

Proteinbiosynthese

Replikation

Genetik  
genetik

Regulation

Genetik

Mitose/Merose

Vererbung von Merkmalen

Mutationen

Mendel'sche Regel

Epigenetik

Stammzelluntersuchung

# Glossar

**haploid** = einfacher Chromosomensatz

**diploid** = zweifacher Chromosomensatz

**aneuploid** = Zelle mit einer von der Norm abweichenden Zusatzzahl an Chromosomen

**transgene Lebewesen** = Lebewesen, bei denen das Erbgut zielgerichtet verändert wurde

# BIOLOGIE

## Biologie

### Genetik

#### Chromosomen, Zellteilung & Entwicklung

- im 19. Jh. von dt. Anatomen WALDEYER mit Hilfe des Lichtmikroskops entdeckt
- während Zellteilung in den Zellkernen erkennbar, wenn man sie einfärbte
- beim Menschen: insges. 46 Chromosome  $\rightarrow$   $22 \times 2$  Autosome + 2 Gonosome (XX/XY)
- je zwei Chro. sind einander ähnlich (Homolog) und bilden ein Paar
  - Homolog = gleiche Gene, unterschiedliche Allele
- Karyogramme - Abbildungen von Chromosomen - können im frühen Metaphasenstadium unter Verwendung des Zellgiftes Colchicin erstellt werden
- Chromatiden = zwei Hälften eines Chromosoms, die eng aneinander liegen.
- die Chromatiden sind am Centromer miteinander verbunden. Das Centromer teilt die Chromatiden in je zwei meistens unterschiedlich langearme, wodurch die Chromosomen in diesem Stadium meistens x-ähnlich aussehen
- Karyogramme entstehen dadurch, dass die Chromosame einer Körperzelle mit Hilfe eines Lichtmikroskops nach Größe, Form und Lage des Centromeres sortiert
- non-disjunction = fehlerhafte Trennung der homologen Chromosomen in der Meiose I oder der Schwesternchromatiden / der Chromosomen desselben Chromosoms in der Meiose II

### Pränataldiagnostik

#### nicht invasive Pränataldiagnostik

- greift nicht in den Körper der Mutter oder des Kindes ein
- z.B. Ultraschall, Nackenspannung, Bluttest)

#### invasive Pränataldiagnostik

- greift in den Körper der Mutter und des Kindes ein
- z.B. Chorionzottenbiopsie, Fruchtwasseruntersuchung, Nabelschnurpunktion

# MEIOSE

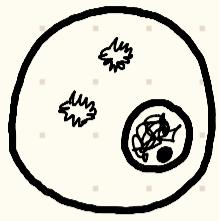
Chrom. = Chromosomen  
Chromat. = Chromatiden

## Interphase I

### DUPLIKATION

- gesamtes Erbgut wird dupliziert
- Spindelapparat wird dupl.
- DNA liegt dupl. im Zellkern vor / liegt **diploid** vor

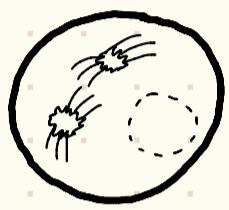
vor der Meiose



## Prophase I zu 4c VORBEREITUNG

↳ Chromosom. satz C → Chromatid

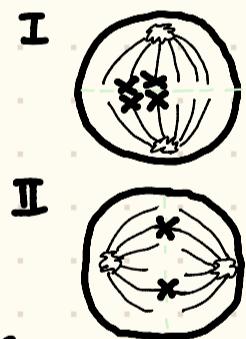
- Beginn d. Ausbildung des Spindelapp.
  - Mikrotubuli binden an Kinetochoren
  - Kernhülle löst sich auf
  - Erbinformation zu Chrom. komprimiert
  - Autosome bewegen sich zu entgegenges. Polen
- ⇒ Paarung der homologen Chromosomen!



→ später: Synapsis, Chiasmata, crossing-over

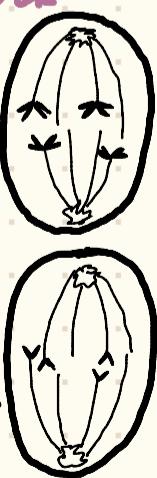
## Metaphase I zu 4c ANORDNUNG

- Kernhülle wurde abgebaut
- Spindelf. app. befindet sich geg. an den Polen
- Chromosomen auf Äquatorialebene angeordnet
- Spf. bindet an Centromere der Chromosomen



## Anaphase I zu 4c CHROM. AUSEINANDER GEZOGEN

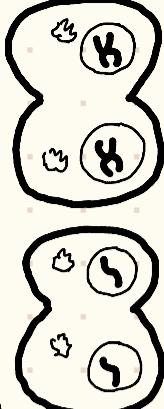
- Spf., an denen Chrom. / Chroma angehängt sind, verkürzen sich, indem Mikrotubuli abgebaut werden
- Sie bewegen sich zu den Polen hin
- es entsteht Spannung in der Zelle und sie dehnt sich (nur tierische Zelle ohne Nachbar) → Zelle wird länglicher
- homologe Chromosomenpaare werden durch Spf. getrennt und an Zellpole gezogen



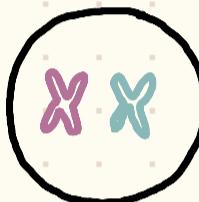
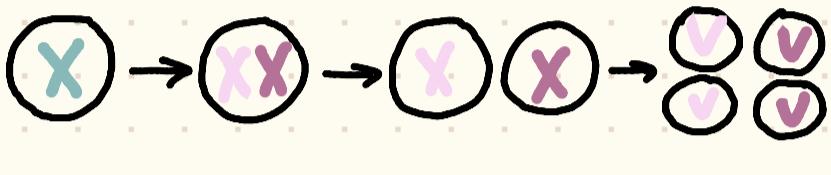
## Telophase I zu 2c

### TEILUNG I

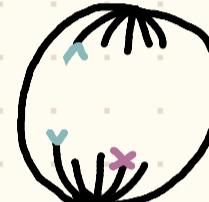
- neue Kernhüllen bilden sich um geteiltes Erbgut aus
- Spindelfasern komplett abgebaut
- Zelle beginnt ihre Teilung
- Mikrotubuli schließen Zelle von innen ein



⇒ zwei Tochterzellen mit haploiden Chromosomen-  
sat. → Chromosomen als 2-Chromatid-Chromosomen  
(nur bei Meiose I)!



diploide Mutterzelle



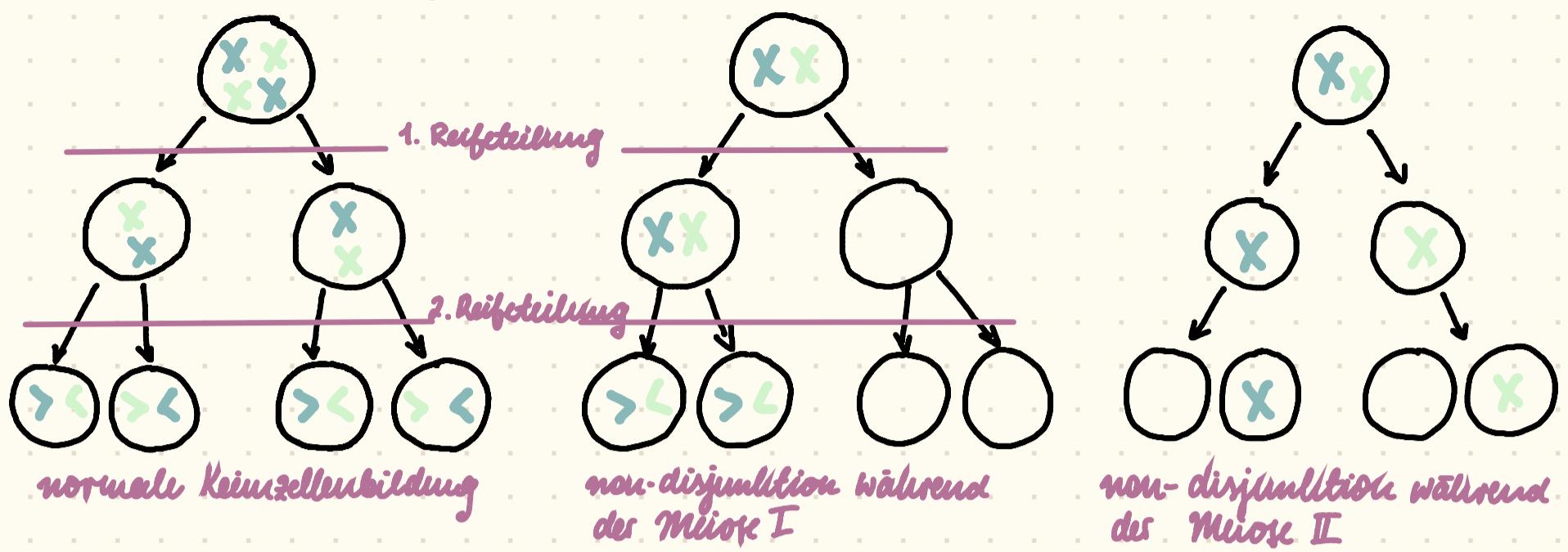
fehlerhafte Anaphase I oder II



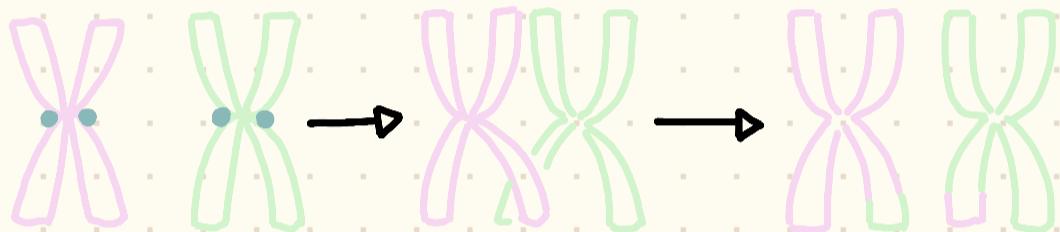
Interphase fehlerhafte Interphase

## PMAT

# NON-DISJUNKTION



## CROSSING-OVER (intrachromosomal Recombination)



crossing-over = Neuordnung des Genmaterials innerhalb der Chromosomen

homologe Chromosomen

Voraussetzung für c.-over:  
Crossover

recombinierte Chromosome

Bruch der Chromatidenstränge, Segmentsaus tausch und Fusion

## REKOMBINATION

Rekombination (S. 21)

- > zufällige Verteilung der homologen Chromosomen auf die beiden Tochterzellen
  - ↳ **intrachromosomal Rekombination** / freie Rekombination der Chromosomen
- > in der Prophase I, wenn sich die homologen Chromosomen über die ganze Länge paarweise anordnen, brechen die Chromatiden an den Crossoveren auf und tauschen homologe Stücke aus
  - **intrachromosomal Rek. / Crossing-over**
  - es entstehen: rechromatinante Chromatiden, die Gene beider Eltern tragen
- > bei Menschen: 2-3 Crossing-over Ereignisse pro Chromosomenpaar
  - wichtigste Quelle genetischer Variabilität

## TRISOMIE & MONOSOMIE

**Trisomie** = ein bestimmtes Chromosom in den Zellen des Menschen kommt dreimal statt zweimal vor

**Monosomie** = ein Chromosom eines Chromosomenpaares fehlt

→ Grund: non-disjunction während des Meiose I oder II.

# GENOMMUTATION

## numerische Chromosomenmutation

- > eine Veränderung in der Zahl der Chromosomen einer Zelle
- > entstehen aus diesen Zellen Tochterzellen, wird die Genommutation an den Nachwuchs vererbt
- > Entstehung z.B. durch non-disjunktion
- > Bsp.: Monosomie, oder Trisomie

# CHROMOSOMENMUTATION

## strukturelle Chromosomenmutation

- > Eine Veränderung der Struktur einer oder mehrerer Chromosomen
- > es werden Informationsdeletions und/oder Insertions

**Karyogramm** · geordnete Darstellung aller Chromosomen einer Zelle

### numerische Genmutation

- entsteht in der Anaphase I oder II der Meiose
- ein Chromosomenpaar kann ein Chromosom zu viel / mehrere zu viel haben
- ein Chromosomenpaar kann ein oder weniger Chromosomen zu wenig haben

Die Chromosomenanzahl verändert sich  
Die Chromosomen an sich verändern sich

### strukturelle Genmutation

- Teile des Chromosoms gehen verloren  
= Deletion
- Teile des Chromosoms untergehen einer Translokation → ein deletiertes Fragment wird auf ein nicht homologes Chrom. übertragen
- es findet ein ungleiches Crossing-over statt

Die Anzahl der Chromosomen bleibt unverändert  
Die Chromosomen an sich verändern sich

**Deletion** = ein Bruchstück bricht aus dem Chromosom heraus und wird wieder eingelegt

**Inversion** = ein Chromosomenstück wird an einer anderen Stelle des gleichen oder eines anderen Chr. eingelegt

**Translokation** = ein Chr.-stück wird an einer anderen Stelle des gleichen oder eines anderen Chrom. eingelegt

**Duplikation** = ein Chromosomenstück wird verdoppelt

**Substitution** = Basen austausch

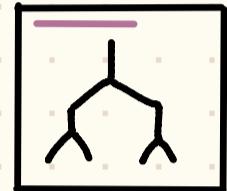
**stille Mutation** = keine Zuweisungen auf AS → gleiche AS wird codiert

**Missense-Mutation** = falscher Sinn durch

**Nonsense-Mutation** = Stop-Codon anstatt von AS eingelegt

# STAMMBAU ANALYSE

Stammbauanalyse



- ① **Einleitung:** Merkmal kurz beschreiben (1-2 Sätze)
- ② **Hypothese:** Indizien für einen Erbgang und Erbgang benennen (1-2 Sätze)
- ③ **Ausschlussverfahren:** Widerlegen von bestenfalls 4 Erbgängen  
⇒ einer bleibt übrig, angeben, dass nichts gegen diesen Erbgang spricht  
**! Belege aus dem Stammbaum nennen**
- ④ **Schlussfolgerung:** mit Rückbeszug auf Hypothese

# ERBÄNGE

E + 6 g ä n g e

autosomal  
recessiv

autosomal  
dominant

= Indizien

= Beweis

X-Chromosomal  
recessiv

X-Chromosomal  
dominant

Y-Chromoso-  
mal

<ul style="list-style-type: none"> <li>Eltern ohne Ausprägung können ein Kind mit M. Ausprägung bekommen</li> <li>beide Geschlechter gleich betroffen</li> <li>Generationssprung ist möglich. Konduktoren möglich auch</li> <li>MT sind immer homozygot</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>gesunde Eltern können keine erbbildeten Kinder bekommen</li> <li>beide Geschlechter gleich betroffen</li> <li>das Merkmal tritt in jeder Generation auf → keine Generationssprünge</li> <li>das dom. Allel ist das mutierte Allel</li> <li>Betroffene entweder homozygot oder heterozygot (<math>AA</math> o. <math>Aa</math>)</li> <li>ein Allel reicht aus</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>hat die Mutter das Allel ausgeprägt, so sind auch alle Söhne MT</li> <li>ein Vater, der nicht MT ist, hat nur gesunde Töchter</li> <li>Männer sind häufiger betroffen, aber nicht ausschließlich</li> <li>Generationssprünge sind möglich</li> <li>Frauen sind oft Konduktoren</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>mt die Mutter kein MT, so sind die Söhne auch keine MT</li> <li>Väter geben ihr Allel an alle Töchter weiter → Vater MT = alle Töchter auch</li> <li>Frauen sind häufiger betroffen</li> <li>es gibt keine Generationssprünge</li> <li>das dominante Allel (<math>x_D</math>) ist das betrachtete Allel [res. Allel: <math>x_d</math>]</li> <li>Männer sind homozygot (<math>x_D - x_D 0</math>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>eine Frau kann MT sein</li> <li>keine Generationssprünge</li> <li>→ Vererbung von Vater auf Sohn (<math>-y_2 / -y_3</math>)</li> </ul>
--	--	--	--	---

x	y	x	y
x	xx	xy	x xx xy
x	xx	xy	x xx xy

→ nur Frauen, wenn Vater → beide Geschlechter erbbaut

## MOLEKULARGENETIK

### Mendelsche Regeln

- 1) Uniformitätsregel
- 2) Spaltungsregel
- 3) Unabhängigkeitsregel

homozygot = reinrassig (zwei gleiche Allele)

heterozygot = mischerbig (zwei unterschiedliche Allele)

I. - zwei reinrassige Pflanzen

→ Nachkommen: uniform (1. Generation)

"Kreuzt man zwei reinrassige Eltern, die sich in einem Merkmal unterscheiden, sind die Nachkommen untereinander alle gleich (uniform)"

II. „Kreuzt man die minderbigen Individuen der  $F_1$ -Generation untereinander, treten in der  $F_2$ -Generation sowohl Merkmalsausprägungen der Elterngeneration als auch der  $F_1$ -Generation in einem bestimmten Verhältnis auf.“

III. „Bei einer Kreuzung von Eltern, die sich in zwei Merkmalen unterscheiden, für die sie jeweils reinerbig sind, werden die jeweiligen Erbanlagen unabhängig voneinander an die Nachkommen verteilt.“

dominant - recessiver Erbgang      intermediärer Erbgang      codominanter Erbgang

x	G	G
g	gg	gg
g	gg	gg

x	r	r
w	rw	rw
w	rw	rw

x	R	R
w	Rw	Rw
w	Rw	Rw

## GENETISCHER CODE

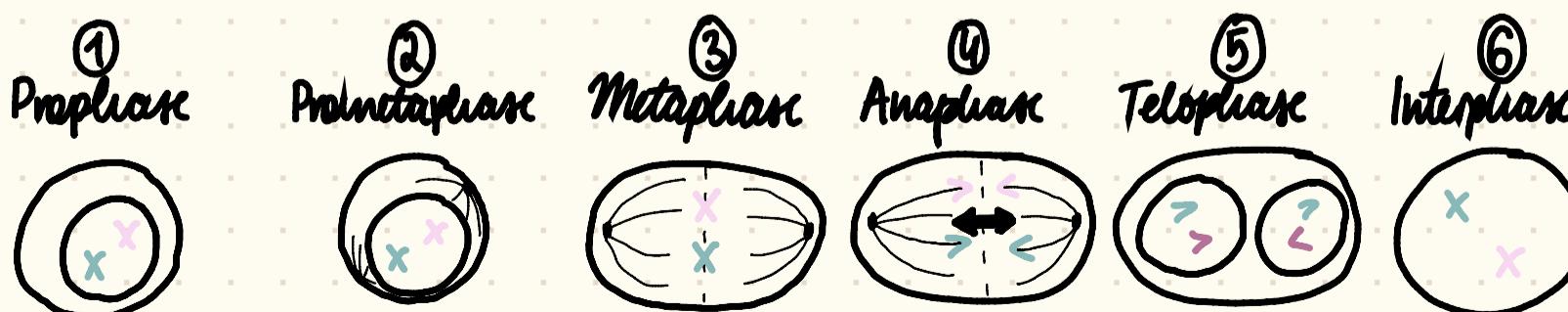
genetischer Code und seine Eigenschaften

- 1) **Triplet-CODE**: je 3 aufeinanderfolgende Nukleotide / Basen codieren für eine AS (!DNA: 5' - 3')
- 2) **universell**: er gilt für fast alle Lebewesen (wenige Triplets, Unterschied bei mtDNA)    mtDNA = mitochondriale DNA bei Eukaryoten
- 3) **kaumafrei**: er wird lächenlos abgelesen
- 4) **eindelig**: jedes Triplet codiert nur für eine AS
- 5) **redundant**: binde jede AS wird von mehreren verschiedenen Triplets codiert (61 Triplets  $\rightarrow$  20 AS + 3 unbenutzte Stop-Codons)
- 6) **nicht überlappend**: jede Base / jedes Nukleotid ist nur Bestandteil eines Triplets

## ZELLZYKLUS

Zellzyklus

Mitose:



## Aufgang

Interphase (6)  
Chromosome werden verdoppelt

## Vorbereitung

### Prophase (1)

- Mitubuli d. Zellkerns wird aufgeteilt
- DNA aufgespaltet
- Spf. entstehen

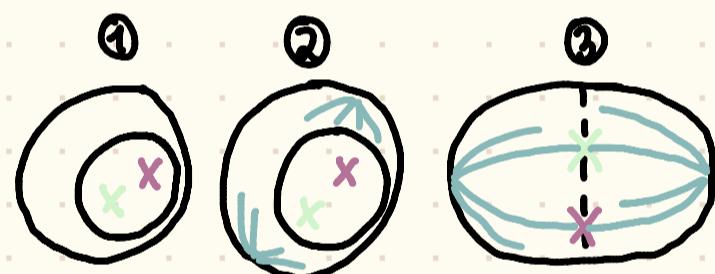
### Prometaphase (2)

- volles Verdunsten des Kernhülls
- Chrom. liefern an Spindel-Mikrotubuli an

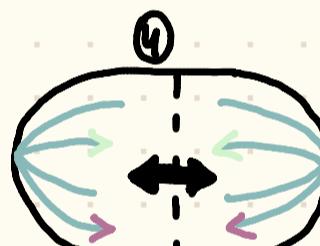
### Anordnung

### Metaphase (3)

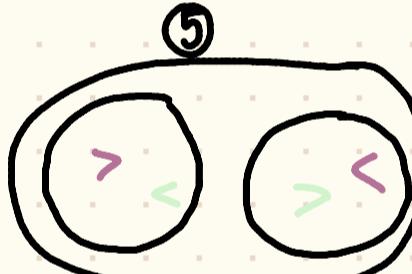
- Chrom. in der Zellmitte in einer Reihe angeordnet & mit Spf. verbunden



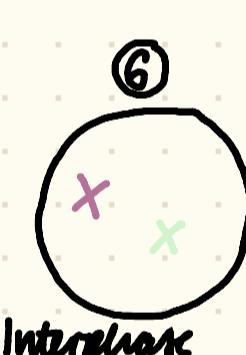
Prophase Prometaphase Metaphase



Anaphase



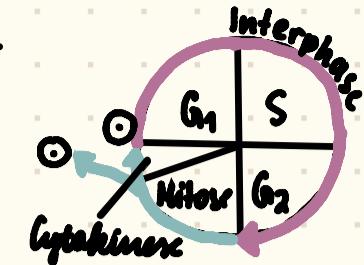
Telophase



Interphase

### Telophase (5) ENDE

- neue Kernmembran an jedem Polgebiet  
↳ umschließt die Pole
- Chrom. verlieren aufgerollte Struktur  
↳ Chrom. auseinander gestellt
- Cytoplasma aufgeteilt
- Zellmembran völlig geöffnet
- ⇒ 2 Zellen mit ident. DNA sind entstanden



## ZELLZYKLUS

MITOSE

### Anaphase DNA-Teilung (4)

- Doppelchrom. getrennt
- je ein Chromosom (identisch) wandert mit Hilfe von Spf. zu einem der Pole
- (Mikrotubuli im Spf. abgebaut = Spf. zerstört)

### Interphase

- Stoffwechselaktivität
- G<sub>1</sub>-, S- und G<sub>2</sub>-Phase

Arbor-Mikrotubuli:

- steriförmig vom Zentrosom ausgestrahlt
- verankern Spf. mit der Zelle

Kinetochose-Mikrotubuli:

- verbinden Autosome mit Kinetochoren

Pol-Mikrotubuli:

- von Zentrosom über Aquatorialebene hinaus
- während der Anaph. verlängern sich K. Mikrotub.

→ durch Abbau d. Tubulinmoleküle an Kinetoch. → an Pol-Mikrotubuli wieder aufgebaut

Steuerung des Zellzyklus / Regulation:

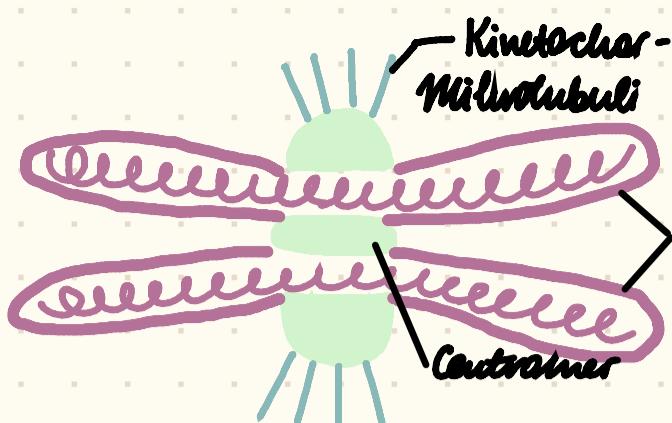
- Zellgröße, Nährstoffangebot, Nachbarzellen
- Zellen so dicht aneinander? → teilen sich nicht mehr und gehen in G<sub>0</sub>-Phase über
- Dauer und Abfolge der Phasen werden an „Checkpoints“ kontrolliert
- Zellzyklusproteine und Zykline

### Checkpoints

- I [G1] DNA Schäden?  
Substrate ausreichend?
- II [G2] DNA vollständig?
- III [M] DNA korrekt verteilt?

### Spindelapparatus Funktion:

- Chromatiden auf Tochterzellen verteilen
- Gerüst, das Chromatiden zu den Polen zieht
- aus Mikrotubuli gebaut → dünne stabile Körner



**Kinetochores** = Anheftungsstelle für Spindelfasern an den Schwesterchromatiden

# PROTEINE

## Primärstruktur

- linear
- entspricht A/S-Sequenz
- ohne Funktion

## Sekundärstruktur



$\alpha$ -Helix

$\beta$ -Faltblatt

## Tertiärstruktur



monomere Proteine  
funktionelle 3D  
Strukturen  
→ von einander ge-  
 trennt

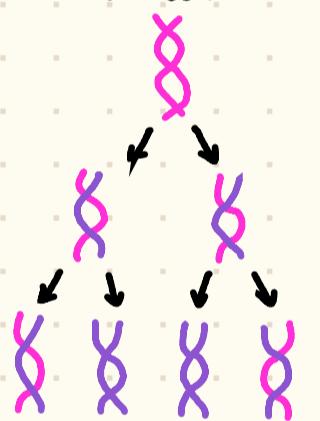
## Quaternärstruktur



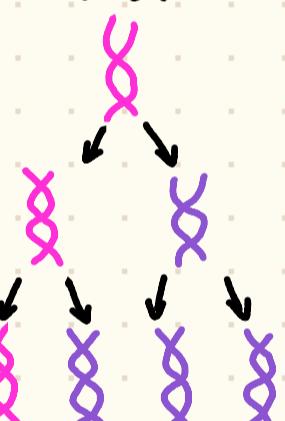
Proteine aus multi-  
plen AS Ketten  
funktionell 3D-Stra-  
tus

# REPLIKATIONSMODELLE

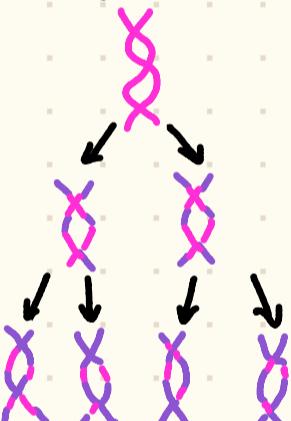
## schukonservatives Modell



## konservatives Modell



## disperses Modell



ursprüngliche DNA

DNA nach einer Replikation

DNA nach zwei Replikationen

↓  
bestätigt durch die Dichtegradientenzentrifugation nach Meselson & Stahl

# Heterochromatin und Euchromatin

- während der Interphase unterschiedlich dunkle Bereiche im Zellkern zu erkennen
- dunklere Bereiche → stärker spiralisierte DNA = **Heterochromatin** → nicht genetisch aktiv
- hellere Bereiche = **Euchromatin** → genetisch aktiv

# REPLIKATION DER DNA

Definition: Die DNA Replication ist die identische Verdopplung der Erbinformationen. Sie ist die molekulare Grundlage der Vererbung.

- Zweck: DNA einer Zelle vor jeder Mitose oder Meiose verdoppeln
- für Entwicklung neuer Zellen und Erneuerung alter Zellen wichtig
- Verdopplung der DNA verläuft **semikonservativ** → DNA wird in zwei Teile aufgespaltet und dann verdoppelt
- 3 Phasen: Initiation, Elongation, Termination
- bei **Eukaryoten** (Tiere, Pflanzen) bilden sich viele Replikationsblasen entlang des DNA-Stranges, die aufeinander zu laufen
- bei **Prokaryoten** verläuft die Replication vom Replikationsursprung bis zum Replikationsende

RNA enthält anstatt der !  
Base Thymin Uracil !

① **Initiation:** DNA Doppelstrang wird getrennt und der Verdopplungsprozess beginnt

- **Topoisomerase** entwindet DNA, sie verliert ihre Spiralförmigkeit → Form einer "Strickleiter"
- **Helikase** trennt DNA in ihre Einzelstränge → aufgetrennter Bereich: „Replikationsgabel“
  - ↳ Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den BP (A-T; G-C) getrennt
- **SSB-Proteine** binden zur Stabilisierung an die freien Stellen der Einzelstrangnukleotide
  - ↳ getrennte DNA-Stränge werden in ihrer Position gehalten, da sich die getrennten BP zueinander hinstellen
- **Primer** werden benötigt → Primer = kurze RNA Stücke, die von der Primase hergestellt werden, sie werden am 3'-Ende angebracht
- **Matrizenstrang** = der Einzelstrang, der durch die Helikase entsteht und als Vorlage für die Replication dient

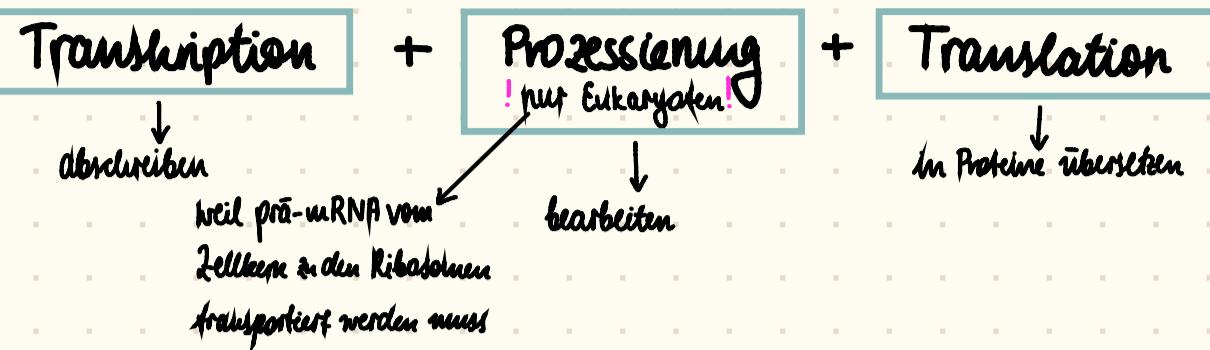
② **Elongation:** neue Strände werden angelagert

- DNA Polymerasen lesen den Matrizenstrang von 3' in 5' Richtung
- Helikase und Polymerase laufen also kontinuierlich in eine Richtung
  - ⇒ **kontinuierliche** am Leitstrang
- am Folgestrang **diskontinuierliche** Replication
  - ↳ Polymerase verknüpft Nukleotide von 5' in 3' Richtung
  - ↳ immer wieder neue Primer am Folgestrang befestigt
  - ↳ Polymerase verknüpft am FS nur „Päckchenweise“ die Nukleotide → „Okazaki-Fragment“
  - ↳ **Ribonuklease H** baut die Primer ab
  - ↳ Säcken werden mit DNA gefüllt
  - ↳ **Ligase** verbindet alle Stücke und Okazaki-Fragmente

③ **Termination:** Beenden des Vorgangs (unterschiedlich bei Eukaryoten und Prokaryoten)

- **Eukaryoten:** Replication endet sobald zwei Replikationsgabeln aufeinander treffen
  - ↳ kein besonderes Signal benötigt
- **Prokaryoten:** **Terminationsequenz** lässt Ende der Replication aus
  - ↳ durch die kreisförmige Struktur der prok. DNA treffen die Replikationsgabeln an der Terminationssequenz zusammen

# PROTEIN BIOSYNTHESE



## TRANSKRIPTION



### Initiation

(TATA-Box)

RNA-Polymerase beginnt Katalyse an einem Promotor - bestimmte Basensequenz - und lagert sich dort an

DNA dort entwinden und in Einzelstränge aufgetrennt

RNA-Polymerase läuft von 3' nach 5' Richtung

### Elongation

abgelesener Strang = codogener Strang

Transkriptionsfaktoren = binden an bestimmte Abschnitte der DNA und regulieren die Transkriptionsrate (wie viel mRNA hergestellt wird)

# GENREGULATION BEI EUKARYOTEN

Genregulation ermöglicht Spezialisierung von Zellen

## prätranskriptionale Regulation

Methylierung  
von Cytosin-Basen

## Histonemodifikation

Methylierung Acetylierung Phosphorylierung

spezielle Transkriptionsfaktoren

## Enhancer & Silencer

Aktivatoren werden gebildet  
Repressoren werden gebildet

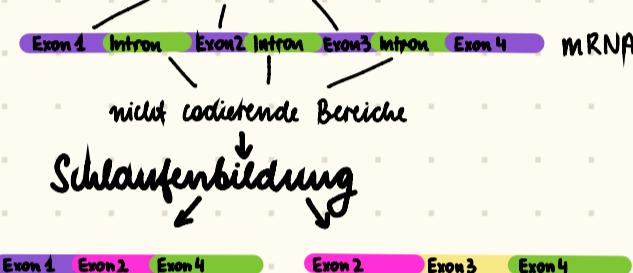
## posttranskriptionale Regulation

alternatives Spleißen → regulierte Nutzung bestimmter Exons

codierende Bereiche

nicht codierende Bereiche

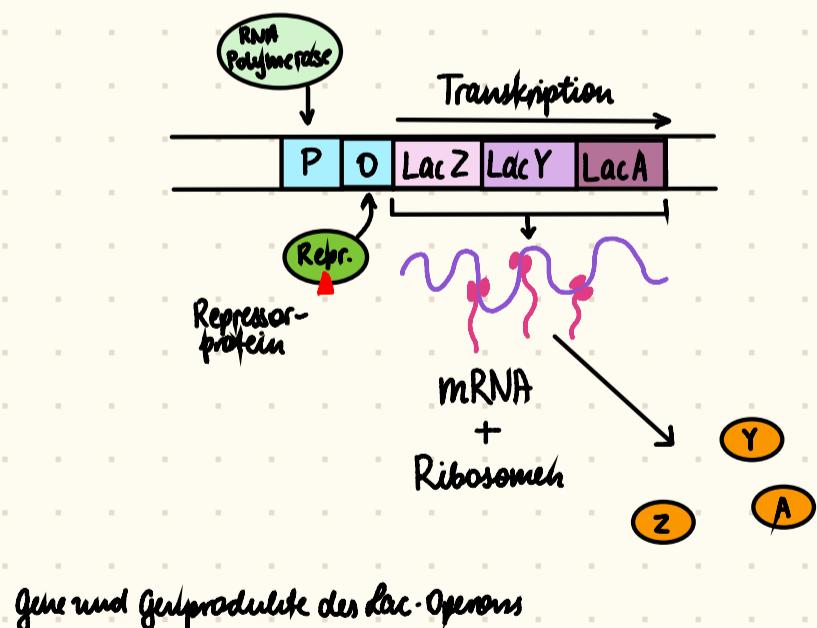
Schlaufenbildung



RNA Interferenz → Unterbrechung bei der Translation

- zur mRNA (z.B. von einem Krebsgen) eine künstliche komplementäre RNA von außen (z.B. Medikament) zugefügt
- nach Hybridisierung zu einer dsRNA wird das Dicer-Enzym eingelegt, welches die dsRNA in kurze siRNA-Fragmente zerstellt
- diese siRNA bindet an RNase und RISC-Komplex entsteht, nachdem das Stück der körpereigenen RNA abgespalten wurde  
→ künstliche mRNA-Sequenz der siRNA + RNase = RISC-Komplex

# GENREGULATION BEI PROKARYOTEN



Gene und Genprodukte des lac-Operons

Promotor = Bindestellen für RNA-Polymerase

Operator = Bereich zur Anlagerung vom Repressor

Repressor = kann die Transkription blockieren

Regulator(en) = codiert für das Repressor-Protein

Operon = System aus Promotor, Operator und mehreren Strukturgenen

- > Aktivität des Gens auf Transkriptionsebene reguliert
- > Einsatzpunkt zur Regulation der Genaktivität → Promotor

zusätzlich: Substratinduktion

# DNA-Replikation

Initiation → Elongation → Termination

I Initiation: DNA-Doppelhelix wird entwunden und geöffnet, DNA-Primet setzt an die offenen Strände an

II Elongation: neue Tochterstrände werden gebildet → durch die DNA Polymerase werden neue Basen von 5' nach 3' Richtung an die offenen Strände angefügt

III Termination: Ende des Vorgangs

## DNA Replication Enzyme und ihre Funktionen

Topoisomerase = Entwinding der DNA

Helikase = Trennung des Doppelstranges in Einzelstränge

Primase = Primersynthese

DNA-Polymerase = Verknüpfung der Nukleotide

Ribonuklease H = Abbau der Primer

Ligase = Verknüpfung der DNA- und Okazaki-Fragmente

## DNA-Replikation bei Prokaryoten

→ schneller

→ kreisförmige DNA

## Ein-Gen-ein-Enzym-Hypothese

- BEADLE und TATUM
- die Hypothese besagt, dass ein Gen den Abschnitt auf der DNA ist, der in seiner Nukleotidsequenz die Information für die Synthese eines Enzyms enthält
- wird ein Enzym in der Syntheseliste nicht ausgebildet, so sind dieser Enzymausfall und das damit verbundene Krankheitsbild genetisch bedingt

# Wandel des Genbegriffs

## Der ursprüngliche Genbegriff

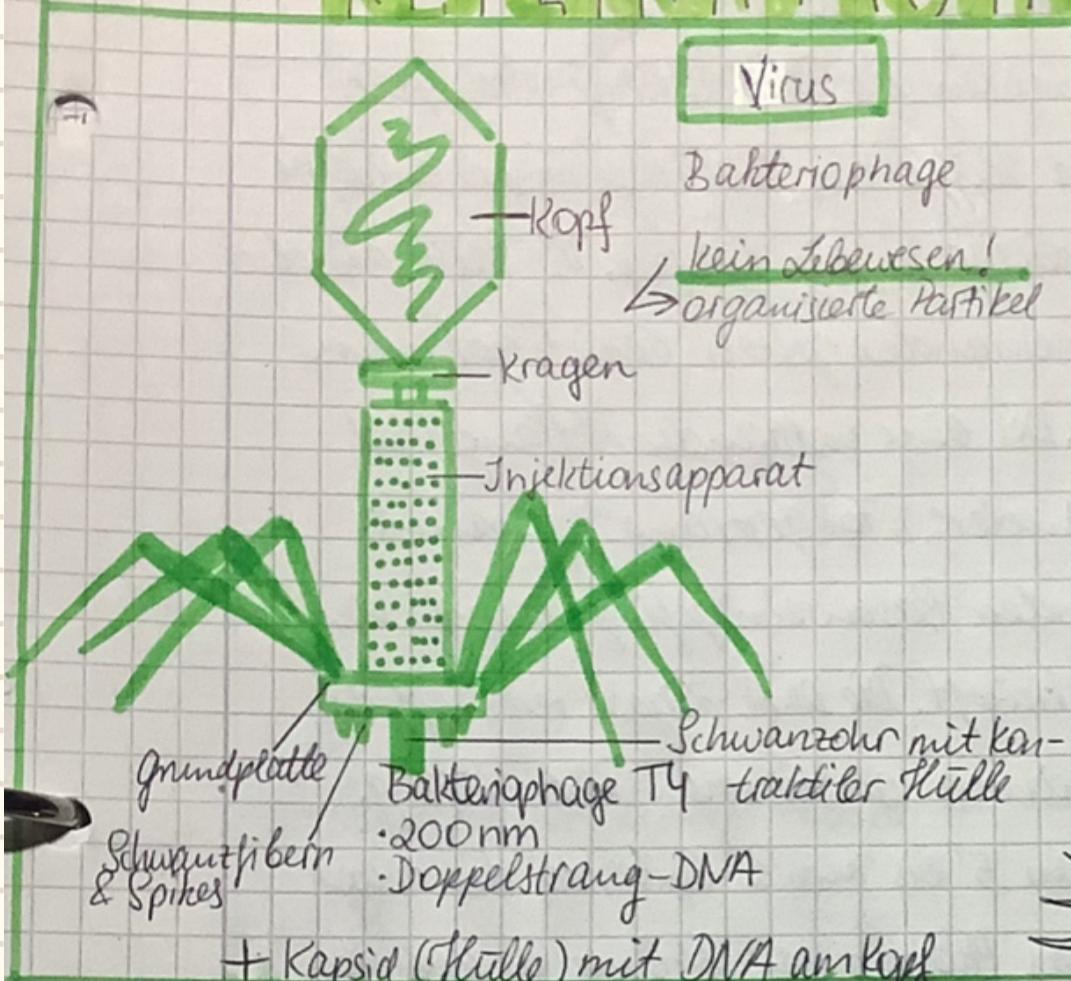
- MENDEL 1854 Kreuzveruche Erben

↳ nannte den Begriff „Erbfaktor“, der für die Zusbildung eines bestimmten Faktors verantwortlich sei

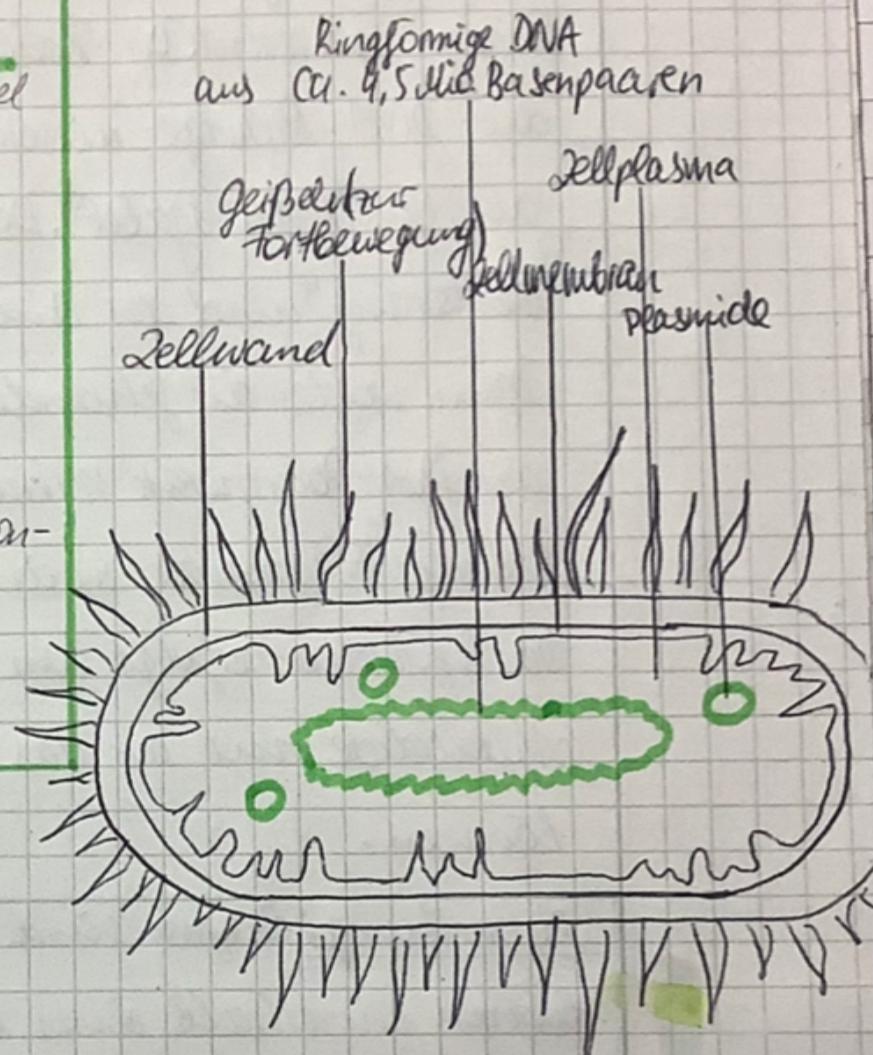
• heute bekannt: die Zusbildung mancher Merkmale ist auf eine Mutation in einem Gen zurückzuführen, das für die Zusbildung eines bestimmten Enzyms verantwortlich ist

# REPLIKATION DER DNA

15.12.20

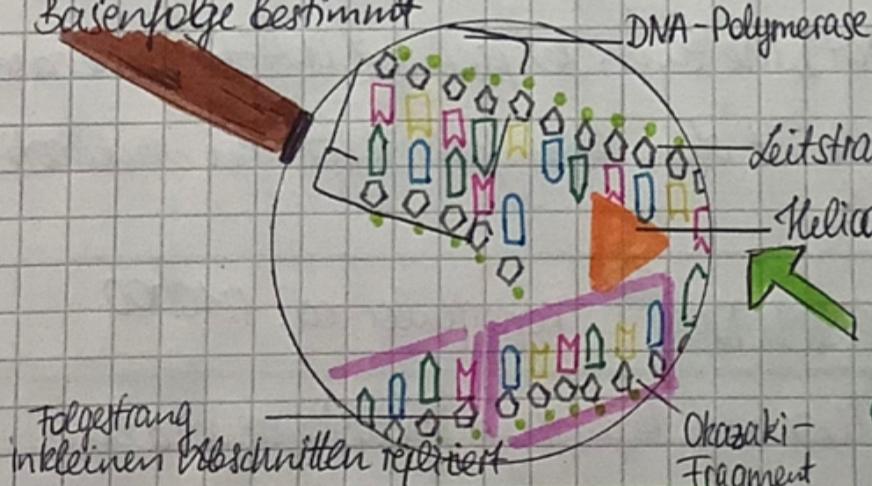


von Valeria Volkova

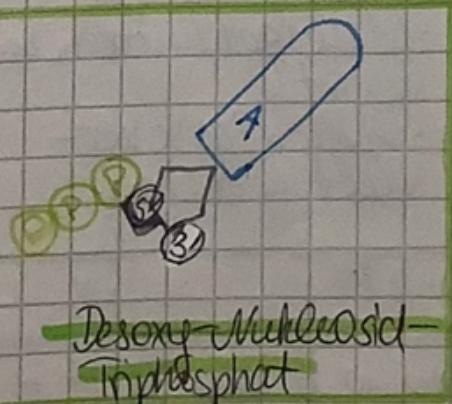
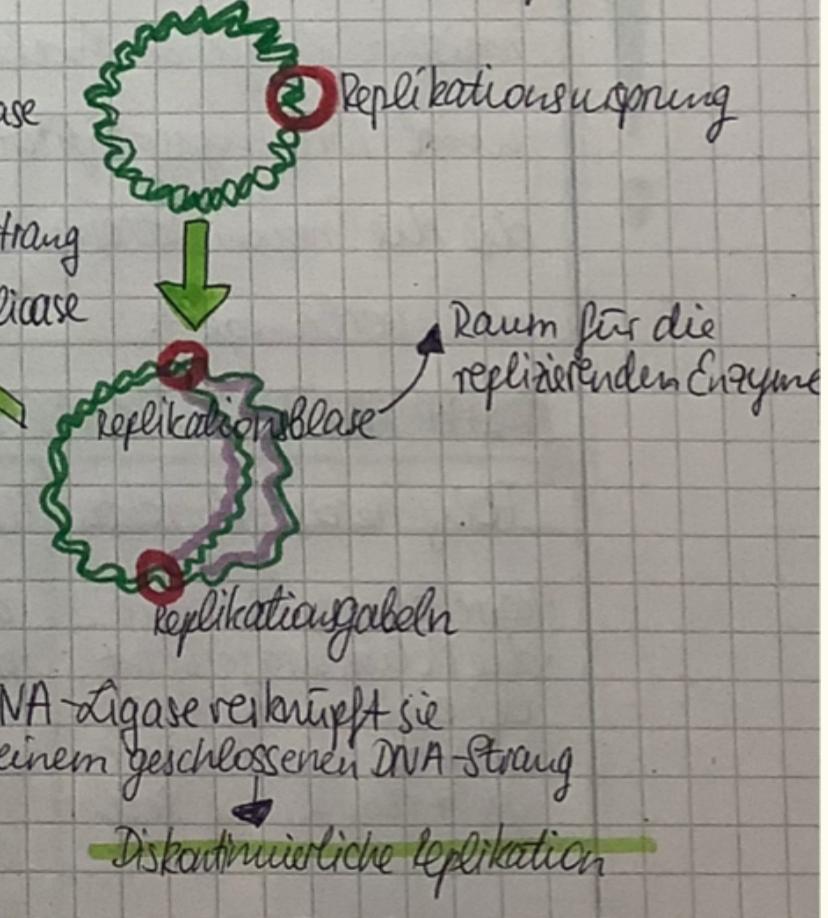


## ESCHERICHIA COLI

- Einzeller
- wenige tausendstel Millimeter groß
- DNA-Replikation in ca. 20 Minuten
- über 12 Enzyme beteiligt
- Replikationsursprung durch spezielle Basenfolge bestimmt



! Ein neues Nukleotid kann immer nur am Phosphatfreiem 3'-Ende des vorherigen Nukleotids angebunden werden.  $5' \rightarrow 3'$



Das Bakterium teilt sich!

DNA-Polymerase korrigiert Fehler selber + mismatch-Reparatur + Excision-Reparatur

Somatische Mutationen

# ( PCR - Polymerase chain reaction (S.148-149 Genetik Buch) )

## minisatelliten

## DER GENETISCHE FINGERABDRUCK

- zur Erstellung eines genetischen Profils ist es nicht notwendig jedes BP der DNA zu erfassen  
→ man stützt sich vor allem auf nicht-codierende Bereiche (**Introns**), da sich dort über Generationen hinweg anzureichern können, ohne ausgeprägt zu werden. Die Bereiche der Introns weisen in der Nukleotidabfolge daher größere Unterschiede auf → **Polymorphismen**
- Introns enthalten häufig sich 2-100x wiederholende Sequenzen von 10-100 BP, die bei jedem Menschen ein individuelles Muster ausprägen  
→ diese repetitiven Abschnitte = Minisatelliten DNA o. Variable number of tandem repeats (kurz **VNTR**)

## RFLP-Analyse

DNA mit Restriktionsenzymen geschnitten



DNA-Moleküle lassen sich abhängig von der Anzahl der vorhandenen Schnittstellen in verschiedenen lange Fragmente zerlegen

bei jedem unterschiedliche Länge von DNA-Fragmenten nach der Behandlung mit Restriktionsenzymen = **Restrictions fragment length polymorphism (RFLP)**

## Southern Blotting (Verfahren)

DNA-Fragmente werden mithilfe einer Gelelektrophorese der Größe nach aufgetrennt

Gel wird mit Wärme oder Chemikalien behandelt → DNA dehydriert

Gel auf einem Schwamm in einer Pufferlösung platziert

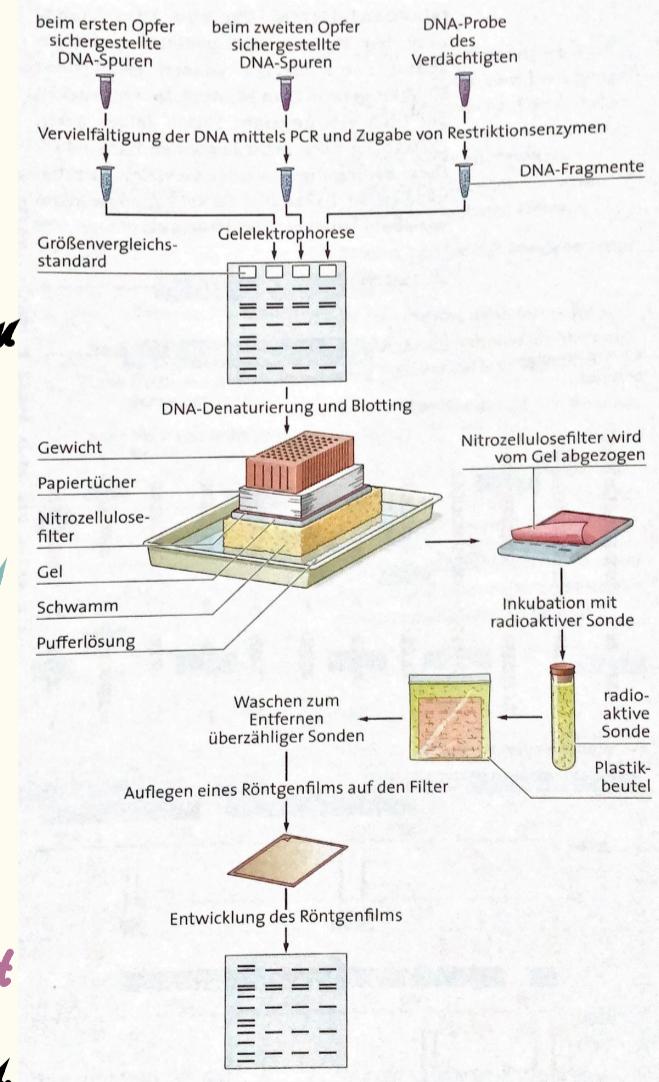
durch Kapillarkräfte wird Pufferlösung durch Gel und Filter nach oben gesogen, DNA-Fragmente werden dabei auf den Filter übertragen  
→ ihre Anordnung im Gel bleibt auf dem Filter erhalten

Filter mit verankerten DNA wird mit einer radioaktiven Sonde inkubiert (Sonden → einstufige Sequenzen, wie GGGCAAGGAGG, die mit komplementären Seq. best. DNA-Abschnitte hybridisieren und so dadurch markieren) → die Sonden entsprechen VNTRs

Filter wird zur Entfernung überzähliger Sonden gewaschen

Röntgenfilm wird auf den Nitrozellulosefilter gelegt  
→ Da die Sonden durch Radioisotope markiert sind, wird der Röntgenfilm dort geschwärtzt, wo Strahlungsemission stattfindet

Die Stellen sind als schwarze Balken zu erkennen, an den Stellen, an denen Sonden an den Filter gebunden haben → **Autoradiografie**



02 Entstehung eines genetischen Fingerabdrucks

## Mikrosatelliten PCR - Polymeraschettensaktion

- für eine DNA-Analyse nach dem Verfahren des gen. Fingerabdrucks mit VNTRs werden mind. 50 Mikrogramm DNA benötigt (DNA von etwa 10.000 Zellen, deren Zersetzung nicht begonnen haben darf)
- daher: RFLP vor allem bei Vaterschaftstests und nicht an Totottern verwendet

Proben aus z.B. Haaren o. Speichelresten zur Erstellung eines DNA-Profiles:

- andere Gruppe von Sequenzen als Marker (VNTRs jedoch ähnlich, die sich wird. Seq. jedoch noch kürzer)
- Seq. umfassen bis zu 10 Nukleotide u. sind 5-20x
- Seq. wie CACACACA = **Mikrosatelliten** oder short tandem repeats (kurz **STR**)
- in einem STR liegen nur viele Wiederholungseinheiten (durch Fehler bei der Replikation entstanden)

- 1) Technik der Polymeraschettensaktion (PCR) zur Vervielfältigung des gen. Materials  
⇒ es werden dabei Primer eingesetzt, die sich an beide Enden eines STR heften, sodass nicht alle vorhandenen DNA-Sequenzen abgelesen werden, sondern nur bekannte STRs
- 2) Gebildete Fragmente werden gelektrophoretisch aufgetrennt.  
⇒ nach der Markierung mit spez. Farbstoffsonde erhält man ein Bandenmuster (wie beim klassischen **Fingerabdruck**)
- 3) Wenn Primer bei der PCR mit fluoresc. Farbstoff markiert werden, können Fragmente durch **Sequenzierungsautomaten** analysiert werden

Ergebnis: Grafik mit Peaks, die für gebundene Sonden an den jew. Genloci stehen

Betrachtet man nur 1 STR,  
kann man von einer Probe nicht  
sicher auf eine Person schließen  
(Wahrsch. d. Übereinst. ca. 1:200)  
→ Ermittlungsbüroden nutzen inter-  
national ein Markerfeld von 13 STRs  
(Wahrsch. d. Übereinst. 1:Trillion)

## Ras-Proteine

Die Wachstumsfaktoren binden an den Rezeptor. Dadurch wird das Ras-Protein aktiviert, da GTP als Energiequelle an das Protein bindet. Das Ras-Protein synthetisiert Proteinkinasen, welche in den Zellkern gelangen und sendet ein Signal an den Aktivator.

Der Transkriptionsfaktor bindet an die DNA und ein Protein, das den Zellzyklus stimuliert und synthetisiert. Es findet eine normale Zellteilung statt.

## Protoonkogene

- Gene, die für Proteine codieren, die das Zellwachstum, die Zellteilung und die Zellausbreitung stimulieren
- Bsp.: Ras 2-t

Findet in einem Protoonkogen eine Mutation statt, die dazu führt, dass das Protein dauerhaft die Zellteilung und das Zellwachstum stimuliert, nennt man es Onkogen

## Onkogene

- mutierte Form eines Protoonkogens
- kausal an der Pathogenese einer Neoplasie beteiligt
- Onkoregulation funktioniert nicht mehr und Krebs entsteht
- rezessive und dominante Onkogene

## Tumorsuppressorgene

- stoppen den Zellzyklus im Falle einer Mutation, damit eine DNA-Reparatur durchgeführt werden kann

### p53

- in vielen Typen entarteter Zellen in erhöhter Menge

# CRISPR-Cas-System

CRISPR = clustered regularly interspaced short palindromic repeats

CRISPR - sich wiederholende Abschnitte der DNA im Erbgut vieler Bakterien ermöglicht dem Bakterium eine Resistenz oder Immunität gegen Viren o. ä.

- ↳ dabei spalten sie die fremde DNA in kleine Fragmente, bauen diese ins CRISPR-Gen ein & transkribieren sie in RNA
- ↳ bei erneuter Infektion wird die virale DNA durch diese RNA erkannt & durch Cas-Proteine abgebaut

Gene können präzise eingefügt, entfernt oder ausgeschaltet werden  
genetische Änderung der DNA möglich  
das System arbeitet in drei Schritten:

- I mittels kurzer RNA-Sonde wird das Protein Cas9 an die komplementäre Sequenz, die verändert werden soll, herangeführt
- II Cas9 schneidet den DNA-Doppelstrang an gewünschter Stelle
- III vorgegebene DNA kann eingelegt werden

## Car-T-Zelltherapie

CAR-Chimeric Antigen Receptor

- Krebsimmuntherapie
- gentechnologische T-Zellen kommen mit synthetischen antigenspezifischen Rezeptoren zur Anwendung
- T-Zellen aus Blut des Pat. extrahiert und so verändert, dass sie chimeric Antigenrezeptoren auf ihrer Oberfläche ausbilden, die gegen krebspezifische Oberflächenproteine gerichtet sind
- veränderten Car-T-Zellen werden dem Patienten zurückinfusiert, vermehren sich im Idealfall und sorgen für eine Immunreaktion

# Stammzellen

- undifferenzierte Zellen, die sich selbst erneuern
- verfügen über enormes Entwicklungspotential  
↳ können sich zu bestimmten Zelltypen differenzieren
- es wird in **embryonale** und **adulte Stammzellen** unterschieden

## embryonale Stammzellen:

- aus der Blastozyste (ca. 4 bis 8 Tage nach der Befruchtung) entnommen  
↳ in diesem Stadium sind sie totipotent

**totipotent** = aus ihnen kann ein vollständiges Lebewesen entstehen

**pluripotent** = können alle Zelltypen des Organismus bilden, aber nicht mehr den gesamten Organismus

**multipotent** = auch **adulte Stammzellen**, differenzieren sich innerhalb eines Gewebes zu bestimmten Zelltypen

# Epigenetik

- Eigenschaften, die vererbt werden, aber nicht im DNA-Sequenz festgelegt sind
- Gene werden an- oder ausgeschaltet
- durch epigenetische Prägungen entstehen Expressionsmuster  
↳ sie ermöglichen den Zellen ohne Änderung der DNA auf Umweltveränderungen zu reagieren

epigenetische Marker = chemische Anhänger, die entlang der Doppel-Helix oder auf den Histonen verteilt sind

Histonmodifikationen = chemische Veränderungen von Histon-Proteinen, beeinflussen die Transkription → stärkere oder schwächere Verpackung des Chromatins ⇒ DNA Abschnitte werden stillgelegt oder aktiviert

Methylierung von Cytosin-Basen der DNA = zähnen von Methylgruppen an Basen der DNA  
→ Methyltransferasen versetzen die Base Cytosin an bestimmten Stellen im Genom mit einer Methylgruppe ( $\text{CH}_3$ -Gruppe) → es entsteht Methylcytosin.  
falls regulatorische Abschnitte betroffen sind, verändert sich die Lesbarkeit des Gens  
Methylierung des Cytosins kann nicht rückgängig gemacht werden  
Methylierungsmuster bei der Zellteilung weitergegeben  
• bei Replikation neu gebildeter Strang erst nicht methyliert, sondern erst nachträglich

Prägung scheint eine notwendige Voraussetzung für eine normale Embryonalentwicklung zu sein, sie entscheidet, welche Eigenschaften von Vater und welche von der Mutter zur Zusprägung kommen