mRNA verbleibenden Teile des Gens nennt man Exons. Die Aufteilung des Gens in Introns und Exons gehören zu den Hauptcharakteristika von eukaryontischen Zellen.

-Das Splicen der prä-mRNA findet in den meisten Fällen in einem großen Komplex aus vier snRNPs mit fünf verschiedenen U-snRNA's, dem so genannten Spliceosom, welches die Reaktion in zwei aufeinanderfolgenden Transesterifikationen katalysiert. Der Entfernung der Introns und der Verknüpfung der Exons folgt ein Zerfall des Spliceosoms in seine snRNP-Bestandteile, die sich dann wieder beim nächsten Spleißvorgang treffen.

-in einer höheren Zelle werden Transkription und Translation durch den Zellkern abgetrennt, die Transkription erfolgt in diesem, während die Translation außerhalb im Cytoplasma oder im ER stattfindet.

Regulation der Transkription in Prokaryonten

-Ein Operon ist eine bei Bakterien vorkommende Gruppe von Genen die einen gemeinsamen Promotor besitzen und daher immer zusammen transkribiert werden. Alle Gene eines Operons werden zusammen reguliert. Unter negativer Regulation versteht man die Repression des Operators durch einen Repressor, unter positiver Regulation versteht man meist die Bindung eines CAP-Proteins vor dem Promotor als Transkriptionsfaktor.

-Das lac-Operon besteht aus 5 Teilen:

I (Repressor-Gen, stellt den Repressor her) Bei Mutation wird das Operon nicht reprimiert.

P (Promotor, Transkriptionsstartpunkt) Bei Mutation wird das Operon nie exprimiert.

O (Operator, Ort der Regulation durch Repressor) Bei Mutation kann der Repressor nicht binden → Exprimierung

Z (β -Galaktoidase, spaltet Lactose in Galaktose und Glucose)

Y (Permease, erleichtert Lactoseaufnahme in Zelle)

A (Transacetylase, katalysiert die Anheftung von Acetylgruppen)

Da die Zersetzung des Repressors zur Exprimierung nicht ausreicht, gibt es noch das CAP-Protein als positiver Regulator. Bei Vorhandensein von cAMP in der Zelle (Katabolit-Repression der Lactose-Verwertung = wenn ausschließlich Lactose vorhanden ist, wird die Adenylat-Cyclase aktiviert, die die Umsetzung von ATP in cAMP katalysiert), wird das CAP-Protein aktiviert und kann daher vor den Promotor binden.

-Beim Tryptophan-Operon arbeitet das Tryptophan selbst als regulierender Mechanismus. Es bindet nämlich als Attenuator an den Repressor um diesen zu aktivieren. So wird nur bei Mangel an Tryptophan der Repressor inaktiv und das Operon kann transkribiert werden, um neues Tryptophan herzustellen.

-Es gibt noch weitere Operons, an denen Attenuation vorkommt, beispielsweise das Phenylalanin-Operon oder die Operons für Histidin, Leucin und Threonin.

-Beim Bakteriophagen Lambda gibt es einen lysogenen Zyklus, in dem die Zelle sich noch vermehrt, wenn die Bakterien die Fremd-DNA im Gen enthalten und die Lyse erst nach ausreichender Vermehrung erfolgt und den lytischen Zyklus, wobei die Gene direkt nach Einschleusung in das Bakterium exprimiert werden → Lyse
Diese Zustände werden von zwei Genregulationsproteinen reguliert: cI (im lysogenen Zustand exprimiert) und cro (im lytischen Zustand exprimiert). Sie reprimieren gegenseitig die Expression des jeweils anderen Gens.

Durch UV-Beleuchtung wird cI zerstört, somit cro exprimiert und somit der lytische Zyklus eingeführt.

-Unter kooperativer Bindung versteht man, dass die Bindung eines Stoffes die Bindung weiterer Stoffe beeinflusst, sie erschwert (Repressor) oder sie erleichtert (Aktivator).

Regulation der Transkription in Eukaryonten

-Um Transkriptionsstartpunkte in Eukaryonten zu kartieren, gibt es 2 wesentliche Methoden:

S1-Nuclease-Methode (Berk-und-Sharp-Methode) : Hybridisierung von mit Restriktionsnucleasen geschnittener DNA mit mRNA. Die überstehenden Enden werden durch die einzelstrangspezifische S1-Nuclease geschnitten und die Länge der Fragmente im Sequenzierungsgel bestimmt. Die Länge zeigt den Abstand vom Transkriptionsstart von der bekannten Restriktionsschnittstelle an.

Primer-Extension-Methode: Eine Oligonucleotid-Sequenz mit einem Code, der der DNA entspricht, wird mit der passenden mRNA hybridisiert und dient dann als Primer für die reverse Transkriptase. Die Länge der entstehenden cDNA entspricht dem Abstand von der Sequenz bis zum Transkriptionsstart.

-Es gibt mehrere eukaryontische Transkriptionsfaktoren. Diese sind:

TFIID: Erkennen der TATA-Box, Bindung von TATA-Bindeprotein-assoziierten Faktoren

TFIIA: Stabilisierung der TFIID-Bindung, Entfernen/Neutralisieren von negativen Faktoren

TFIIB: Bindung der RNA-Polymerase II

TFIIF: Heranführen der RNA-Polymerase II an den Promotor

TFIIE: Heranführen von TFIIH, Regulation der enzymatischen Aktivitäten von TFIIH

TFIIH: DNA-Helikase (Entwindung der Promotor-Sequenz), Protein-Kinase (Phosphorylierung der COOH-Domäne der RNA-Polymerase II)

-Ein Promotor eines eukaryontischen Gens besteht aus mehreren Grundelementen:

Das Inr-Protein am Transkriptionsstart, immer in Haushaltsgenen enthalten, nicht immer in normalen.

Die TATA-Box am Nucleotid -30 stromaufwärts um den Transkriptionsstart bei proteinkodierenden Genen, in Haushaltsgenen nicht vorhanden.

DPE (down stream promoter element), 3'-wärts vom Transkriptionsstart, in vielen Genen vorhanden

GC-Boxen kommen an verschiedenen Orten in vielen Promotoren vor

-Unter einem Enhancer versteht man ein Protein, das an DNA bindet und die Transkription unterstützen oder auch auslösen kann.

-rRNA-Gene sind anders als normale Gene angeordnet: zwischen zwei Genen ist ein Stück Trenn-DNA, der sogenannte Spacer, die unterschiedlich lang sein können und nicht mit transkribiert werden. Die Promotoren für diese Gene bestehen aus einem proximalen Promotor-Element (core promoter), das den Startpunkt der Transkription einschließt und einem Stromaufwärtselement (UCE).

-Der Nucleolus, der Hauptort der Ribosomen-Produktion, hat eine besonders hohe Konzentration an Transkriptionsfaktoren, viele Enhancer im Spacer und enthält eine spezialisierte rRNA-Polymerase.

-RNA-Polymerase III transkribiert die folgenden Gene: 5S-rRNA: Bestandteil der großen Ribosomen-Untereinheiten, alle tRNA-Arten, 7SL-RNA, Bestandteil des Proteintransports durch Membranen und U6-snRNA, Bestandteil des Spliceosoms.

-Der Transkriptionsfaktor Gal4 aktiviert in Gegenwart von Glucose die Transkription einiger Gene in der Hefe. Gal4 hat eine DNA-Bindungsdomäne(DBD) und eine Transaktivierungsdomäne(TAD). Eine Bindungsstelle für dieses Protein ist vor dem β -Galactose-Gen. Ein Plasmid wird mit DBD zusammen mit den unbekanntenen cDNA-Sequenzen, das andere mit TAD und mit Proteinen, die mit den Sequenzen wechselwirken, kloniert. Bringt man diese Plasmide in Hefezellen zusammen und sie passen zusammen, so resultiert eine Blaufärbung aus dem Zusammenkommen von DBD und TAD.

Translation

-tRNA hat mehrere typische Merkmale: Am Akzeptor-Arm 3' Ende überragt das 5' Ende am aneinandergebundenen Ende um 4 Basen, woran die AS gebunden wird. Der Anticodon-Arm liegt gegenüber dem Akzeptor-Arm und besteht aus 7 Nucleotiden, wo im Zentrum das Anticodon liegt. Links liegt der variabel große D-Arm, der Dihydrouridin enthält. Rechts liegt der T-Arm, der eine Folge von Thymin, Pseudouridin und Cytosin in seiner 7 Nucleotid-Schleife enthält. Unterhalb des T-Arms befindet sich noch eine variable Schleife, deren Länge von tRNA-Art zu Art unterschiedlich ist.

-Die Beladung von tRNA's mit Aminosäuren wird durch die Enzymklasse Aminoacyl-tRNA-Synthetasen durchgeführt, es gibt für jede Aminosäure eine. ATP und AS lagern sich zusammen mit der tRNA an das Enzym und unter ATPspaltung entsteht ein Aminoacyl-AMP, was darauf mit der tRNA reagiert und es entsteht ein Aminoacyl-Ester mit einer der beiden Hydroxgruppen in der Ribose des an der tRNA endständigen Adenosins.

-Ribosomen bestehen aus 2 Untereinheiten, der kleinen Untereinheit (Aufeinandertreffen von mRNA und tRNA) und der großen Untereinheit (Vermittlung der AS-Verknüpfung). Bei Prokaryonten fügen sich die 50s und 30s-Untereinheiten zum 70s-Ribosom zusammen, bei den Eukaryonten 60s und 40s zu 80s. Ein Ribosom enthält 60% RNA und 40% Protein.

-Die Translation (Proteinbiosynthese) wird durch den Initiationskomplex aus gebundener mRNA und gebundener fMet-tRNA intiiert. Die Elongation erfolgt wie folgt: (Abfolge der Bindungsstellen im Ribosom: E-P-A)
Vorhandensein von Aminoacyl-tRNA im A-Ort und von Peptidyl-tRNA im P-Ort
Peptidyl-Transferase-Reaktion: Peptidbindung zwischen den AS wird ausgebildet, Peptidyl-tRNA ist am A-Ort, entladene RNA ist am E-Ort.

Translokation: Bewegung des Ribosoms um ein Triplet, die Ausgangssituation ist wiederhergestellt.

Die Termination wird durch eines von den 3 Stopcodons UAG, UAA oder UGA intiiert, das Ribosom spaltet sich wieder in seine Untereinheiten auf, die tRNA und mRNA wie die Proteine werden freigelassen.

-Die Richtung der Nucleinsäuren/Proteine sind wie folgt:

3-----5 bei der DNA

5-----3 bei der mRNA /Transkription)

(5)COOH-----NH₃(3) bei dem Protein (Translation)

Der genetische Code

-Der Tripletcode für Proteine wurde durch ein Experiment bewiesen, bei dem eine künstliche mRNA mit dem Extrakt aus Bakterien mit Ribosomen und tRNAs sowie alle möglichen Aminosäuren zusammengefügt wurde. Das Experiment wurde zur Bestimmung des Codes für ein bestimmtes Protein erweitert, indem man alle tRNA radioaktiv markierte, sie mit einer bekannten Sequenz kombinieren ließ und mit einem Filter alle beladenen tRNA's, die größer sind als die unbeladenen, herausfilterte und auf Radioaktivität testete.

-Als Grund, dass synonyme Codons vorkommen (also mehrere Codons, die für eine AS kodieren), wurde die wobble-Hypothese erfunden: Codon und Anticodon sind antiparallel gebunden, die Basen an der dritten Stelle des Codons können miteinander eine wobble-Basenpaarung eingehen. So kann U mit A oder G paaren, G mit U oder C und I(Inosin) mit U, C oder A.

-Bei Mitochondrien werden die Gene symmetrisch transkribiert, beide DNA-Stränge werden transkribiert. mtRNA (mitochondriale RNA) hat keine 7-Methylguanosin-Kappe und auch nicht die 5'-Nichtkodierungssequenz, sondern beginnen mit dem AUG-Start-Codon. Das Stop-Codon UAA entsteht oft erst durch Anheftung des Poly-A-Schwanzes. Mitochondrien haben 22 tRNA-Arten und müssen 60 Codons translatieren. Hier ist der wobble viel stärker ausgeprägt, U kann z.B. mit allen anderen Basen wechselwirken.

-Verschiedene Genome enthalten synonyme Codons in unterschiedlichem Ausmaß.

Regulation von Proteinaktivitäten

-Die Sekundärstruktur von Proteinen faltet sich in vivo und in vitro unterschiedlich: in vitro wird die Proteinfaltung allein durch die Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Aminosäuren hervorgerufen, wobei es aber im Normalfall viele Möglichkeiten gibt, so dass die angestrebte Faltung selten erreicht wird. Dazu gibt es in vivo hingegen die Chaperone als spezielle Proteinfaltungs-Proteinkomplexe, die mit Hilfe von ATP die Ausgangszustände und Übergangszustände stabilisiert, indem sie mit den AS wechselwirken.

-häufig vorkommende Faltungsmuster von Proteinen sind die alpha-Helix wie das beta-Faltblatt.

-Unter einer Proteindomäne versteht man die kleinste Protein-Einheit, die eine definierte und unabhängig gefaltete Struktur haben. Dadurch entstehen eigene Reaktionen, die die Funktion des Proteins ausmachen.

-Kompartimente in einer Zelle stellen wichtige abgetrennte, membranumschlossene Räume dar, die zum Teil durch die Endosymbiontentheorie entstanden sind und durch das Cytoskelett in Lage und Bewegung gesteuert werden. Bei Prokaryonten werden die Proteine über die Membran in den periplasmatischen Raum transportiert. Dieser liegt vor der äußeren Zellwand.

-Proteine werden in der Zelle über Vesikel (die durch den Golgi-Apparat gelenkt werden) transportiert. In ihre Bestimmungsorganellen gelangen sie durch eine proteinspezifische Signalsequenz. Durch die Kernporen können die Proteine per Carrier im gefalteten Zustand gelangen. Im entfaltenen Zustand durch Hilfe von Chaperonen können sie in Mitochondrien, Chloroplasten oder ins ER gelangen.

-Proteine können während der Translokation im ER am Asparagin glykosyliert werden (Anheftung von Zucker)

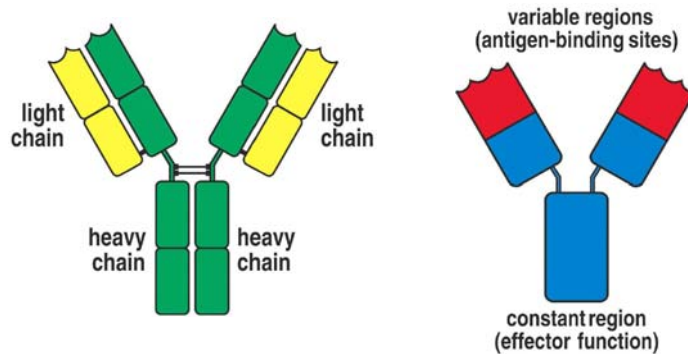
-Das Lysosom ist ein Kompartiment im sauren Milieu und vielen Proteasen und dient der Denaturierung von Proteinen. Die Proteine gelangen durch Phagozytose (Aufnahme eines großen Fremdkörpers), Endocytose (Aufnahme von kleinen Fremdkörpern und Bildung eines Endosoms) und Autophagozytose (Umschließen eines Mitochondriums durch das ER) in das Lysosom. Cytosolische Proteine werden nach Ubiquitin-Markierung im Proteasom, einer großen, zylindrischen, multikatalytischen Protease abgebaut.

Immunologie

-Die Grundlagen des Immunsystems sind die B-Lymphozyten, die sich nach Aktivierung durch das entsprechende Antigen in Antikörper-sezernierende Plasmazellen teilen und die T-Lymphocyten, die phagozytierende Zellen oder Zellen die andere Zellen des Immunsystems aktivieren, produzieren.

-Die primären lymphoiden Organe sind das Knochenmark, wo alle Lymphocyten entstehen, aber nur die B-Lymphocyten dort reifen, und der Thymus, wo T-Lymphocyten heranreifen. Die sekundären lymphoiden Organe sind Milz, Lymphknoten, Mandeln, Peyersche Plaques. Dort werden die Lymphocyten durch das Antigen aktiviert.

-Antikörper sind wie folgt aufgebaut:



-Die Immunglobulingene sind auf drei nicht miteinander verbundene Genkomplexe verteilt: einer für die heavy chains und zwei für die light chains (λ oder κ -light chain, antikörperspezifisch)

Beim Embryo sind die Gene in Segmente zu unterteilen, die Produkte mit unterschiedlicher funktioneller Bedeutung kodieren:

Variabilität (V), Verschiedenartigkeit (D), Verbindungsfunktion (J) und konstante (C) Regionen.

Jede dieser Regionen besteht aus mehreren einzelnen Segmenten.

Beim reifen Lymphozyt sind die Gene der heavy chains durch Rekombination rearrangiert: eines der V-Segmente rekombiniert mit jeweils einem D- und J-Segment und mit der benachbarten C-Region.

In der mRNA werden Bereiche zwischen der C-Sequenz und den anderen Sequenzen gespleißt, die Festlegung des Ig-Typs hängt davon ab, welche der Regionen in der C-Sequenz gespleißt wurden.

-Die Vielfalt der Immunglobuline ist durch die wechselnde Verbindung der V Segmente mit jeweils anderen D- und J-Segmenten gewährleistet. Auch ist bei dem genetischen Rearrangement ein Enzym vorhanden, das eine variable Zahl von Basen in die DNA der D-Region.

-Es gibt verschiedene Antikörperklassen, das sind die folgenden:

IgM (Pentamer), diagnostische Zwecke, erste Antikörper im Blut

IgG (Monomer), aktiviert das Komplementsystem und übertragen Immunität auf den Fötus

IgA (Dimer), verhindern Anheftung von Bakterien und Viren an der Oberfläche von Epithelien

IgD (Monomer), Antigen-Rezeptor auf B-Zellen, steuern die Differenzierung in Plasma- und Gedächtniszellen

IgE (Monomer), binden an Mastzellen und Basophile, diese bilden dann entzündungsfördernde Stoffe

Unter einem Klassenwechsel des konstanten Teils der Antikörper versteht man einen die Funktion (z.B. als Membranrezeptor) determinierenden Prozess.

-Unter einem Antigen (=ANTIKörper GENerierend) versteht man eine Substanz, die die Immunantwort auslöst. Die Antikörper identifizieren das Antigen über ein Epitop auf dessen Oberfläche.

-Monoklonale Antikörper werden von einer auf einen einzigen B-Lymphocyten zurückgehenden Zelllinie (Zellklon) produziert und richten sich gegen ein einzelnes Epitop. Die Herstellung von ihnen verläuft wie folgt:

1. Immunisierung einer Maus mit dem gewünschten Antigen

2. Immunsystem bildet B-Lymphocyten, die sich in der Milz anreichern, diese werden entnommen und isoliert

3. B-Lymphocyten werden mit Plasmazellen aus einem Myelom fusioniert → Hybridomzellen entstehen. Sie können einen bestimmten Antikörper (B-Lymph) produzieren und sich in vitro unbegrenzt vermehren (Myelom)

-Unter dem Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) versteht man eine Genfamilie, die die Proteine kodieren, die körpereigene Zellen von Fremdzellen unterscheiden. Wird ein Transplantat abgestoßen, so liegt das daran, dass der Komplex die Histokompatibilität (Gewebeverträglichkeit) des Transplantats nicht als positiv erklärt hat.

Virologie

- Es gibt verschiedene Virusgruppen, die unterschiedliche Vermehrungsmechanismen haben:
 - zytrophagen: Infektion hat den Tod des Wirtes durch Apoptose oder Immuneliminierung zur Folge
 - chronisch persistenter: Wirtszelle überlebt, produziert aber immer wieder kleine Virenmengen. Dabei muss der Virus allerdings durch hohe Mutationsraten der Immunabwehr entkommen. (Hepatitis, HIV)
 - latent: Zelle bleibt am Leben, der Virus wird nur exprimiert, wenn das Immunsystem geschwächt ist (Herpes)
 - transformierende: Nachkommenproduktion unterbrochen
- HIV verursacht dadurch AIDS, dass es sich in T- und B-Lymphozyten einnistet und diese zerstört.

Entwicklungsbiologie

- Unter einem Morphogen versteht man eine Substanz, die die Entwicklung von einer Struktur oder Form eines Organismus stimuliert. Beispiele dafür sind das bicoid-Protein, die ZZ-Kommunikation und die HOX-Gene.
- Die Achsendetermination in Drosophila wird durch die Konzentration des bicoid-Proteins in den verschiedenen Körperbereichen reguliert, dieser ist ein Transkriptionsfaktor, der die Zelldifferenzierung steuert. An der Stelle mit der höchsten Bicoid-Konzentration entsteht der Kopf der Fliege.
- Der Unterschied in der frühen Entwicklung zwischen Amphibien, Menschen und Drosophila ist der Unterschied der anterior/posterior-Determinanten. Bei Wirbeltieren stülpt sich das Entoderm am hinteren Körperende ein.
- Die 3 Keimblätter sind Ektoderm (entwickelt sich zur Körperbedeckung), dem Entoderm (entwickelt sich zum Verdauungsapparat) und dem Mesoderm (entwickelt sich zu Knochen, Blutgefäßen, Exkretionsorganen).
- Die Zell-Zell-Kommunikation ist entwicklungsbiologisch bedeutend, weil sie festlegen, welche Zellen proliferieren und welche der Apoptose unterzogen werden. Haut zwischen den Fingern wird z.B. zurückgebildet.
- Es gilt die allgemeine Regel, daß in Nachbarschaft einer Anlage (z.B. eines Organs) keine zweite gleichartige Anlage entstehen kann, da es eine laterale Inhibition gibt, bei der dem Aktivator eine doppelte Funktion zufällt: einmal seine eigene Aktivität (oder Synthese) zu steigern (= positive Rückkopplung), zum anderen die Aktivität (oder Synthese) eines Inhibitors zu forcieren. Dem Inhibitor wird nur die Aufgabe zugeschrieben, die Aktivität des Aktivators zu unterdrücken; zudem sollte er sich in einem Gewebe schneller als der Aktivator ausbreiten können.
- Unter Neurulation versteht man die Bildung des Neuralrohrs als Anlage des späteren Zentralnervensystems beim Embryo, unter Neurogenese die Individualentwicklung des Nervensystems.
- Das besondere Merkmal der HOX-Gene ist, dass sie die anterior-posterior-Entwicklung reflektieren, die 3'-wärts gelegenen Gene codieren für die anterioren, die 5'-wärts gelegenen Gene die posterioren Semente.
- Mutationen eines homöotischen Gens in einer Pflanze haben nie Transformation eines einzelnen Blütenkreises sondern immer zwei benachbarter Wirtel zur Folge. Entweder sind Sepalen/Petalen, Petalen/Stamen, Stamen/Karpelle transformiert. Diese Beobachtung hat zum ABC-Modell geführt. Bei diesem Modell gilt:
 - Sepalen : alleinige Expression der A-Funktion
 - Petalen: Koexpression von A und B
 - Stamen: Koexpression von B und C
 - Karpellen: alleinige Expression der C-Funktion
- Die A- und C- Funktionen kontrollieren sich wechselseitig, fällt eine aus, so wird die andere größer.

Modellorganismen

- Die gegenwärtig wichtigsten Modellorganismen in der Genetik sind:
 - Bakteriophage Lambda – Nutzung als Vektor für die Genetik, Genomgröße: 5×10^4 Basenpaare
 - Escherichia coli – Genom ist komplett identifiziert, hohe Vermehrungsrate, Genomgröße: $4,6 \times 10^6$ Basenpaare
 - Saccharomyces cerevisiae – anaerobes Wachstum, einfache Transformation, effiziente homolog. Rekombination, Genomgröße: 2×10^7 Basenpaare. Haben zwei Einzelmutationen den gleichen Phänotyp wie die Doppelmutante, so sind sie epistatisch zueinander, Mutationen, die synthetische Letalität hervorrufen, sind nicht epistatisch. Durch die homologe Rekombination können Gene deletiert werden.
 - Caenorhabditis elegans – determinierte Anzahl von 1090 Körperzellen– programmierte Apoptose von 131 Zellen, Genomgröße: 8×10^7 Basenpaare. Er ist ein selbstbefruchtender Hermaphrodit, dadurch wird die Homozygotisierung rezessiver Allele ermöglicht. Das männliche „Geschlecht“ kommt in 0,05% der Laborpopulation vor. Der Körper ist durchsichtig, Zellen können gezielt mit dem Laser getötet werden.
 - Drosophila melanogaster – Manipulierbares bicoid-Protein als anterior-posterior Achsenausbildung, andere Proteine die die Körperteilpositionen beeinflussen. Genomgröße: 2×10^8 Basenpaare. Der Lebenszyklus erfolgt über die Larvalentwicklung. In der frühen Embryophase entsteht nach Fusion der Zellkerne des Eis und der Spermie ein Syncytium, dann bewegen sich die Zellkerne im Embryo an die Peripherie der Zelle, worauf ein syncytiales Blastoderm und schließlich ein zelluläres Blastoderm entsteht. Mit P-Elementen lassen sich Gene aktivieren und Transformationen vermitteln. Mit Gal4 kann man die Expression von Transgenen regulieren.

Mus musculus – hohe Homologie des Genoms zum Menschen – Modell für menschliche Erbkrankheiten

Die Herstellung von knock-out-Mäusen gelingt wie folgt:

ES-Zellen, die heterozygot für die Gendelektion und homozygot für den Marker (z.B. Fellfarbe) sind, werden in Blastocyten injiziert und in eine pseudoschwangere Maus transferiert. Anhand der Fellfarbe werden dann die Chimären selektiert und mit weißen Mäusen rekombiniert, um mutierte ES-Zellen in der Keimbahn zu isolieren. Zelltypspezifische Geninaktivierung funktioniert wie folgt: Einführung von cre-LoxP-Sequenzen in zu deletierende Regionen → Kreuzung mit einer cre-Maus (cre-Rekombinase wird durch einen zelltypspezifischen Promotor kontrolliert) → Expression der cre-Rekombinase führt zu einer Gendelektion.

Homo sapiens - Genomgröße: 3×10^9 Basenpaare

-pluripotente Stammzellen sind embryonale Stammzellen, die sich zu jeder Keimblatzzelle umwandeln können
-omnipotente Stammzellen sind befruchtete Eizellen und können alles werden.

-Unter RNA-Interferenz versteht man die gezielte Geninaktivierung in Eukaryonten durch siRNA's. Das dient der Virusabwehr und der Genregulation.

Medizinische Genetik

-Die menschliche Karyotypanalyse erfolgt nach dem nachfolgenden Prinzip:

Anregung von der Zellteilung von Lymphocyten durch pflanzliche Glykoproteine

Stoppen der Zellen in der Metaphase durch Colcemid (colchicinähnlich)

Ausbreitung der Zellen in einem hypotonen Medium und Fixierung.

Färbung der Zellen mit Farbstoffen wie Giemsa

Fotografie der Chromosomen

Aufreihung der Bilder der Chromosomen nach dem Centromer-Index (Länge des Chromosoms/-armlänge)

Die schematische Darstellung der Chromosomen bezeichnet man als Karyotyp.

-Unter dem Begriff Non-disjunction versteht man das spontane Nichtauseinanderweichen von zwei homologen Chromosomen bzw. deren Chromatiden bei der meiotischen oder mitotischen Zellteilung in der Anaphase. Die Non-disjunctions sind die häufigste Ursache für numerische Chromosomenaberrationen, den Trisomien oder Monosomien.

-Unter einer Translokation versteht man eine Ortsveränderung von Chromosomen oder von Chromosomenabschnitten, die innerhalb eines Chromosomenbestandes von ihrer ursprünglichen Position transloziert (= verlagert, versetzt) worden sind.

-Polyploidie bedeutet, dass mehr als zwei Chromosomensätze in einer Zelle vorhanden sind; Aneuploidie hingegen bedeutet, dass einzelne Chromosomen mehrfach vorhanden sind oder fehlen. (Trisomie, Monosomie)

-Präimplantationsdiagnostik fasst zytologische und gentechnische Untersuchungen zusammen, die dazu dienen, bei einem durch In-vitro-Fertilisation erzeugten Embryo bestimmte Erbkrankheiten und Chromosomenbesonderheiten zu erkennen, um danach zu entscheiden, ob der Embryo in die Gebärmutter eingepflanzt werden soll oder nicht. Im Gegensatz dazu steht die Pränataldiagnostik, bei der das ungeborene Kind während der Schwangerschaft untersucht wird.

-Es gibt mehrere Vererbungsmechanismen von Krankheiten:

autosomal dominant: Krankheit trifft bei dominant homo- und heterozygoten Individuen auf. z.B. Chorea Hunt.

autosomal rezessiv: Krankheit tritt bei rezessiv homozygoten Individuen auf. Z.B. Sichelzellanämie, XP, CF

X-chromosomal: Krankheit tritt bei jedem heterozygoten Mann und homozygoten Frau auf. z.B. Bluterkrankheit.

-Penetranz ist die Durchschlagskraft mit der ein Merkmal bei Lebewesen im Einzelfall tatsächlich wirksam wird, darauf, dass nur ein bestimmter Anteil der Genotypen den Phänotyp ausbildet. Als Expressivität bezeichnet man die abgestufte Ausprägung eines phänotypischen Merkmals (z. B. in einer Geschwisterreihe). Umweltfaktoren während der Entwicklung haben einen Einfluss auf den Ausprägungsgrad des Merkmals.

-Bei der somatischen Gen-Therapie überträgt man ein Gen in eine Körperzelle, in der dieses Gen defekt ist oder fehlt. Das hinzugefügte Gen soll die Aufgabe des schadhafte Gens übernehmen, so dass die Zelle das fehlende Protein produzieren kann. Auf diese Weise werden ausschließlich Körperzellen verändert. Die Gene werden nicht weitervererbt.

- Bei der Keimbahntherapie würde mit Hilfe der Mikroinjektion das intakte Gen in die befruchtete, isolierte Eizelle eingebracht. Die so veränderte befruchtete Eizelle pflanzt man anschließend der Mutter wieder ein. Der Nachkomme trüge dann in allen seinen Zellen das veränderte Gen und wäre eventuell geheilt. Die Keimbahntherapie betrifft jedoch nicht nur den entstehenden Organismus, sondern ebenfalls seine Nachkommen. Sie ist in Deutschland verboten.