

Beispielfragen zur Prüfungsvorbereitung

Vorlesung: Genetik, Genomik, Bioinformatik.

Die folgenden Fragen repräsentieren die Art der Fragen die wir Ihnen in der Prüfung stellen werden. Unter der Frage ist jeweils das entsprechende Lernziel angegeben, das mit dieser Frage überprüft wird.

1) Frage: Nenne Sie jeweils einen wichtigsten Vor- und Nachteil der Transposon Mutagenese.

Lernziel aus Bakterielle Genetik: Sie wissen, was transposable Elemente sind und können Vor- und Nachteile der transposon-basierten Mutagenese erklären.

vorteil: zufälliges Zustandekommen von Mutationen (normalerweise loss-of-function)

nachteil: Aufnahme von transposons ist nicht immer trivial in eukaryotischen diploiden organismen.

2) Frage: In genetischen Studien an höheren Organismen (Drosophila, Maus, Mensch) wird der Phänotyp oft erst nach einer Rückkreuzungen sichtbar. In Bakterien ist der Phänotyp bereits in der ersten Generation sichtbar. Warum ist das so?

Lernziel aus Hefe Genetik: Sie kennen den Lebenszyklus der Hefe und wissen wie Hefen zwischen haploidem und diploidem Wachstum wechseln können.

höhere Organismen sind normalerweise diploid, weshalb wir mit dominanten und rezessiven genen konfrontiert sind und erst in einer Rückkreuzung rezessive Phänotypen observierbar werden.

Bakterien sind haploid, also tritt der Effekt einer Mutation sofort ein und kann beobachtet werden.

3) Frage: RNAi und CRISPR/Cas9 sind zwei experimentelle Techniken welche die Genetik extrem bereichert haben. Die beiden Techniken erfüllen grundlegend unterschiedliche Aufgaben, haben aber eine Gemeinsamkeit die entscheidend zu ihrem Erfolg beigetragen hat. Bitte beschreiben sie kurz worin diese Gemeinsamkeit besteht und wieso sie so wichtig für den Erfolg dieser Techniken ist.

Lernziele aus RNAi/CRISPR: a) Sie können erklären wie das CRISPR/Cas9 System benutzt wird um gezielt Veränderungen im Genom einzuführen. b) Sie können erklären wie ein Screen mit einer microRNA *mimics library* funktioniert.

Gemeinsamkeit: beide haben als ihr zielobjekt mRNA/DNA.

[erklärung von CRISPR/Cas9 und RNAi]

4) Frage: Als experimentelles Werkzeug erlaubt das CRISPR/Cas9 System das punktgenaue Einbringen von genetischen Änderungen in Säugetierzellen. Seinen biologischen Ursprung hatte das CRISPR System aber in einer ganz anderen Funktion. Welche der folgenden Aussagen über CRISPR/Cas9 sind korrekt?

- ☒ Das Akronym CRISPR steht für *clustered regularly interspaced short palindromic repeats* und beschreibt Sequenzabschnitte die in bakteriellen Genomen gefunden wurden. Zwischen den *palindromic repeats* dieser CRISPR Sequenzen befinden sich von invasiven Phagen und Plasmiden stammende Sequenzen die dort in das bakterielle Genom integriert wurden.
- ☐ Die Integration in die CRISPR Sequenzen erlaubt es den Phagensequenzen das bakterielle „Immunsystem“ zu umgehen um sich ungehindert zu vermehren.
- ☐ Für seinen Einsatz in Säugetierzellen musste das ursprüngliche Cas9 Protein genetisch modifiziert werden um die beim Heraustrennen der getargeteten DNA Sequenzen entstehenden Doppelstrangbrüche zu reparieren. Ohne diese Reparaturfunktion würden diese Doppelstrangbrüche schnell zum Zelltod führen.
- ☒ Durch Bereitstellung eines entsprechenden DNA Moleküls kann man in Säugetierzellen mittels Cas9-induzierten Doppelstrangbrüchen einen zelleigenen *homology directed repair* Mechanismus auslösen. Das Endresultat ist der Einbau der aus diesem DNA Molekül stammenden Sequenzen in das Genom der Säugetierzelle.

Lernziel aus RNAi/CRISPR: Sie kennen die Funktion und den biologischen Ursprung des CRISPR/Cas9 Systems.

5) Frage: RNAi ist ein weitverzweigter zellulärer Mechanismus zur post-transcriptionalen Kontrolle von Genaktivität. Zwei der wichtigsten molekularen Akteure im RNAi Mechanismus sind miRNAs und siRNAs. Welche der folgenden Aussagen über die diese beiden RNA Typen sind korrekt. **(Mehrere Antworten können richtig sein)**

- ☐ Die Sequenzen von siRNAs stammen aus viralen Genomen oder aus Transposons während miRNA Sequenzen aus dem Genom der Zelle stammen in der diese Sequenzen gefunden werden.
- ☒ Durch ihre relativ geringe Komplementarität zu den von ihnen regulierten mRNAs kann eine miRNA Sequenz die Stabilität von vielen mRNAs gleichzeitig regulieren.
- ☒ Bei der Nutzung des RNAi Mechanismus in sogenannten *gene knock-down Experimenten* basiert der primäre *gene knock-down* Effekt auf dem Wirkungsmechanismus der auch für die Wirkung von siRNAs verantwortlich ist.
- ☒ Die teilweise auftretenden *off-target* Effekte in solchen *gene knock-down* Experimenten lassen sich wohl häufig dadurch erklären, dass die eingeschleusten RNAs auch miRNA-ähnlichen Wirkungsmechanismen auslösen.

Lernziel aus RNAi/CRISPR: Sie können die Unterschiede zwischen miRNAs und siRNAs beschreiben.

6) Frage: Welche der folgenden Aussagen zur Epigenetik sind korrekt?
(Mehrere Antworten können richtig sein)

- ☐ Die Wicklung von DNA um Histone ist ein wichtiger Mechanismus der epigenetischen Regulation. Dabei werden Gene, deren DNA besonders dicht um Histone gewickelt sind, in der Regel besonders aktiv transkribiert.
- ☐ X-Chromosomen-Inaktivierung unterscheidet sich von genetischer Prägung unter anderem dadurch, dass die Wahl, ob das mütterliche oder väterliche X-Chromosom inaktiviert wird, per Zufall fällt. Bei der Prägung hingegen wird gezielt entweder das mütterliche oder das väterliche Gen abgeschaltet.
- ☒ Epigenetische Mechanismen der Genregulation wurden zuerst in der transgenerationalen Vererbung entdeckt. Zunehmend wird aber klar, dass diese Mechanismen auch die „Vererbung“ von Information während der Mitose ermöglichen.
- ☐ Der Einfluss von postrationalen Histonmodifikationen (z.B. Phosphorylierung und Methylierung) auf die Genaktivität ist durch einfache elektrostatische Prinzipien erklärbar.

Erklären sie in einem Satz warum Sie diese Antwort gewählt haben.

Lernziel aus Epigenetik: Sie kennen die molekularen Mechanismen die der Epigenetik zugrunde liegen.

DNA methylierung wird erhalten, d.h. eine methylierte Base gibt die Methylierung weiter.

7) Frage: Definieren Sie den Begriff *reverse genetics* und erklären Sie warum dieser Ansatz bei Studien an Säugetieren besonders beliebt ist.

Lernziele aus Zell-linien Genetik: a) Sie können die Begriffe *forward* und *reverse* Genetik erklären. b) Sie verstehen warum die Anwendung von klassischen *forward* Genetik Ansätzen auf Säugetiere schwierig ist.

Def. reverse genetics: Vorgehensweise in genetischen Studien, in der der Genotyp vorausgesetzt wird und gezielt mutiert wird, sodass die daraus resultierenden Phänotypen beobachtet werden können (genotype => phenotype).

Kor.: Liebt in Studien mit Säugetieren, welche ein komplexes, redundantes, diploides Genom mit vielen Introns besitzen. Falls der Genotyp bekannt ist, kann der gezielt durch CRISPR/Cas9 verändert werden (sogar homozygot durch sgRNA libraries), oder mit cre-loxP system (Inversionen, Herausschneiden). Somit muss nach einer Mutation der Genlocus nicht identifiziert werden, da er schon bekannt ist. Also kann man den Teil auch viel schneller zur Sequenzierung vorbereiten.

8) Frage: Welche Rolle spielen die Bewertungsfunktion und der Suchalgorithmus beim Sequenzalignment z.B. beim BLAST Algorithmus? (**Mehrere Antworten sind möglich**)

- ☒ Die Bewertungsfunktion berechnet einen numerischen Wert (*score*) für die Qualität eines Alignments, und der Suchalgorithmus findet aus der Vielzahl möglicher Alignments dasjenige Alignment, das den besten *score* liefert.
- ☐ Bewertungsfunktion und Suchalgorithmus sind zwei unterschiedliche Ausdrücke für dieselbe Sache, wobei der Begriff Suchalgorithmus besonders häufig bei heuristischen Methoden verwendet wird.
- ☐ Die Bewertungsfunktion erlaubt einen direkten Vergleich der Effizienz unterschiedlicher Suchalgorithmen untereinander. Man benutzt also die Bewertungsfunktion, um den besten Suchalgorithmus für ein bestimmtes Sequenzalignment-Problem zu finden.
- ☐ Keine der Antworten ist korrekt.

Lernziel aus Bioinformatik: Sie verstehen die Funktionsweise des BLAST Algorithmus, durch welche Annahmen er seine Effizienz erreicht und wie Sie seine Parameter für unterschiedliche Alignment Probleme anpassen können.

9) Frage: In genetischen Studien an Menschen liegen die mit dem Phänotyp assoziierten Variationen häufig weit ausserhalb der protein-codierenden Regionen der Gene. Im Vergleich dazu fallen in Bakterien sehr viele in genetischen Screens identifizierte Mutationen direkt in protein-codierende Sequenzen. Wie erklären Sie diese Häufung von Mutationen in protein-codierenden Sequenzen in Bakterien?

Lernziel aus Bakterieller Genetik: Sie wissen, wie das bakterielle Genom aufgebaut ist und wie es sich vom eukaryotischen Genom unterscheidet.

Das bakterielle Genom hat eine hohe Gendichte (6000 Gene, 4,6M bp), weshalb es sehr wenige Introns besitzt. Introns sind nicht-codierende Bereiche für Proteine. Das menschliche Genom besteht zu ca. 99% aus introns, weshalb zufällige, unabhängige Mutationen statistisch gesehen öfters in Intronregionen als in Exonregionen fallen werden.

10) Frage: Was ist eine Tetrade und wie wird die Tetradenbildung in der Hefegenetik genutzt?

Lernziel aus Hefegenetik: Sie wissen was eine Tetrade ist, wie sie entsteht und welche Vorteile die Tetrade für die Hefezelle und für die genetische Forschung bringt.

Def. Tetrade: Ein "sack" aus vier haploiden Hefezellen. Wird gebildet, wenn Hefezellen sich unfavorablen Umweltbedingungen ausgesetzt fühlen. Eine Tetrade besitzt eine äusserst stabile Wand, was den Hefezellen darin erlaubt, schlechte Umweltbedingungen für eine längere Zeit auszuhalten

11) Frage: Was ist der Unterschied zwischen einer *driver* und einer *passenger* mutation?

Driver Mutationen sind direkt assoziiert mit proto-oncogenen und tumor suppressor genes, welche eine Zelle zur Tumorzelle werden lassen.

Passenger mutations haben meist keinen positiven Einfluss auf eine Advantage im microenvironment von mutierenden Zellen.

Lernziel aus Zell-Linien Genetik: Sie können zwischen *driver* und *passenger* Mutationen unterscheiden.

12) Frage: Sie wollen durch eine GWAS Studie zu einem besseren Verständnis von Herzkrankheiten beitragen.

Sie haben die Wahl zwischen drei spezifischen Krankheiten die Sie untersuchen können. Bitte kreuzen Sie die Krankheit an, die Ihnen am besten zur Untersuchung mit dem GWAS Ansatz geeignet scheint und erklären Sie kurz warum.

- ☐ eine sehr selten auftretende Herzkrankheit (1 Fall in 1'000'000) die sehr stark gehäuft in einigen ganz wenigen Familien auftritt.
- ☒ eine Herzkrankheit die mit moderater Häufigkeit bei bereits relativ jungen Personen auftritt (1 Fall in 100) und die kaum durch die typischen Life-Style Faktoren (Rauchen, Stress, Fitness, Ernährung) erklärt wird.
- ☐ eine Herzkrankheit die bei hohem Alter besonders häufig auftritt (1 Fall in 10) und deren Verlauf stark von den typischen Life-Style Faktoren (Rauchen, Stress, Fitness, Ernährung) abhängt.

Erklären sie in einem kurzen Satz warum.

moderate Häufigkeit reicht hier aus für statistisch signifikante Aussagen und Co-faktoren haben kaum Einfluss (Phänotyp grösstenteils durch Genotyp beeinflusst).

Lernziel aus GWAS: Sie verstehen die Motivation und biologischen Annahmen (*common phenotype, common genotype hypothesis*) die der Entwicklung der GWAS Technik zugrunde liegen.

13) Frage: Neben der DNA-Methylierung ist die Modifikation von Histonen ein zweiter wichtiger Epigenetischer Mechanismus. Welche der folgenden Aussagen sind korrekt? (Bitte kreuzen Sie alle korrekten Antworten an)

- ☐ Histon-Acetylierung und Histon-Methylierung beeinflussen die Transkription über den selben, auf elektrostatischen Prinzipien beruhenden molekularen Mechanismus.
- ☒ Histon-Modifikationen beeinflussen DNA-Transkription primär dadurch dass sie die Packung der DNA in Nukleosome beeinflusst und somit die physischen Zugänglichkeit der DNA verändert.
- ☐ Anbindung an Histone führt zu einer Aufwindung der DNA, wodurch die *major groove* vergrößert wird und wodurch wiederum die Bindung und Aktivität der RNA Polymerase verbessert wird.

Lernziel aus Epigenetik: Sie kennen die molekularen Mechanismen die der Epigenetik zugrunde liegen.

14) Frage: Sie wissen was Organoidkulturen sind und wie sie therapeutisch eingesetzt werden. **immortalisierte Zellkultur (?)**

Frage: Worin besteht der Vorteil einer Organoid Kultur gegenüber einer traditionellen Zellkultur? Was sind die Nachteile von Organoid Kulturen?

Organoidkulturen sind länger haltbar und können manchmal auch besser untersucht werden (z.B. HPA1 Zelllinie ist haploid in allen Chromosomen bis auf Chr. 8 und 15).

Lernziel aus Krebsgenetik: Sie wissen was Organoidkulturen sind und wie sie therapeutisch eingesetzt werden.

Eine Organoidkultur ist nicht der normal state of operandi einer Zelle.

15) Frage: Worin besteht der Unterschied zwischen dem traditionellen Reinkultivierungsansatz und dem metagenomischen Ansatz der Mikrobiologie und wie hat letzterer unser Bild der mikrobiologischen Artenvielfalt verändert.

Lernziele aus Metagenomik: a) Sie können beschreiben, wie metagenomische Sequenzen generiert werden. (*next-generation sequencing*, PCR Methoden). b) Sie können erklären wie man Metagenomsequenzen individuellen Genomen zuordnet.

Unterschied: Generierung von Sequenzen und Identifizierung der Sequenzen in metagenomischen Ansätzen erfordern erstens eine Methode zur Trennung der metagenomischen Informationen und zweitens muss unter Gebrauch von bioinformatischen Tools den Sequenzen ein Organismus oder OTU zugeordnet werden. In einer Reinkultur weiss man bereits, was man genommen hat und das Genom wird normalerweise auf Mutationen dann untersucht.

Metagenomische Ansätze erlauben es uns die Organismen besser in ihrer normalen Umgebung zu untersuchen und dessen Interaktionen (Austausch von Metaboliten, Aktivierung von Schutzmechanismen etc.) zu verstehen.

Abschlussfrage

Entwerfen Sie bitte eine genetische Studie. Verwenden Sie dabei eine oder mehrere der Techniken, die Sie im GGB-Kurs kennengelernt haben. Halten Sie den Text bitte knapp (ca. 2 Seiten max.) und verwenden Sie z.B. Diagramme oder Zeichnungen, wo dies sinnvoll ist.

Wählen Sie einen dieser vier Themenbereiche

- **Alkohol-Toleranz**
- **Regulation des Zellwachstums**
- **Resistenz gegen chemotherapeutische Medikamente**
- **Effizienz eines Biosynthese-Pathways**

Ihre Beschreibung sollte die folgenden Punkte ansprechen und Ihre jeweilige Wahl bezüglich Vor- und Nachteilen diskutieren:

- Genaue Zielsetzung (welche Frage soll die Studie beantworten?)
- Wahl des (Modell-) Organismus
- Quelle der genetischen Diversität (z.B. verwendete Mutagenesemethode oder Wahl einer genetisch diversen Population)
- Selektions- Screening- oder Messmethode des Phänotypen
- Methode zur Identifizierung des verantwortlichen Genlocus.
- Follow-Up / Nächste Schritte

Ihre Antwort wird nach drei Kriterien beurteilt.

Kreativität: Ist die Herangehensweise originell, die Frage interessant und werden die verwendeten Methoden auf kreative Art und Weise eingesetzt bzw. verbunden?

"Handwerkliche" Qualität: Könnte die Studie so wie geplant durchgeführt werden, sind die Experimente technisch und logistisch machbar, und würden die Experimente die gestellte Frage beantworten?

Qualität der Diskussion: Werden Vor- und Nachteile des gewählten Ansatzes / Modellsystems und deren Alternativen diskutiert? Werden potentielle Probleme vorhergesehen und angesprochen?