

Fragen zur Wiederholungsklausur SS 2007
Vorlesung Mikrobiologie
G. Fuchs

Frage:

Nennen Sie die 5 Teilschritte, über die man von einer Umweltprobe anhand der in ihr vorliegenden 16s-rRNA-Gene der Mikroorganismen zum Mikробeninventar dieser Probe kommt.

Antworten:

1. DNA-Extraktion
2. PCR-Amplifikation des rRNA-Gens mit geeigneten Primern
3. Clonierung des DNA-Fragments in einen Vektor
4. Transformation des Vectors in *E. coli* und Isolierung von *E. coli*-Clonen
5. Plasmidisolierung aus den Clonen, Sequenzierung und Datenbankanalyse

Frage 2: Genetische Untersuchungen haben in der Entwicklungsbiologie zur Aufklärung der Musterbildung entlang der anterioposterioren Achse der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* geführt. Kein anderes Tier ist heute in seiner Entwicklung so gut verstanden.

- a) Erklären Sie die Begriffe "maternales Gen" (auch "Maternaleffektgen") und "zygotisches Gen"**
- b) Wie sieht das prinzipielle Organisationsschema der genetischen Kontrolle der zygotischen Musterbildung entlang der anterioposterioren Achse aus (bis zur Bestimmung der Segmentidentität)?**
- c) Beschreiben Sie kurz die Rolle der einzelnen Klassen der an diesen Vorgängen beteiligten maternalen und zygotischen Gene.**

Antworten

Teil a

Maternale Gene

Gene des maternalen Genoms (Fliegen-Weibchen) können sowohl im allgemeinen Gewebe ("somatisch") als auch in der Keimbahn aktiv sein.

Nur wenn die Weibchen genetisch m / m (homozygot mutant) sind, zeigen die Embryonen Defekte. Dabei ist der Genotyp der Embryonen nicht entscheidend (z.B. $m/+$ wenn das Männchen der Kreuzung ein Wildtyp war $[+/+]$)

Die maternalen Genprodukte (mRNA bzw. Protein) werden ins Ei transportiert, oder wirken entscheidend bei der Bildung der Oocyte.

Zygotische Gene

Zygotische Gene sind solche, die im Embryo selbst von den DNA Strängen im Kerne abgelesen werden (=transkribiert werden)

Zygotische Gene zeigen den mutanten Phenotyp nur, wenn der Embryo selbst nur mutante Genkopien trägt (m / m); Die Elterntiere sind heterozygot ($m / +$) Die ersten Gene des jungen Embryos werden im synzytialen Blastoderm Stadium exprimiert

Teil B

Hierarchische Interaktion der Kaskade der Musterbildungsgene Koordinatengene (maternale Gene)

Segmentierungsgene (Gapgene; Paarregelgene; Segmentpolaritätsgene) Selektorgene (Homöotische Gene) Teil C Koordinatengene sind maternal exprimiert, die zur Bildung von Konzentrationsgradienten oder Aktivitätsgradienten der maternalen Morphogene führen. Diese Morphogene vermitteln den zygotischen Zellkernen Positionsinformation.

Gapgene kodieren Transkriptionsfaktoren, deren Lokalisation und Aktivität durch die Konzentration der Anterior-posterioren Achsendeterminanten (Morphogene) und durch gegenseitige Aktivierung bzw. Repression bestimmt wird. Sie erzeugen eine grobe Untergliederung der Längsachse des Embryos.

Paarregelgene stehen unter der Transkriptionskontrolle der Gapgene. Sie erzeugen das segmentale Muster des Embryos. Für die primären Paarregelgene hairy, even-skipped und runt wird jeder Expressionsstreifen durch kombinatorische Regulation verschiedener Gapgene kontrolliert. Sekundäre Paarregelgene wie z.B. fushi tarazu stehen unter der Kontrolle der primären Paarregelgene

Segmentpolaritätsgene haben die Aufgabe, das Zellmuster innerhalb eines Segments zu kontrollieren. Sie stehen unter der Kontrolle der Paarregelgene

Homöotische Gene bestimmen die Identität der einzelnen Segmente

Die Expression der homöotischen Gene wird von Gapgenen und Paarregelgenen kontrolliert

Homöotische Gene besitzen eine Homöodomäne, die den Proteinen erlaubt, spezifisch an DNA zu binden und Zielgene zu regulieren

Homöotische Gene spielen nicht nur in der Frühentwicklung eine Rolle, sondern bestimmen auch die Identität der Imaginalscheiben (Selektorgene)

Homöotische Gene sind im Genozoll kolinear angeordnet, d.h. in der selben Reihenfolge, lokalisiert, wie sie in antero-posteriorer Ordnung im Embryo expliziert werden! Verlust der Aktivität von einem homöotischen Gen führt im allgemeinen zu anterioren

Transformationen (z.B. Haltere in Flügel bei "Ultrabithorax")

Überexpression oder dominante Mutanten erzeugen häufig posteriore Transformationen (z.B. Antenne in Bein bei "Antennapedia")

Das Muster der homöotischen Gene wird auf Dauer erhalten durch die Funktion der "Polyhomöotischen Gene", wie z.B. Polycomb, die an der Regulation vieler Gene beteiligt sind

Biochemie

Vordiplom 2007

Atmungskette

1. Welche Reaktionen des Citratzyklus erzeugen Produkte, die in der Atmungskette umgesetzt werden? Geben Sie jeweils auch die Substrate an.
2. Mit welchen Komplexen der Atmungskette reagieren diese Produkte? Was entsteht dabei?
3. Erklären Sie, wie durch die Atmungskette nutzbare Energie erzeugt wird! Worin besteht diese Energie? Beschreiben Sie die Beiträge oder geben Sie die Gleichung!
4. Erläutern Sie am Aufbau und dem Mechanismus der ATP-Synthase, wie viel ATP beim Umsatz eines NADH in der Atmungskette im Idealfall erzeugt werden kann.

Antworten

Zu 1.

Es sind die Oxidationen durch Dehydrogenasen:
NADH wird erzeugt durch Oxidation von Isocitrat, α -Ketoglutarat und Malat, FADH_2 wird erzeugt durch Oxidation von Succinat.

Zu 2.

NADH wird durch den Komplex I (bzw. den NADH-Dehydrogenase-Komplex oder NADHUbichinon-Oxidoreduktase),
 FADH_2 durch Komplex II (bzw. die Succinat-Ubichinon-Reduktase) oxidiert.
Es entsteht Ubichinol.

Zu 3.

Der Elektronentransfer von NADH über die Komplexe I, III und IV bewirkt je einen Transfer von 4 Protonen von der Matrix in den Intermembranraum. Dadurch entsteht ein elektrisches Feld und ein Protonengradient, die zusammen die Energie (das elektrochemische Potential) der Protonen bestimmen.

Zu 4.

Die ATP-Synthase besteht aus einem Membranteil mit einem Ring aus 11 (E.coli 12) Lipoproteineinheiten, die je ein Proton binden können, und einem Kopfteil aus 3 Alpha- und 3 Betauntereinheiten. Eine Drehung dieses Rings bewirkt über die Gammauntereinheit die Synthese von 3 ATP in den Beta-Untereinheiten des Kopfes. Die 12 Protonen (vorige Frage) erzeugen also $12/11 \cdot 3 = 3,3$ ATP.

Prüfungsfragen zur Molekularen Immunologie

Frage 1:

Im Gegensatz zu B-Lymphozyten, welche über Ihren Antigenrezeptor fremde Stoffe erkennen, erkennt der T-Zellrezeptor (TZR) auf T-Lymphozyten eine Kombination aus eigenen und fremden Molekülen.

- A) Welche eigenen und fremden Moleküle erkennt der TZR?
- B) Welche Selektionsprozesse führen dazu, dass der TZR die "richtigen" eigenen und fremden Moleküle erkennt?
- C) Wo finden diese Prozesse statt?-
- D) Welche grosse Gruppe von Erkrankungen basiert auf Fehlern im Verlauf dieser Prozesse?

Antwort:

- A) Der TZR erkennt die Kombination aus eigenem MHC (Haupthistokompatibilitätskomplex)-Molekül und Fremdpeptid.
- B) Durch die sogenannte positive Selektion überleben nur T-Zellen, welche einen TZR besitzen, der die Molekülen des eigenen Organismus korrekt erkennt. Durch die daraufhin folgende, lokal getrennte negative Selektion, werden alle T-Zellen eliminiert, welche im Kontext des eigenen MHC auch eigene Peptide erkennen. Dadurch wird sichergestellt, dass die T-Zellen keine eigenen Strukturen des Organismus erkennen und angreifen.
- C) Im Thymus; positive Selektion im Cortex und negative Selektion in der Medulla (an medullären Epithelzellen).
- D) Autoimmunerkrankungen

Frage 2:

Beschreiben sie die Bedeutung der T-Helfer-Zellen im Immunsystem!

Antwort:

T-Helfer-Zellen sind nicht an der direkten Beseitigung von Fremdstoffen beteiligt. Ihre Funktion liegt in der Bereitstellung zusätzlicher Signale, die die Effektorzellen zur vollständigen Aktivierung benötigen. Dazu sekretieren die T-Helfer-Zellen nach ihrer eigenen Aktivierung verschiedene Zytokine (z.B. IFN- γ , IL-2, -4, -5 u.a.). Diese führen bei den Effektorzellen (zytotoxische T-Lymphozyten, Makrophagen, B-Lymphozyten) typspezifisch zur Attraktion, Aktivierung oder weiterführenden Differenzierung. Die T-Helfer-Zellen werden in Th1 und Th2 unterteilt. Diese verfügen über ein unterschiedliches Expressionsmuster an Zytokinen.

S 07

(a) Nennen Sie 5 Eigenschaften von *Escherichia coli*, die zur Identifizierung dieses Bakteriums beitragen

Antwort

z. B. Stäbchenform, keine Sporenbildung, fak. Anaerob, Gram-negativ, Oxidase-negativ, Laktose-Verwertung, Indol-Freisetzung, keine H₂S-Bildung

SS 07 Grundkurs Mikrobiologie, Graumann

a) Was wissen Sie über die Wurzelknöllchen von Leguminosen (beteiligte Organismen, Skizze des Aufbaus, Funktion, wie unterscheiden Sie „taube“ von „aktiven“ Knöllchen)? Was ist Leg-Hämoglobin, was ist seine Funktion ?

6 P.

b) Was sind Flechten (beteiligte Partner, Skizze des Aufbaus)?

4 P

Antwort:

Zu a): Symbiosen von *Rhizobium* spp., Skizze, dient der N₂-Fixierung, taube Knöllchen sind farblos, aktive rötlich (durch Leghämoglobin)

Von der Pflanze synthetisiertes Protein mit Häm-Anteil, sorgt für O₂-Partialdruck, der die Nitrogenase nicht zerstört und zugleich die O₂-Versorgung von *Rhizobium* sichert.

Zu b): Doppelorganismen von Pilz mit Grünalge oder Cyanobakterium, Skizze des Aufbaus

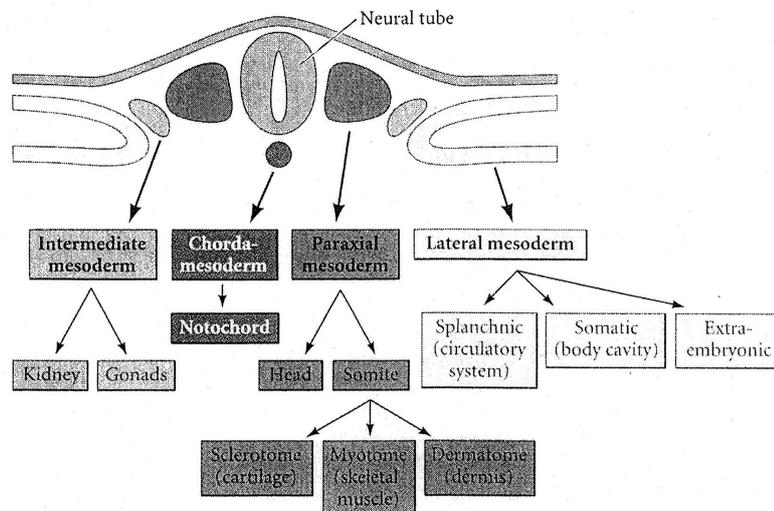
11.10.07

Frage 2: Mesodermderivate bei Vertebraten

- Beschreiben oder skizzieren Sie die Gliederung des Mesoderms entlang der mediolateralen Körperachse in einem 2 tägigen Hühnerembryo und listen Sie auf, was aus den verschiedenen Bereichen des Mesoderms im weiteren Verlauf der Entwicklung bis zum Schlüpfen entsteht.
- Die Funktion der Chorda dorsalis kann in Hühnerembryonen mit Hilfe mikrochirurgischer Experimente untersucht werden. Erläutern Sie, was nach Entfernung der Chorda, sowie nach Transplantation einer zweiten Chorda neben die dorsale Hälfte des Neuralrohrs passiert. Leiten Sie hieraus die Bedeutung der Chorda für die Entwicklung der umliegenden Gewebe ab.

Antwort:

a)



Chorda: Nukleus pulposus der Bandscheiben

Sklerotom: Knorpel und Knochen der Wirbelsäule, proximaler Teil der Rippen

Splanchnopleura: Herz, Blutgefäße, Mesodermaler Anteil der Organe des Verdauungstrakts

Somatopleura: Ventrale Leibeswand, Knorpel, Knochen und Bindegewebe der Extremitäten

b) Bei frühzeitiger Entfernung der Chorda bildet sich in den Somiten kein Sklerotom und im Neuralrohr keine Bodenplatte und keine Motoneurone. Bei Transplantation einer zusätzlichen Chorda wird im Neuralrohr eine zusätzliche Bodenplatte induziert, und im Somiten die Bildung des Dermomyotoms inhibiert und ektopisch Sklerotom gebildet. Diese Experimente belegen, dass die Chorda Signale produziert (Shh), die im Neuralrohr Bodenplatte und Motoneurone, und im Somiten auf der ventralen Seite Sklerotom induzieren.