

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

MSc-MolBio-4 Klausur Zelluläre Biochemie und Genetik 09.09.2011

Die Klausur besteht aus insgesamt 6 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

(6 Punkte)

Erklären Sie die folgenden Begriffe:

Polyploidie	Der gesamte Chromosomensatz wird vervielfacht
Aneuploidie	Ein Chromosom wird ungerade vervielfacht
Intragene Mutation	Eine Mutation innerhalb eines Gens
Inversion	Ein Chromosomenbereich (Genbereich) wurde in seiner Richtung umgekehrt
Deletion	Ein Chromosomenbereich (Genbereich) wurde entfernt
Chromosomen-Translokation	Ein Chromosomenbereich wurde auf ein anderes Chromosom übertragen

Gesamt	Gesamt Seite

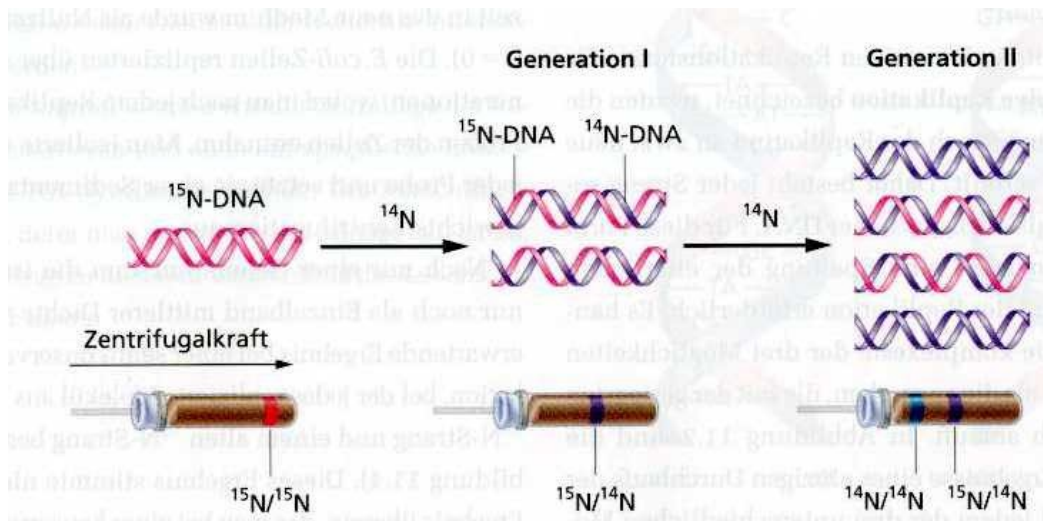
Name:

Vorname:

Aufgabe 2

(3 Punkte)

Schildern Sie das Meselson Stahl Experiment mit schwerem Stickstoff (^{15}N) mit dem die semikonservative Replikation bewiesen wurde.



Aufgabe 3

(2 Punkte)

Wie unterscheiden sich Topoisomerase des Typs I und des Typs II?

Typ I benötigt kein ATP, öffnet nur einen DNA-Strang

Typ II benötigt ATP, öffnet beide DNA-Stränge gleichzeitig

Aufgabe 4

(2 Punkte)

A) Nach welchem chemischen Reaktionsmechanismus wird die Esterbindung zwischen 3'OH-Gruppe und dem α -Phosphat des neuen Nucleotids ausgebildet?

B) Welche Funktion üben die zweiwertigen Metallionen bei der Polymerisationsreaktion aus.

A) **Nucleophiler Angriff der 3'OH Sauerstoffs am α -Phosphat**

B) **Ausrichtung der Reaktionspartner**

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

Aufgabe 5

(2 Punkte)

Bei der induzierten Mutation wird Bromuracil anstelle von Thymin in die DNA eingebaut. Warum steigt die Mutationsrate dadurch an?

Da Brom sehr elektronegatig, ist die Enolform wesentlich häufiger, TA zu CG Transition

Aufgabe 6

(1 Punkt)

Warum sind polyzyklische Wasserstoffe mutagen?

Werden in der Leber durch Mono- und Epoxigenasen aktiviert.

Aufgabe 7

(3 Punkte)

Beschreiben Sie die Toxizität und die mutagene Wirkung von Ethidiumbromid.

Ethidiumbromid diffundiert durch die Haut, schlecht wasserlöslich. Interkalierende Substanz, extrem mutagen.

Aufgabe 8

(3 Punkte)

Welches Enzym entfernt Alkylgruppen aus der DNA? Was ist dabei die besondere Eigenschaft des Enzyms?

Die O⁶-Methylguanin–DNA-Transferase kann Alkylierungen am O⁶-Methylguanin und an der Phosphatgruppe durch direkte Übertragung der Alkylgruppe auf Cysteinreste des Enzyms entfernen.

Das Enzym wird danach abgebaut. Zur Entfernung einer Alkylierung wird ein ganzes Enzym benötigt (energetisch extrem aufwendig).

Aufgabe 9

(3 Punkte)

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

Photoreaktivierung, Exzissionsreparatur, postreplikative Reparatur.

Name:

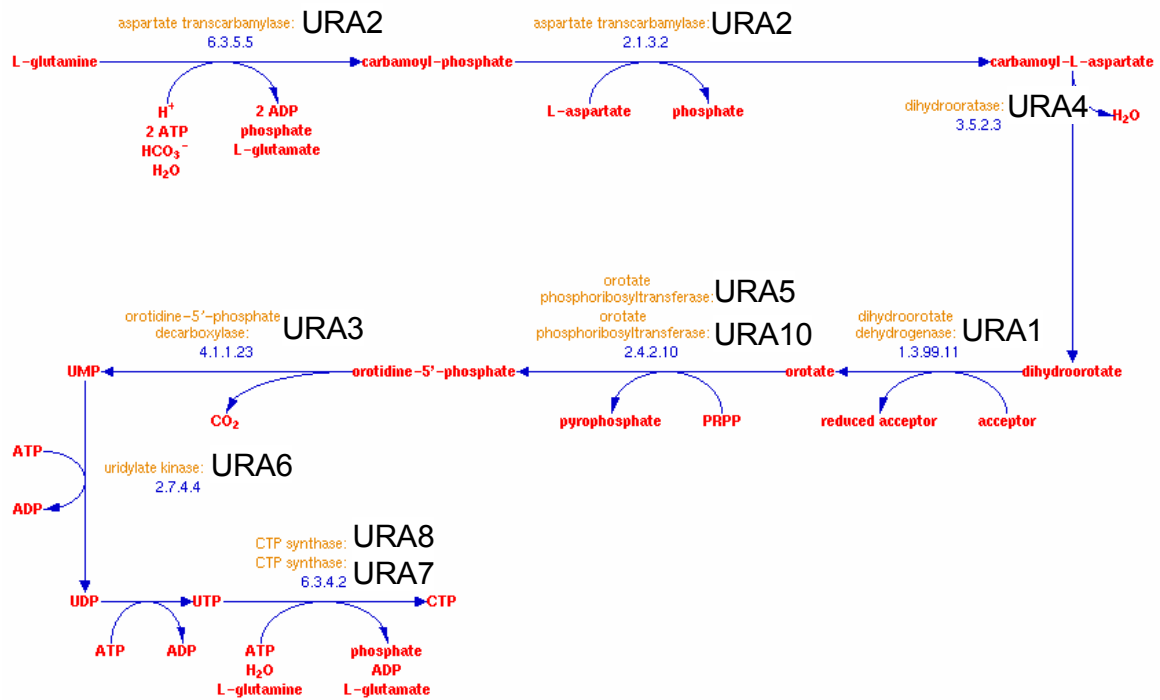
Vorname:

Aufgabe 10

(7 Punkte)

In einem Experiment sollen mittels Selektion *Saccharomyces cerevisiae* Mutanten in der Pyrimidin-Biosynthese isoliert werden.

S. cerevisiae Pathway: de novo biosynthesis of pyrimidine ribonucleotides



A) Welcher Antimetabolit wird üblicherweise für die Selektion eingesetzt und an welcher Stelle der Pyrimidin-Biosynthese wird er metabolisiert? (2 Punkte)

5-FOA, Orotat

B) Warum sind die erhaltenen Mutanten Uracil bedürftig? (2 Punkte)

ohne Pyrimidin-Ribonucleotide kann *S. cerevisiae* nicht wachsen; das Medium kann aber nicht mit Pyrimidin-Ribonucleotiden supplementiert werden; daher wird Uracil zum Medium gegeben, was dann mittels einer Phosphoribosyltransferase zu UMP umgewandelt wird.

C) Welche Mutanten werden selektioniert und begründen Sie warum nur diese? (3 Punkte)

ura3 und *ura5*; Mutanten oberhalb im Stoffwechsel (*ura2*, *ura4* und *ura1*) können 5-FOA weiterhin Metabolisierung und sterben deshalb ab; Mutanten unterhalb im Stoffwechsel (*ura6*, *ura7* und *ura8*) metabolisieren 5-FOA zwar nicht zu einem toxischen Produkt, können aber nicht durch Uracil im Medium supplementiert werden.

Name:

Vorname:

Aufgabe 11

(9 Punkte)

Sie haben ein Screening nach *gal* Mutanten (können nicht mit Galactose als C-Quelle wachsen) von *S. cerevisiae* durchgeführt. Beschreiben Sie ein einfaches genetisches Experiment um zu zeigen, dass es sich um rezessive bzw. dominanten Mutanten 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

Zur weiteren Charakterisierung haben Sie mit Ihren *gal* Mutanten eine Komplementations-Analyse durchgeführt. Interpretieren Sie das Ergebnis (s. Tabelle; + Wachstum, - kein Wachstum mit Galactose). (4 Punkte)

		MAT α											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MAT α	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 Allele eine Mutation besitzen. Einteilung der Mutanten in Komplementationsgruppen:

GAL1: Mutanten 1,8,11

GAL2: Mutanten 2

GAL3: Mutante 3,6

GAL4: Mutanten 4,9

GAL5: Mutanten 5,7,12

Mutante 10 vermutlich eine dominante Mutante

--	--

Name:

Vorname:

Zur weiteren Analyse führen Sie eine Tetraden-Analyse Ihrer *gal* 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)

	PD	NPD	T
<i>gal1</i> X <i>gal2</i>	15	2	20
<i>gal1</i> X <i>trp1</i>	12	13	14
<i>gal1</i> X <i>ura3</i>	16	14	59

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

(9 Punkte)



Erklären Sie die Methode des Plasmid-Shuffling mittels Gegen-Selektion in *Saccharomyces cerevisiae*. Beschreiben Sie den Genotyp des verwendeten Hefe-Stammes und die genetischen Merkmale der verwendeten Plasmide.

Plasmid shuffling in yeast – (negative-) counter-selection

