

GentechnoLOGISCH - Arbeitsblatt Nr. 1

LÖSUNGEN

Fragen zu Kapitel "Labor, Werkzeuge und Geräte"
 Kapitel "Arbeitsmaterial und Grundtechniken"
 Kapitel "Schneiden und Kleben"

- 1.1) a) + b) Vergleiche Abbildung "Wandtafel" auf Seite 9
- 1.2) a) Mikroliter
 b) 35ml
 c) 10 μ l
- 1.3) a) Mit der 200 μ l-Pipette
 b) Mit der 20 μ l-Pipette (am besten 2 x 11 μ l)
 c) Mit der 200 μ l-Pipette (am besten 3 x 200 μ l)
 d) Solange es von der Effizienz her vertretbar ist, arbeitet man immer mit der kleinstmöglichen Pipette, da so grössere Genauigkeit gewährleistet ist. Würde man bei b) 22 μ l mit der 200 μ l-Pipette übertragen, wäre die Genauigkeit sicherlich geringer als wie vorgeschlagen.
- 1.4) **Elektrophorese:** Grösse der Stoffe (je kleiner ein Stoffteilchen, desto rascher kommt es voran)
Zentrifuge: Gewicht der Stoffe (je schwerer ein Stoffteilchen, desto rascher sinkt es ab)
- 1.5) **Vergleichbar:** Bearbeitungsmöglichkeiten, wie man sie in der Schreinerei mit einem Stück Holz auch hat: Man kann DNA schneiden, sortieren, kleben.
Nicht vergleichbar: DNA ist nicht einfach nur Arbeitsmaterial, sondern Informationsträgerin. DNA kann man kopieren, Holz nicht.
- 1.6) Name: Englisch: Deoxyribonucleic acid (DNA), Deutsch: Desoxyribonukleinsäure (DNS)
Bau/Baueinheiten: Eine Kette hintereinander liegender Baueinheiten. Normalerweise zwei dieser Ketten zusammen vorliegend = doppelsträngige DNA. Nehmen die Form einer Doppelhelix ein - ähnlich zwei sich umeinander windender Wendeltreppen.
Baueinheiten der DNA = Nucleotide - liegen in vier verschiedenen Versionen vor. Unterscheiden sich in einer chemischen Verbindung, der Base. Die vier in der DNA vorkommenden Basen heissen Adenin, Thymin, Guanin und Cytosin.
Neben der Base besteht ein Nucleotid noch aus einem Zucker-Phosphat-Teil, über den die einzelnen Nucleotide miteinander verkettet sind. Einzelner DNA-Strang besteht also aus einem Zucker-Phosphat-Rückgrat, an dem die Basen hängen. Jede Base hat ein passendes Gegenstück, mit dem sie sich zusammenlagert und ein so genanntes Basenpaar bildet. Adenin und Thymin passen zusammen, ebenso Cytosin und Guanin. Über die Bildung solcher Basenpaare ergänzen sich zwei Einzelstränge zu einem DNA-Doppelstrang - aussen die beiden Rückgrate, innen die gepaarten Basen.
Skizze: Siehe Abbildung "DNA-Doppelstrang" auf Seite 11 in der Broschüre
Grösse: Durchmesser zwei Millionstel Millimeter, Länge bis mehrere Zentimeter möglich.
Funktion: Trägt die Informationen für den Bau von biologischen Materialien. Hat die Funktion eines Bauplanes. Die Informationen sind in der Abfolge der kettenförmig hintereinander liegenden Baueinheiten der DNA gespeichert.

- 1.7) Die Informationen sind in der Abfolge der kettenförmig hintereinander liegenden Baueinheiten (Nucleotide) der DNA gespeichert. Um diese Information abzulesen, muss man die Abfolge der Nucleotide bestimmen. Diesen Vorgang nennt man Sequenzieren, er wird heute vollautomatisch durchgeführt. Als Resultat erhält man die Sequenz des gewünschten DNA-Moleküls. Die Sequenz ist geschrieben mit den Anfangsbuchstaben der vier Basen Adenin, Guanin, Cytosin und Thymin. Sie könnte für ein 10 Nucleotide langes DNA-Molekül z.B. lauten: AGGCCTATAT.
- 1.8) Um die Frage zu beantworten muss man wissen, welches Nucleotid mit welchem ein so genanntes Basenpaar bildet. Adenin paart sich mit Thymin, Guanin mit Cytosin. Das Übersetzen der gegebenen Sequenz in die komplementäre Partnersequenz ist dann ganz simpel:

AATTGCGGATTCGAACTTAAG
TTAACGCCAAGCTTGAATTC

- 1.9) Die Aussage ist NICHT korrekt, denn die Restriktionsenzyme wurden vom Forscherteam nicht erfunden, sondern lediglich entdeckt. Die Enzyme kommen natürlicherweise in Bakterien vor. Bakterien sind denn auch die wahren "Erfinder" oder "Entwickler" der Restriktionsenzyme. Sie können sich dank diesen Enzymen, die fremde DNA zerschneiden, gegen die Infektion von Bakterienviren, so genannter "Phagen", wehren. Restriktionsenzyme sind also so etwas wie ein Immunsystem von Bakterien.
- 1.10) Restriktionsenzyme sind extrem wählerisch was ihr Substrat betrifft (Substrat = Stoff, der verdaut wird). Sie erkennen nur gerade eine spezifische - von Restriktionsenzymtyp zu Restriktionsenzymtyp unterschiedliche - DNA-Sequenz und schneiden den Doppelstrang nur dort nach einem typischen Muster. Ihre Aktivität ist also abhängig von sehr *restriktiven* Bedingungen, d.h. sie findet nur äusserst eingeschränkt statt. So kommen die Restriktionsenzyme zu ihrem Namen.

- 1.11) a) **ACTTAGGATA**
TGAATCCTATTCTGA
- AGCTTGCCTAATGCGATAGCGTATATACAA**
ACGGATTACGCTATCGCATATATGTTTA
- ATTTGGGCAGCCCAGGACCGAT**
AACCCGTCGGGTCCTGGCTA

- b) Die überhängenden Schnittstellen nennt man "klebrige Enden", auf Englisch = "sticky ends". Der Grund dafür ist, dass Schnittstellen, die vom gleichen Restriktionsenzym stammen, aufeinander passen - mehr noch: sich gegenseitig anziehen. Die Enden sind klebrig (für einander).
- c) Die Erkennungssequenzen der meisten Restriktionsenzyme sind so genannte Palindrome, d.h. ihre Sequenz kann in beide Richtungen gelesen werden und lautet dabei gleich. Der Grund dafür ist, dass die meisten Restriktionsenzyme spiegelsymmetrisch gebaute Proteine sind. Sie lagern sich beidseitig, also an den "oberen" und den "unteren" Strang der doppelsträngigen DNA gleichermassen an, danach wird mit dem gleichen Mechanismus sowohl oben als auch unten geschnitten.

- 1.12) Die beiden überhängenden Enden passen aufeinander - sie sind klebrig (für einander). Die beiden Moleküle werden sich unter geeigneten Bedingungen (Zusammensetzung der Flüssigkeit, Temperatur) folglich zusammenlagern:

AAACTTAGGATAGAAATTCGGGCTCCCCGAAAAAGCGCC
TTTGAATCCTATCTTAAGCCCGAGGGGCCTTTTTCGCGG

Die Veränderung ist aber nur temporär - die beiden Stücke können auch wieder auseinander fallen. Sie werden nur über die Wasserstoffbrücken (relativ schwache chemische Bindungen), welche sich zwischen den Basenpaaren ausbilden, zusammengehalten. Das Zucker-Phosphat-Rückgrat ist noch immer geteilt.

Endgültig zu einem stabilen Doppelstrang werden die beiden DNA-Stücke erst, wenn das Enzyme "Ligase" zugegeben wird. Es verbindet die Zucker-Phosphat-Rückgrate.