

GentechnoLOGISCH - Arbeitsblatt Nr. 3

Fragen zu Kapitel "Bakterien - die Nutztiere der Gentechnologie"
 Kapitel "Kettenreaktion"

- 3.1) Unten findest du einen kurzen Text über das Bakterium E.coli. Er enthält einige Falschaussagen. Finde sie und korrigiere.

Das Bakterium E.coli lebt natürlicherweise als bösartiger Parasit in unserem Verdauungstrakt. Es ernährt sich von unserer Nahrung, wir selber profitieren nicht von dem winzigen Gast. A propos winzig - der Einzeller hat ungefähr die Länge von einem Mikrometer. Das ist ein Zehntel eines Millimeters. Die Abkürzung E.coli steht übrigens für den wissenschaftlichen Namen "Exkrementum coli" des Bakteriums. Den Namen bekam es - naheliegenderweise - da es in Exkrementen zu finden ist. E.coli ist aber nicht nur ein Mitbewohner des Menschen (und vieler Tiere), sondern auch ein enorm wichtiges Hilfsmittel der Gentechnologie. Praktisch jedes gentechnologisch arbeitende Labor benutzt das Bakterium. E.coli ist so etwas wie das Nutztier der Gentechnologie. Die im Labor verwendeten Bakterien haben alle exakt identische Eigenschaften und unterscheiden sich auch von ihren Kollegen im menschlichen Verdauungstrakt in keiner Weise. E.coli lässt sich ausschliesslich auf festem Medium - so genannten Agarplatten züchten. Gewisse Restriktionsenzyme stammen ursprünglich auch aus E.coli - zum Beispiel das Restriktionsenzym EcoRI.

- 3.2) Bakterien transformieren
- Was bedeutet der Ausdruck "Transformation von Bakterien"?
 - Schildere die in der Broschüre beschriebene Variante einer Transformation in eigenen Worten.
- 3.3) Der Transformation folgt zwingend die Selektion.
- Erkläre den Grund dafür.
 - Erläutere den Vorgang der Selektion genau.
- 3.4) Hast du dir schon einmal überlegt, weshalb man Fieber kriegt, wenn man z.B. eine starke bakterielle Infektion hat? Versuche eine Theorie aufzustellen, was der Körper damit eventuell erreichen möchte.
- 3.5) Mache dir einige Gedanken zum von Ella angesprochenen Problem der antibiotikaresistenten Bakterien in Spitälern. Wie könnte das Problem zu Stande kommen? Wie könnte man ihm wohl begegnen?
- 3.6) Im Kapitel "Kettenreaktion" spielt die DNA-Polymerase eine wichtige Rolle. Das komplizierte Enzym ergänzt einzelsträngige DNA zu doppelsträngiger DNA - es leistet also gewissermassen Kopierarbeit. Im Text der Broschüre ist nicht erwähnt, dass ein DNA-Strang eine Orientierung hat, also ein Vorne und ein Hinten. In der Fachsprache spricht man vom 5'- und vom 3'-Ende (diese Bezeichnung hat einen chemischen Grund, die Erklä-

nung ginge hier zu weit). In einem Doppelstrang ist es konform, beim oberen der beiden Partnerstränge von einer 5'-3'-Orientierung auszugehen, beim unteren von der entgegengesetzten, also von einer 3'-5'-Orientierung. Die DNA-Polymerase arbeitet nur immer in einer Richtung, nämlich 5'-3' (d.h. sie setzt die neuen Nucleotide am 3'-Ende an).

Wenn du mit diesem Wissen im Hinterkopf nun die Abbildung mit den DNA-Strängen und den Polymerasen auf S. 24 der Broschüre betrachtest, sollte es dir möglich sein, eine fachliche Unkorrektheit zu entdecken, die bei der Illustration unterlaufen ist. Beschreibe sie!

- 3.7) Zeichne möglichst aus dem Kopf einen PCR-Zyklus auf. Die genauen Temperatur-Daten und Zeiten sind dabei weniger wichtig als dass du möglichst genau formulierst - oder zeichnest - welche grundsätzlichen Vorgänge wann stattfinden.

(Interessant - aber ziemlich vertrackt - ist in dem Zusammenhang auch, mit einem Molekül zu beginnen und dann aufzuzeichnen, wie sich die Menge von Kopien verhält. Genau dies wurde in der Zeichnung auf S. 26 in der Broschüre gemacht. Du kannst deine Resultate also jederzeit dort vergleichen).

- 3.8) Im zweiten Schritt des PCR-Zyklus wird die Temperatur der Reaktionslösung wieder erniedrigt. Passende DNA-Einzelstränge KÖNNTEN sich wieder zusammenlagern, nachdem die DNA-Doppelstränge im Schritt eins des Zyklus wegen der hohen Temperatur auseinander gefallen sind. Tatsächlich passiert das aber nicht - wieso?

- 3.9) Die Reaktionslösung, die es für die Durchführung der PCR-Reaktion braucht, wird als "PCR-Mix" bezeichnet. Im Text der Broschüre ist nicht ganz vollumfänglich aufgeführt, was seine "Zutaten" sind - die meisten Bestandteile sind aber zumindest an verschiedenen Stellen erwähnt. Mit etwas Überlegen solltest du in der Lage sein, eine komplette Liste mit den benötigten Zutaten aufzustellen. Erkläre auch stichwortartig die jeweilige Funktion.

- 3.10) Unten findest du ein kurzes, doppelsträngiges DNA-Molekül. Den fettgedruckten Teil möchtest du mittels PCR vermehren. Hinweis: Beachte, dass die DNA-Polymerase in die 5'-3'-Richtung arbeitet (falls noch nie davon gehört, bitte Aufgabe 3.6 lesen)

```
5' GCCACACTTTTAAGGAGCTTAAATGACAGAAATCTTCTAGACGTGAGCAAGGGGCGAGGAGCTCTGATAGA3'  
3' CGGTGTGAAAATTCCTCGAATTACTGTCTTTAGAAGATCTGCACTCGTTCCCGCTCCTCTAGACTATCT5'
```

a) Entwirf die beiden nötigen PCR-Primer dazu (Länge: je 10 Nucleotide).

b) Nehmen wir an, du bräuchtest vor und nach dem fett markierten DNA-Abschnitt eine bestimmte Restriktionsenzymchnittstelle. Es gibt eine Möglichkeit, diese mittels PCR einzubauen. Mit dem Hinweis "überhängende Primer" gelingt es dir vielleicht, sie selber herauszufinden.

c) Die PCR kann noch zu weiteren Zwecken dienen als einfach nur zur Vermehrung von DNA. Eine Möglichkeit - das Einführen neuer Sequenzen - hast du in der Teilaufgabe b) bereits kennen gelernt. Immer wichtiger wird die PCR auch im diagnostischen Bereich. Wenn man beispielsweise wissen will, ob in einem Gemisch von DNA-Fragmenten eine bestimmte DNA-Sequenz vorkommt oder nicht. Stelle eine Vermutung an, wie man das wohl tut? Hinweis: Suche nicht zu weit...