

124

1. Das Hormon Insulin dockt an Rezeptoren der Zielzellen (Muskelzellen oder Zelle der Leber (Glykogenspeicher)). Blut transportiert das Hormon an die Zielzellen. Würde Insulin im Magen ankommen würde der PH-Wert von 1 dieses Peptid denaturieren sowie das Enzym Pepsin das Insulin in seine Aminosäuren aufspalten (inaktivieren). Ebenso diffundiert das Insulin im Hautfettgewebe langsam in Richtung Blutkreislauf und wirkt über einen Zeitraum. Würde es direkt in den Blutkreislauf gespritzt werden fiele der Blutzuckerspiegel zu stark ab was den Tod herbeiführen würde.

2. Die grundlegende Voraussetzung ist die Universalität des genetischen Codes. Da alle Lebewesen denselben Code verwenden, erzeugt derselbe DNA-Abschnitt in unterschiedlichen Organismen das gleiche RNATranskript. Sofern das fremde Gen überhaupt abgelesen wird, sind weitere Voraussetzungen, dass dieselben Bereiche als Exons dienen und das Transkript beim Spleißen gleich behandelt wird.

3. Da Bakterien wie Escherichia coli nach der Transkription kein Spleißen durchführen, ist ein Isolierungsverfahren vorzuziehen, das sicherstellt, dass der DNA-Abschnitt keine Introns enthält. Dies ist der Fall, wenn von der m-RNA ausgegangen wird, da diese keine Introns mehr enthält. Ebenso kann bei einer künstlichen Erzeugung des DNA-Abschnitts die richtige Aminosäuresequenz ermöglicht werden. Geeignet sind also die beiden letzten Isolierungsverfahren.

127

1. Es wurde mit EcoR1 geschnitten.

2. Damit die Enden der DNA-Abschnitte zusammenpassen, müssen diese mit demselben Restriktionsenzym geschnitten werden. Falls klebrige Enden vorhanden sind, ist die Zusammenlagerung leichter.

3. Da die Schnittstelle im Marker-Gen 1 liegt, wird dieses Gen durch das Einfügen eines Fremd-Gens unwirksam. Fehlt also das Produkt von Marker 1 ist dies ein Hinweis darauf, dass das Fremd-Gen erfolgreich eingefügt wurde. Es könnte aber auch sein, dass das Genprodukt von Marker 1 deshalb fehlt, weil das Plasmid nicht vorhanden ist. Marker 2 ist notwendig, um sicherzustellen, dass das Plasmid vorliegt und abgelesen wird. Wenn also Genprodukt von Marker 2 nachgewiesen werden kann, jedoch das Genprodukt von Marker 1 fehlt, kann davon ausgegangen werden, dass ein transgenes Plasmid vorliegt.

Zielorganismen	geeignete Vektoren
Bakterien	Plasmide (Transformation), Bakteriophagen, Elektroporation, Liposomen
Pflanzenzellen	Agrobacterium tumefaciens, particle gun, Elektroporation (bei Protoplasten), Liposomen (bei Protoplasten)
Tierzellen	Viren, Mikroinjektion, Elektroporation, Liposomen

4.

1. Plasmide können in Bakterienzellen gut vermehrt werden und lassen sich leicht isolieren. Sie sind groß genug, um fremde DNA-Abschnitte einzufügen und klein genug, um durch Transformation in Bakterienzellen aufgenommen zu werden.
2. Prinzipiell besteht immer die Möglichkeit, dass DNA-Abschnitte aus der Nahrung nicht vollständig verdaut werden und von Bakterien der Darmflora aufgenommen werden. Die Wahrscheinlichkeit ist allerdings nicht besonders hoch. Falls jedoch Antibiotikaresistenzgene durch Bakterien der Darmflora aufgenommen werden, sind negative Folgen denkbar.
3. Damit können Plasmide unter Bakterienstämmen ausgetauscht werden. Da natürliche Plasmide oft Resistenzgene gegen Antibiotika enthalten, ist die Konjugation ein Vorgang, der die Entstehung von neuen antibiotikaresistenten Stämmen fördert. Es ist auch denkbar, dass ein Bakterium durch die Aufnahme von mehreren Plasmiden gegen unterschiedliche Antibiotika resistent wird.
4. Antibiotika möglichst selten einsetzen, damit möglichst wenig resistente Stämme gebildet werden. Bei der Verwendung eines Antibiotikums ausreichend lange und hoch dosieren, damit die Bakterien sicher abgetötet werden.
5. Ein Bakteriophage befällt ein Bakterium eines lac⁺-Stamms. Dabei entstehen neue Bakteriophagen, die auch das Gen lac⁺ enthalten. Bei der nachfolgenden Infektion von lac⁻ Bakterien gelangt das lac⁺-Gen in die Zellen und wird in das Bakteriengenom integriert.

	<i>Transformation</i>	<i>Konjugation</i>	<i>Transduktion</i>
<i>Gemeinsamkeiten</i>	<i>Übertragung von Erbinformation auf Prokaryoten (Bakterien)</i>		
<i>Unterschiede</i>	<i>Aufnahme von freier DNA (z. B. Plasmid)</i>	<i>Austausch von DNA zwischen zwei Bakterien</i>	<i>Übertragung von DNA zwischen Bakterien durch Bakteriophagen</i>

- 6.
7. Der Neuraminidase-Subtyp N2 muss von einem menschlichen Virus stammen und der Hämagglutinin-Subtyp H3 von einem Vogel-Virus.
8. Die Wahrscheinlichkeit, dass eine bestimmte Zelle gleichzeitig von zwei verschiedenen Viren infiziert ist, steigt. Damit ist es eher möglich, dass durch Reassortment ein neuer Virus-Subtyp entsteht.
9. Falls ein Bakterium, das gegen ein Antibiotikum resistent ist, durch Konjugation oder Transduktion Erbinformation mit einem Bakterium austauscht, das gegen ein anderes Bakterium resistent ist, kann es vorkommen, dass ein Bakterium entsteht, das gegen beide Antibiotika resistent ist. Das Bakterium muss dazu beide Resistenzgene enthalten.

1.) Schnittstelle des Plasmids für Restriktionsenzym liegt im β -Galaktosidas-Genabschnitt. Wird die Fremd-DNA eingefügt findet diese an dieser Stelle statt. Daher wird das β -Galaktosidas-Gen ausgeschaltet. Keine Galaktosidase kann verstoffwechselt werden und dazu kann auch kein Farbstoff synthetisiert werden.

2.) Laktose = Das Disaccharid Laktose besteht aus einem Molekül Galaktose und einem Molekül Glucose.

Lac -Operon: Regulatorgen erstellt einen Repressor. Ohne Lactose bindet der REpressor (Aktiv) an den DNS-Abschnitt (Operator) und blockiert die Transkription. Mit Lactose wird REpressor (Inaktiv) und Operator kann abgelesen werden. Lactose spaltende Enzyme werden gebildet und bauen dies ab. Auch am Repressor wird schlussendlich die Lactose abgebaut und der Syntheseweg reguliert sich von selbst ab.

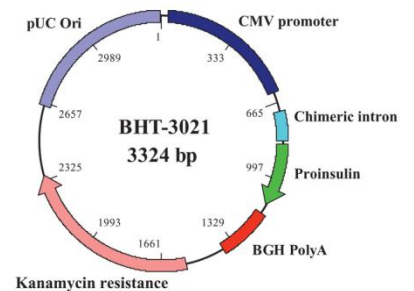
Vermehrung der Bakterien: Wachstumsphase sollte ohne Lactose erfolgen da die Zellen sonst nur beschäftigt sind Laktose abzubauen und Enzyme für deren Abbau zu produzieren (in unserem Fall Insulin herzustellen). Dies schont Ressourcen und ermöglicht ein schnelleres Wachstum der Bakterien.

3. a.) BHT-3021 (Name des gentechnisch veränderten Plasmids)

3324 (Größe des Vektors hier in Basenpaare(Bp) angegeben)

pUC Ori (Replikationsursprung hier findet die Replikation statt und das Plasmid wird auch weitervererbt)

cmv Promotor (Regulator für Genaktivität, bestimmt Substanzen aktivieren / inaktivieren die Gene des Plasmids)



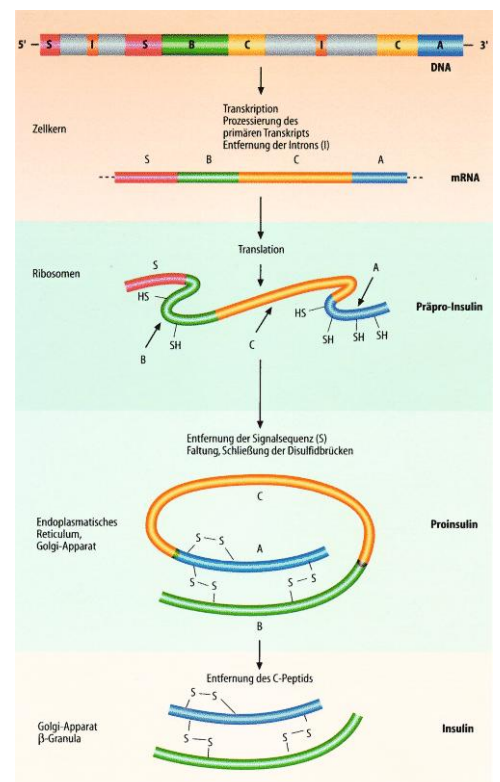
Chimeric intron(künstliches Intron welches die Prozessierung der entstandenen mRNA aktiviert [Poly-A Schwanz und Guanodin-Kappe um den Abbau der DNA zu verhindern] [wir sind hier in Bakterien wollen aber Eukaryotische DNA transkribieren!])

Proinsulin gen (Zielstruktur \rightarrow A- und B-Kette des Insulins müssen direkt hintereinander liegen)

Kanamycin (Antibiotikaresistenz)

b.)

Gentechnische Herstellung von Insulin= Zwei veränderte Plasmide werden in zwei Bakterienstämme überführt. Bakterium A produziert A-Kette des Insulins; Bakterium B produziert B-Kette. Zusammenfügen der Ketten unter Abspaltung von Galaktose und fertig ist das Insulin (siehe S. 131 Abbildung 2).



Proinsulin wird von Bauchspeicheldrüsenzellen durchgehend translatiert. Enzyme schneiden das Proinsulin in das fertige Insulin.

Vorteile sobald man die (prozessierte) mRNA dieses Proinsulin kennt, benötigt man nur einen transgenen Organismus. Es braucht zum Schluss nur ein Enzym welches das Proinsulin in Humaninsulin umwandelt. Die Transgenen Bakterien müssen nicht mehr abgetötet werden wenn genug Wirkstoff vorhanden ist.

Info: Die As (Aminosäure) Cystein bildet Disulfidbrücken.

(Bei der ersten gentechnischen Herstellung von Insulin war es noch nicht möglich DNA-Abschnitte von solcher Größe in Plasmide zu integrieren.)

S. 133

1. In beiden Fällen handelt es sich um eine Vervielfältigung von DNA. Allerdings wird bei der Replikation das gesamte Genom einmal kopiert, während bei der PCR nur ein Abschnitt mehrfach kopiert wird.

	<i>A</i>	<i>a</i>
<i>A</i>	<i>AA</i>	<i>Aa</i>
<i>a</i>	<i>aA</i>	<i>aa (krank)</i>

2.

3. Seine DNA-Polymerase wurde bei jedem Denaturierungsschritt durch die Hitze zerstört. Er musste also vor jedem Syntheseschritt neue DNA-Polymerase zugeben. Dieses Vorgehen war zwar langwierig und teuer, führte aber auch zum Erfolg.

4. Die Primer müssen zu Sequenzen vor und nach dem zu kopierenden Abschnitt komplementär sein, die sonst im Genom nicht vorkommen. Dies ist durch entsprechend lange Primer möglich. Je länger ein Primer ist, desto seltener kommt die komplementäre Sequenz im Genom vor.

5. Das Gel zeigt für die Tiere A - F das Ergebnis des Restriktionsverdaus mit Cfo I. Nur das gesunde Allel wird durch das Restriktionsenzym in zwei Abschnitte geschnitten. Die Abschnitte sind 293 und 186 Basenpaare lang. Ein gesundes Allel erzeugt zwei Banden bei 293 bp und bei 186 bp. Ein verändertes (krankes) Allel wird nicht geschnitten und bildet eine Bande bei 479 bp. Bei heterozygoten Tieren liegt ein normales und ein verändertes Allel vor und daher finden sich in diesen Fällen drei Banden. Ergebnis: Kranke Tiere (rezessiv) sind A, C und D. Gesunde Überträger (heterozygot) sind die Tiere B und F. Nur das gesunde Tier E ist homozygot und für die Weiterzucht geeignet.

6. Durch die Anlagerung wird die Replikation gestört und es kommt vermehrt zu Mutationen (z. B. Rastermutationen). Je mehr Mutationen sich in einer Zelle ansammeln, desto höher ist das Risiko, dass daraus eine Krebszelle entsteht.