

|       |          |
|-------|----------|
| Name: | Vorname: |
|-------|----------|

**Die Klausur besteht aus insgesamt 11 Seiten (1 Deckblatt + 10 Seiten).**

**Bitte geben Sie auf jeder Seite Ihren Namen oben rechts an. Bei der Korrektur können nur solche Seiten berücksichtigt werden, die eindeutig mit Ihrem Namen gekennzeichnet sind. Bitte prüfen Sie sorgfältig, ob die Klausur vollständig ist. Fehlende Seiten werden als nicht beantwortete Fragen gewertet.**

**Wir wünschen Ihnen viel Erfolg!**

|        | Punktzahl | Note |
|--------|-----------|------|
| Entian |           |      |
| Kötter |           |      |
| Summe: |           |      |

**Aufgabe 1**

(3 Punkte)

Erklären Sie die folgenden Begriffe:

|             |  |
|-------------|--|
| Phänotyp    | makroskopisches Erscheinungsbild                               |
| Genotyp     | Genzusammensetzung   |
| Allel       | Typ eines Gens oder jede Abweichung der DNA-Sequenz eines Gens |
| Heterozygot | zwei verschiedene Allele in der Zygote (= diploide Zelle)      |
| Homozygot   | zwei gleiche Allele in der Zygote (= diploide Zelle)           |
| isogen      | Organismen mit gleicher (identischer) Genzusammensetzung       |

**Aufgabe 2**

(4 Punkte)

Wie ist der Paarungstyplokus bei der Bäckerhefe (*S. cerevisiae*) aufgebaut. Erklären Sie in groben Worten den Mating-Type-Switch.

Wodurch reguliert die ASH1-mRNA bei der Zellteilung den Mating-Type-Switch.

Name:

Vorname:

Neben dem aktiven Paarungstyplokus befinden sich zwei stille Loci, die durch Genkonversion ihre genetische Information in den aktiven Paarungstyplokus einbringen.

Die ASH1-mRNA wird in die Tochterzelle transportiert und das Ash1 Protein inhibiert als Repressor den Paarungstyp-Switch in der Tochterzelle.

### Aufgabe 3

(2 Punkte)

Wie unterscheiden sich die biologische und die chemische DNA-Synthese in Bezug auf ihre Syntheserichtung?

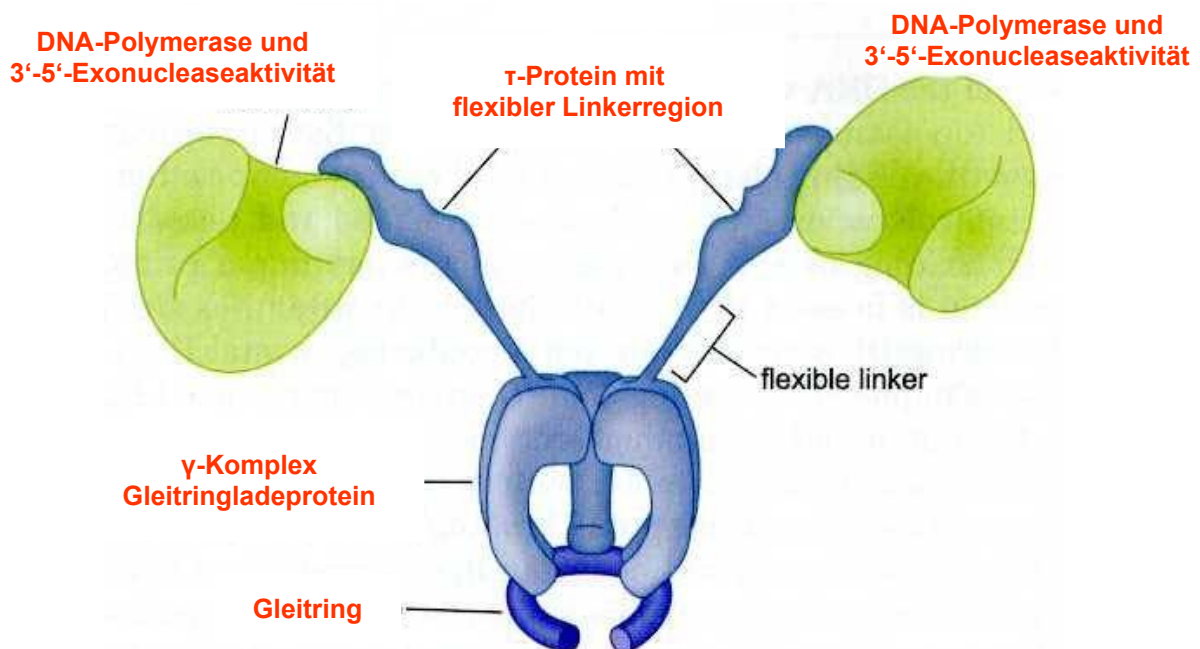
Bei der biologischen Synthese wird die neue Base durch einen nucleophilen Angriff des 3'OH-Endes mit dem  $\alpha$ -Phosphat des neuen Nucleotids verestert.

Bei der chemischen Synthese wird die neue Base an das 5'-Ende des DNA-Stranges angehängt.

### Aufgabe 4

(4 Punkte)

Skizzieren Sie die Struktur des DNA-Polymerase III Holoenzym von E. coli. Geben Sie die Funktionen der jeweiligen Strukturdomänen an.



### Aufgabe 5

(1 Punkt)

Name:

Vorname:

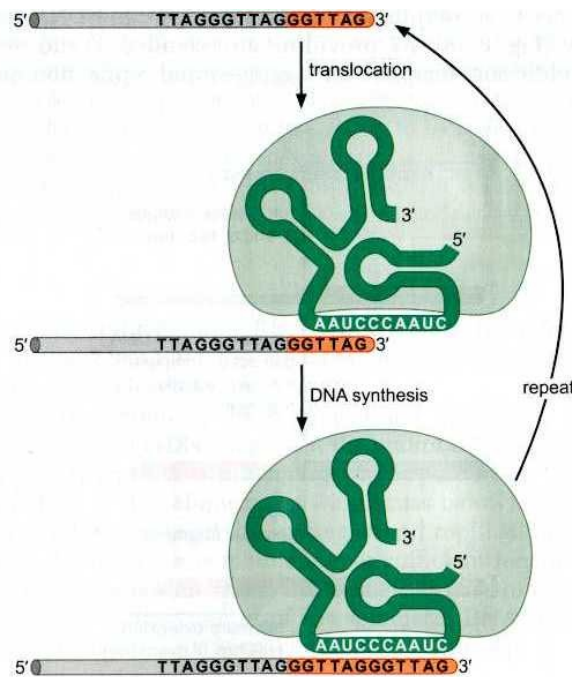
Am 3'-Ende eines linearen Chromosoms ist die vollständige Replikation nicht möglich, da hier ein Primer fehlt. Wie ist diese Problem bei einigen Bakterien mit linearen Chromosomen und bei einigen Viren gelöst?

Die Hydroxylgruppe eines Proteins dient als Primer.

### Aufgabe 6

(2 Punkte)

Wie verlängern Telomerasen die Telomerregionen von Chromosomen? Bitte verdeutlichen Sie Ihre Aussage mit einer Skizze.



Ribonucleoproteinen verlängern die Chromosomen mit komplementären Sequenzen zu den 3'-Enden der Chromosomen

### Aufgabe 7

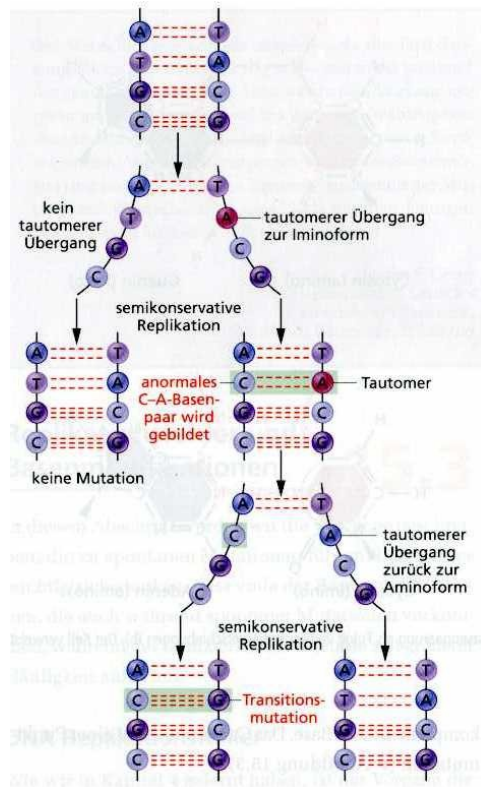
(2 Punkte)

Definieren Sie den Begriff Mutation. Skizzieren Sie die notwendigen Replikationsrunden bis zur Fixierung einer Mutation an einem Beispiel.

Eine Mutation ist eine konstant vererbare Änderung der genetischen Information.

Name:

Vorname:



### Aufgabe 8

(2 Punkte)

Wie unterscheiden sich neutrale, missense, nonsense und frame shift Mutationen?

Neutrale: keine Änderung der Aminosäure (Redundanz des genetischen Codes)

Missense: Einbau einer anderen Aminosäure

Nonsense: Mutation zum Stop-Codon

Frame shift: Leseraster wird durch Insertion oder Deletion einer Base völlig verändert.

### Aufgabe 9

(2 Punkte)

Begründen Sie warum auch bei normaler DNA-Polymerisation Mutationen auftreten.

Keto/Enolautomerie und Amino/Iminotautomerie führen zur falschen Basenpaarung bei der Replikation.

### Aufgabe 10

(3 Punkte)

Mit welchen Reparaturmechanismen können UV-Schäden bei E. coli behoben werden?

Photoreaktivierung, Exzisionsreparatur, postreplikative Reparatur.

Name:

Vorname:

**Aufgabe 11**

(7 Punkte)

(A) Sie haben ein Screening nach *mal* Mutanten (können nicht mit Maltose als C-Quelle wachsen) von *S. cerevisiae* durchgeführt. Beschreiben Sie ein einfaches genetisches Experiment um zu zeigen, dass es sich um rezessive bzw. dominante Mutationen handelt. (2 Punkte)

Mutanten gegen den WT kreuzen und Phänotyp der heterozygot Diploiden mit dem Mutanten bzw. WT Phänotyp vergleichen

Phänotyp entspricht WT  $\Rightarrow$  rezessive Mutante

Phänotyp entspricht Mutante  $\Rightarrow$  dominante Mutante

(B) Zur weiteren Charakterisierung haben Sie mit Ihren *mal* Mutanten eine Komplementations-Analyse durchgeführt. Interpretieren Sie das Ergebnis (s. Tabelle; + Wachstum, - kein Wachstum mit Maltose). (2 Punkte)

|              |    | MAT $\alpha$ |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
|--------------|----|--------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
|              |    | 1            | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| MAT $\alpha$ | 1  |              | + | + | + | + | + | + | - | - | -  | +  | +  |
|              | 2  | +            |   | + | + | + | - | + | + | + | -  | +  | +  |
|              | 3  | +            | + |   | + | + | + | + | + | + | -  | +  | +  |
|              | 4  | +            | + | + |   | + | + | + | + | + | -  | -  | +  |
|              | 5  | +            | + | + | + |   | + | - | + | + | -  | +  | -  |
|              | 6  | +            | - | + | + | + |   | + | + | + | -  | +  | +  |
|              | 7  | +            | + | + | + | - | + |   | + | + | -  | +  | -  |
|              | 8  | -            | + | + | + | + | + | + |   | - | -  | +  | +  |
|              | 9  | -            | + | + | + | + | + | + | - |   | -  | +  | -  |
|              | 10 | -            | - | - | - | - | - | - | - | - |    | -  | -  |
|              | 11 | +            | + | + | - | + | + | + | + | + | -  |    | +  |
|              | 12 | +            | + | + | + | - | + | - | + | - | -  | +  |    |

Durch den Komplementations-Analyse wird ein sogenannter Allelie-Test durchgeführt, der aussagt, welche Mutanten im gleichen Allel eine Mutation besitzen.

Einteilung der Mutanten in Komplementationsgruppen:

*MAL1*: Mutanten 1,8,9

*MAL2*: Mutanten 2,6

*MAL3*: Mutante 3

*MAL4*: Mutanten 4,11

*MAL5*: Mutanten 5,7,11

Mutante 10 vermutlich eine dominante Mutante

(C) Zur weiteren Analyse führen Sie eine Tetraden-Analyse Ihrer *mal* Mutanten untereinander oder mit bekannten Markern durch. Interpretieren Sie die folgenden Ergebnisse und begründen Sie Ihre Schlussfolgerungen (*TRP1* und *URA3* sind auf verschiedenen Chromosomen lokalisiert). (3 Punkte)

|       |          |
|-------|----------|
| Name: | Vorname: |
|-------|----------|

|                    | PD        | NPD       | T         |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|
| <i>mal1 X mal2</i> | <b>15</b> | <b>2</b>  | <b>20</b> |
| <i>mal1 X trp1</i> | <b>12</b> | <b>13</b> | <b>14</b> |
| <i>mal1 X ura3</i> | <b>16</b> | <b>14</b> | <b>59</b> |

*mal1* und *mal2* sind gekoppelt (PD : NPD = >1 : <1)

*mal1* oder *trp1* oder beide sind Centromer gekoppelt (PD : NPD : T = 1 : 1 : <4)

*mal1* und *ura3* sind nicht gekoppelt (PD : NPD : T = 1 : 1 : 4)

### Aufgabe 12

(5 Punkte)

Sie untersuchen das Gen *ABC1* bzw. dessen Genprodukt *Abc1* in *S. cerevisiae*. Eine *abc1* Mutante zeigt einen bestimmten Phänotyp. Um mehr über die biologische Funktion von des *Abc1* Proteins zu erfahren, machen Sie eine Suppressor-Analyse.

a) Was versteht man darunter?

a) häufig verwendete Vorgehensweise um funktionelle Beziehungen zwischen Genen zu identifizieren

b) Durch welches einfache genetische Experiment können Sie feststellen ob es sich um einen extra- oder intragenen Suppressor handelt (ausführliche Beschreibung)?

b) Kreuzung des Suppressor-Stammes gegen den WT, im Falle einer intragenen Suppression sollten keine NPD und T Tetraden beobachtet werden

c) Durch weitere Analysen konnten Sie zeigen, dass Ihr Suppressor Allel- und Gen-spezifisch ist. Um welche Art von Suppressor handelt es sich? Erklären Sie dies Modellhaft. (5 Punkte)

c) Interaktions-Suppressor; zwei Proteine interagieren physikalisch miteinander, wenn in dem ersten Protein *Abc1* eine Mutation vorliegt, die die Interaktion stört oder verhindert, kann dies dadurch supprimiert werden, das im zweiten Protein *Xyz1* eine Mutation vorliegt. die die Interaktion zwischen *abc1* und *xyz1* wieder erlaubt

### Aufgabe 13

(10 Punkte)

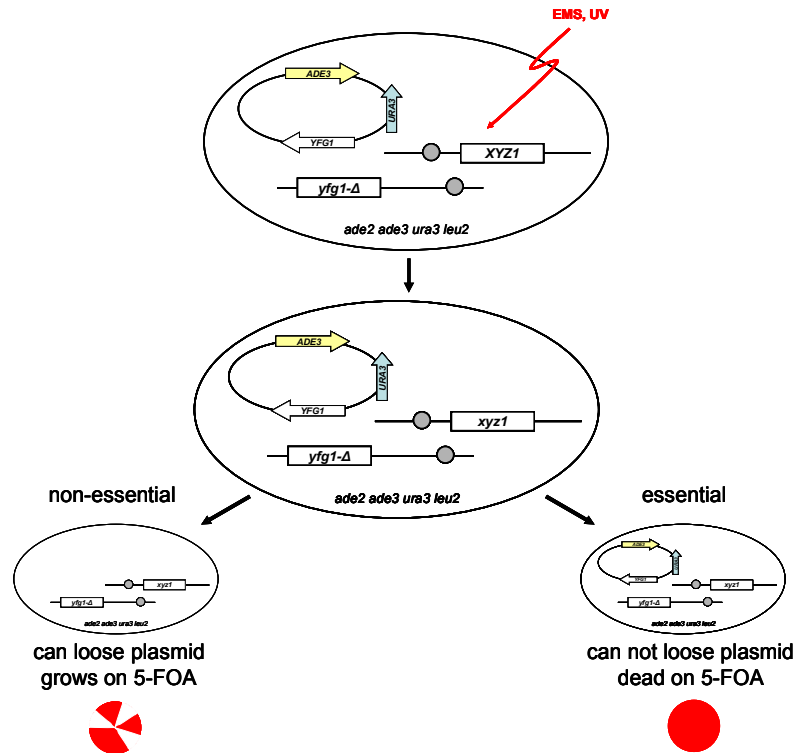
Beschreiben Sie zu welchem Zweck ein Screening nach synthetisch letalen Mutanten in *S. cerevisiae* durchgeführt wird?

a) Skizzieren Sie (Diagramm) wie ein solches Screening durchgeführt wird, wenn Sie das Gen *ABC1* untersuchen. Beschreiben Sie die genetischen Marker der Stämme und Plasmide.

Name:

Vorname:

a)



b) Durch das Screening wurde die Mutante *xyz1* gefunden. Beschreiben Sie wie Sie das entsprechende Gen klonieren würden. (10 Punkte)

b) Transformation einer *LEU2* Gen-Bank in den Stamm (rechts unten a)) und Selektion von Zellen die auf 5-FOA Medium wachsen können (Plasmid-Shuffling)

### Aufgabe 10

(3 Punkte)



Für die Herstellung von Gen-Deletionen in *Saccharomyces cerevisiae* werden hauptsächlich mittels PCR amplifizierte Deletions-Kassetten mit kurzen homologen Bereichen zum jeweiligen Integrationsort eingesetzt.

a) Beschreiben Sie kurz den Unterschied zwischen Deletions-Kassetten mit heterologen bzw. homologen Selektions-Markern.

a) bei heterologen Deletions-Kassetten werden als Selektions-Marker Gene von *S. cerevisiae* verwendet z.B. *URA3* zur Transformation eines *ura3* Stammes; bei einer heterologen Deletions-Kassette befinden sich auf dieser keine *S. cerevisiae* Sequenzen

b) Welchen Nachteil hat die Verwendung von Deletions-Kassetten mit heterologen Selektions-Markern?

Name:

Vorname:

b) die heterologen Deletions-Kassetten können durch homologe Rekombination an den Genort (*ura3*) der Selektions-Kassette (*URA3*) integrieren an Stelle der gewünschten Integration an den *YFG1* Genort

c) Beschreiben Sie kurz den Aufbau einer typischen Deletions-Kassette mit homologem Selektions-Marker. (3 Punkte)

c) TEF1p-kanR-TEF1t (heterologer eukaryotischer Promoter und Terminator, prokaryotischer Resistenz-Marker)