

Block Nukleinsäuren

1.) In welchen Merkmalen unterscheidet sich ein Virus typischerweise von einem Bakterium? Nennen sie 3 verschiedene Virusarten.

- Viren zählen nicht! zur belebten Natur, kein Stoffwechsel, keine Zellorganellen
 - Beide nutzen zur Fortpflanzung oft Wirte, aber Viren sind auf Wirte ANGEWIESEN
 - Viren können DNA oder RNA als Genom besitzen, Bakterien haben beides + Plasmide
 - Viren programmieren den Zellstoffwechsel ihrer Wirte nach eigenen Bedürfnissen um
 - Dazu Integration ihrer Nukleinsäuren ins menschl. Erbgut
- Virusarten: Pockenviren: DNA, 300 Kbp
Adenoviren: DNA, 200 Kbp, viele Untertypen, Genfähen
Pavoviren: 1-sträng. DNA, benötigt Helferviren, oft Krebsauslösend
Retroviren: diploide RNA, reverse Transkriptase zur DNA-Synthese

2.) Zeichnen Sie die Strukturformel des Pyrimidins. Geben sie die ersten beiden Schritte der Synthese an!
Strukturformel: siehe Buch

- Synthese:
- 1.) Hydrogencarbonat + Glutamin \leftrightarrow Carbamoylphosphat
 - 2.) Aspartat + Carbamoylphosphat \leftrightarrow Carbamoylaspartat (Enzym: Aspartat-Transcarbamylase)
 - 3.) Ringschluß von Carbamoylaspartat zu Dihydroorotat (Enzym: Dihydroorotase)
 - 4.) Dehydrierung zu Orotat (dabei NAD^+ zu $\text{NADH} + \text{H}^+$) (Enzym: Dihydroorotat-Dehydrogenase)
 - 5.) Orotat + Phosphoribosyl-Diphosphat (PRPP) \leftrightarrow Orotodylat (Enzym: Orotat-PRPP-Transferase) = Verknüpfung von Orotat und Ribose!
 - 6.) Decarboxylierung von Orotodylat zu UMP (Uridinmonophosphat) (+ CO_2) (Enzym: Orotodylat-Decarboxylase)
 - 7.) 2x Phosphorylierung zum UTP (unter ATP-Verbrauch)
 - 8.) Einfügen einer Aminogruppe ins Uracil \rightarrow aus UTP wird CTP (Cytidintriphosphat) (Enzym: CTP-Synthase) Die Aminogruppe stammt aus $\text{ATP} + \text{Glutamin} \leftrightarrow \text{ADP} + \text{P} + \text{Glutamat}$.

3.) Wie unterscheidet sich der strukturelle Aufbau der DNA von der mRNA?

- DNA ist ein Doppelstrang, RNA = Einzelstrang
- Aufgrund des Doppelstranges hat DNA die Form einer α -Helix
- DNA besitzt Base Thymin, RNA statt dessen Uracil
- Zucker ist bei DNA = Desoxyribose, bei RNA = Ribose

4.) Was versteht man unter Chromatin? Welche Komponenten sind Bestandteil des Chromatins?

- Chromatin = kondensierte Form der DNA
- DNA-Doppelhelix ist dabei um Histone gewickelt, je 2 H2A, H2B, H3 und H4 Histone bilden dabei ein Oktamer (Histone sind Proteine). DNA umwickelt Histonkomplex ca 2x
- Weitere Verdichtung erfolgt durch das Histon H1 \rightarrow ab jetzt heißt die DNA Chromatin

5.) Welche Funktion kommt dem Phenol im Rahmen der DNA-Extraktion zu?

- DNA und in der Zelle befindliche Proteine müssen getrennt werden. (sonst Störung der Extinktionsmessung)
- Dazu Zugabe von Phenol \rightarrow 2-Phasen-Gemisch entsteht
- DNA löst sich in Wasserphase weil ziemlich polar, Proteine (überwiegend) in der Phenolphase weil unpolar
- Struktur des Phenols: Benzolring (Sechsring mit konjugierten Doppelbindungen) mit OH-Gruppe

6.) Beschreiben sie das Grundprinzip der Elektrophorese von DNA-Fragmenten.

7.) Beschreiben Sie die Grundzüge der Purinbiosynthese! Welche Bedeutung hat in diesem Zusammenhang die Tetrahydrofolsäure?

- Ausgangspunkt ist das PRPP (Phosphoribosyldiphosphat)
1. Anlagerung von NH_2 an C1 des PRPP (Lieferant ist Glutamin, Enzym = PRPP-Amidotransferase)
 2. Reaktion des NH_2 mit Glycin
 3. Formylierung durch N10-Formyltetrahydrofolat
 4. Aminogruppenanlagerung (Donator ist wieder Glutamin)
 5. Ringschluß \rightarrow 5-Ring ist fertig, jetzt wird der 6-Ring angelagert
 6. Carboxylierung
 7. Anlagerung von Aspartat an das CO_2 , Abspaltung von Fumarat \rightarrow Netto wird 1 Aminogruppe eingefügt
 8. Letztes Fehlendes C-Atom wird durch N10-Formyltetrahydrofolat eingefügt

9. Ringschluß → es entsteht IMP (Inosinmonophosphat) die Base ohne den Riboserest heißt Hypoxanthin
10. Von IMP ist die Umwandlung zu GMP oder AMP möglich
- die Tetrahydrofolsäure ist also wesentlicher Lieferant für C-Atome bei der Purinbiosynthese, sie überträgt Formylgruppen auf die Ringe.
- 8.) Legen Sie stichwortartig dar, wie DNA aus Gewebe extrahiert werden kann.
- Gewebe zerkleinern und homogenisieren (Homogenisationspuffer)
 - Zugabe von Phenol → Trennung von DNA und Proteinen
 - Extrahieren und Waschen der Wasserphase mit Ethanol → Ethanol zerstört die Hydrathülle der DNA
 - "Angeln" der ausfallenden DNA aus der Lösung
- 9.) Erklären Sie kurz folgende Begriffe: a) Restriktionsendonuklease b) Promotor c) Plasmid d) Palindrom
- a) Enzym zum Zerschneiden von DNA ; jede R. hat eine spezifische Schnittstelle, die anhand der Basensequenz erkannt wird; Gebrauch als Gentechnische SCHERE
 - b) Startregion der Transkription
 - c) Ringförmiges DNA - Molekül; Vorkommen in Bakterien; Gebrauch als Genfähre
 - d) Sequenz, die von hinten und vorn gelesen das selbe ergibt, z.B ANNA; OTTO; RADAR
- 10.) Was versteht man unter Chromatin? Welche Komponenten sind Bestandteil des Chromatins?
- Chromatin = DNA , die um Histone gewickelt ist (1,8 x je Histon)
 - Histone sind Oktamere Proteine
 - Histonbestandteile: je 2 mal H2a, H2b, H3, H4
 - H1 ist nicht Bestandteil des Histons, sondern in einiger Entfernung davon mit der DNA assoziiert → ist somit Bestandteil des Chromatins
- 11.) Durch welche Kräfte, bzw. Bindungen wird die DNA in Längs- bzw. Querrichtung zusammengehalten?
- Längsrichtung:
 - Querrichtung: Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Basenpaaren
A-T = 2 H-Brücken, C-G = 3 H-Brücken
- 12.) Beschreiben Sie den Prozeß der Translation.
- Voraussetzungen: processierte m-RNA ; t-RNA mit Aminosäuren beladen (Aminoacyl-tRNA) - ATP- Verbrauch
 - **Initiation:** Bildung des Initiationskomplexes mit IF1, IF2, IF3, Mg²⁺ und GTP
 - 1. Bindung der m-RNA an die kleine Ribosomenuntereinheit → IF2 + GTP
 - 2. Aufsuchen des Startcodons AUG, Bindung der Starter (Formyl-)Aminoacyl-tRNA → IF3 wird abgespalten
 - 3. Bindung der großen Ribosomenuntereinheit unter Abspaltung von IF1 und 2
 - Die Starter tRNA befindet sich an der Peptidylstelle des Ribosoms
 - **Elongation:** die nächste (komplementäre) Aminoacyl-tRNA bindet an die A-stelle des Ribosoms → EF2
 - 1. Übertragung der Aminosäure von der P-Stelle auf die A-Stelle, die tRNA auf der A-Stelle heißt jetzt Peptidyl-tRNA
 - 2. Die "leere" tRNA aus der P-Stelle wird abgespalten
 - 3. Translokation des Ribosoms um 1 Triplet → EF1 + Translokase
 - 4. Die Peptidyl-tRNA befindet sich jetzt an der P-Stelle die ganze Sache wieder von vorne..... ;-)
 - **Termination:** bei Erreichen des Stop-Codons, dafür gibt es keine passende Aminosäure
 - Bindung von Releasingfaktoren
 - Abspalten des fertigen Peptids durch Hydrolyse
 - Dissoziation des Komplexes in seine Untereinheiten
- 13.) Welche Bedeutung haben Restriktionsendonukleasen a) für Bakterien b) für die Molekularbiologie?
- a) Bakterien können mittels Restriktionsendonukleasen fremde (virale) DNA aus ihrem Genom entfernen oder neue DNA integrieren
 - b) Restriktionsendonukleasen sind die SCHEREN der Gentechnik, da sie DNA an spezifischen Stellen zerschneiden
Einsatz zB auch in der Kriminalistik zur Prüfung von Gewebeproben → **RestriktionsFragmentLängenPolymorphismen**
- 14.) Beschreiben sie stichpunktartig den Prozeß der Replikation.
- Aufsuchen der Replikationsstartstelle (origin)
 - Lokale Entwindung der DNA → Helikasen, Topoisomerasen verringern auftretende Torsionsspannungen, Einzelstrangbindungsproteine verhindern erneute Zusammenlagerung der Einzelstränge
 - Synthese von tRNA-Primern am jeweiligen 5' Ende (Bei Eukaryonten durch DNA Polymerase, Prokaryonten → Primase)
 - Synthese des Komplementärstranges (Ablese: 3' → 5'; Synthese: 5' → 3') Leading strand = Kontinuierlich, lagging strand = Okazaki-Fragmente; DNA Polymerase III
 - Proofreading und Entfernung der Primer durch DNA Polymerase I

- Verbindung der Einzel-DNA-Fragmente durch Ligasen

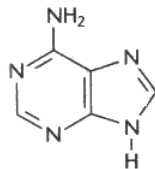
15.) Was versteht man unter a) einem Nucleotid b) einem Nucleosid c) einem Nucleosom? Geben sie für a und b je 2 BSP.

- Nucleotid = Base + Zuckerrest (Ribose o. Desoxyribose) + Phosphorsäurerest (Phosphat) zB ATP GTP CTP TTP, dATP, dGTP, dCTP, dTTP, cAMP
- Nucleosid = Nucleotid ohne Phosphatrest zB Uridin Adenosin
- Nucleosom = DNA, die um Histone gewickelt ist

16.) Was versteht man unter Plasmiden? Welche Bedeutung haben sie für die entsprechenden Mikroorganismen? Wie können Plasmide "geschnitten" werden?

- Plasmide = doppelsträngige ringförmige DNA
- Vorkommen: Bakterien
- Lage: extranukleär
- Bedeutung für Bakterien: Einbau von Fremdgenen zB Resistenzgenen (ohne dauerhafte Integration ins Genom)
Möglichkeit der Weitergabe des Plasmids (mittels evtl. vorhandenem Pili) → "Sexduktion"
- Schneiden erfolgt mittels Restriktionsendonukleasen an (je nach Endonuklease unterschiedlicher) spezifischer Stelle
→ Gebrauch als "Genfähre" in der Gentechnik

17.) Zeichnen Sie die Strukturformel des Adenins. Nennen sie neben dem Adenin 3 weitere wichtige Purinderivate.



Adenin

Weitere Purinderivate: Guanin, Inosin, Xanthin, Hypoxanthin, Harnsäure!

18.) Welche Bedeutung hat die Mitochondrielle DNA für die Zelle?

- Mitochondrien haben eine eigene ringförmige DNA
- Codiert für 13 Proteine (zB Enzymanteile der Atmungskette), 22 tRNAs, 2 rRNAs
- Endosymbiontentheorie: Mitochondrien waren evtl. symbiot. lebende Bakterien
- Wird nur von der mütterlichen Seite vererbt!