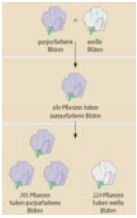
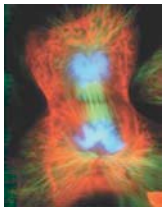
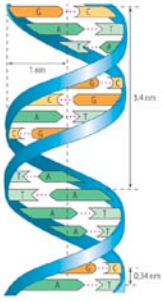
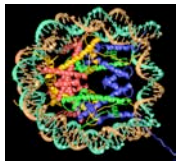
Kernmodul Genetik

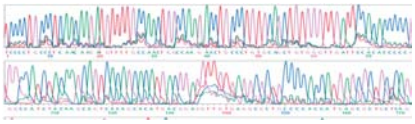
1. Einführung
2. Mendel-Genetik
3. Chromosomentheorie
4. Zellzyklus und Mitose
5. Meiose
6. **Rekombination und Genkartierung**
7. Humangenetik
8. DNA als genetisches Material
9. Replikation
10. Mutation und Reparatur
11. Genexpression
12. Transkription
13. RNA-Prozessierung
14. Translation
15. Genregulation
16. Molekulargenetische Methoden











Genetische Variabilität bei der sexuellen Fortpflanzung

Genom von Eltern und Nachkommen ähnlich, aber nicht identisch

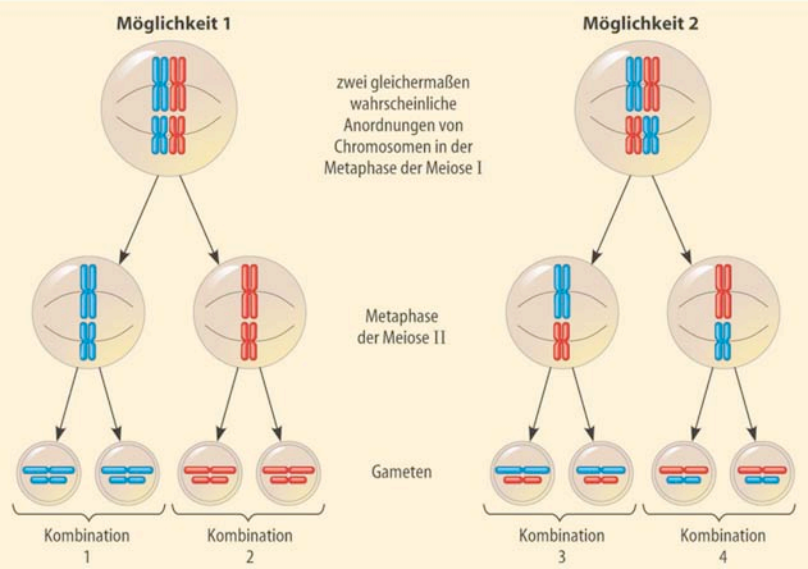
↓

Genetische Variabilität

Ursprünge genetischer Variabilität

- **Unterschiede zwischen homologen Chromosomen der Eltern**
- **willkürliche Verteilung (Segregation) der homologen Chromosomen bei der Meiose und der Gametenbildung**
- **Rekombination (Neukombination) homologer Chromosomen beim Crossing-over**
- **Zufälligkeit bei der Befruchtung**

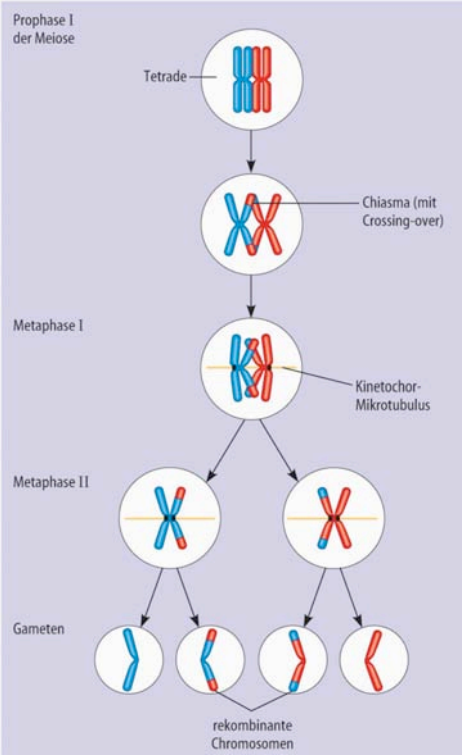
Willkürliche Verteilung (freie Rekombination) homologer Chromosomen



Zahl der möglichen Chromosomenkombinationen beträgt 2^n
(n = haploide Chromosomenzahl)

Bsp.	**n = 2:**	**4 Möglichkeiten**
	n = 3:	**8 Möglichkeiten**
	n = 23:	**8 Mio. Möglichkeiten**

Rekombination durch Crossing-over



- Homologe Chromosomen tauschen ganze Segmente aus
- Bildung neuer Chromosomen-Varianten (Rekombination) aus mütterlichen und väterlichen Chromosomen
- Häufigkeit bei Mensch: 2 - 3 Crossing-over-Ereignisse pro Chromosomenpaar
- Konsequenzen:

- Chromosomen der Gameten sind Mischung aus elterlicher DNA
- Entkopplung bei der Weitergabe (Segregation) von Genen, die auf demselben Chromosom liegen

Zufälligkeit der Befruchtung

Rechenbeispiel für eine menschliche Befruchtung

(23 haploide Chromosomen; ohne Crossing-over-Ereignisse)

Eizelle:

2^{23} = 8 Mio. mögliche Chromosomen-Kombinationen

Spermium:

2^{23} = 8 Mio. mögliche Chromosomen-Kombinationen

Befruchtungsmöglichkeiten:

8 Mio. x 8 Mio. = 64 Billionen!!

↓

- enorme genetische Variabilität der Nachkommen
- minimale Wahrscheinlichkeit für genetisch identische Nachkommen

Chromosomentheorie und Unabhängigkeitsregel

Chromosomentheorie

Anzahl Chromosomen viel kleiner als Anzahl Gene

↓

Sehr viele Gene auf jedem Chromosom

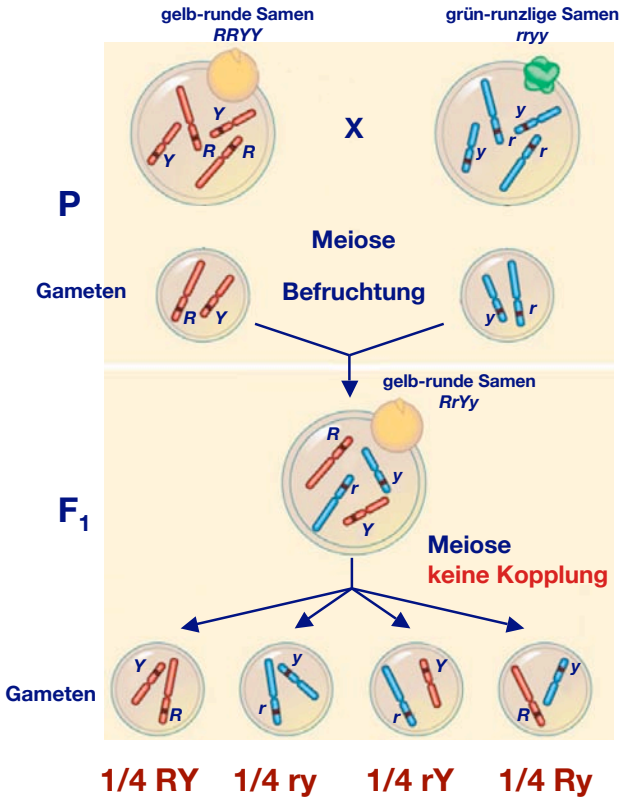
↓

Gene auf unterschiedlichen Chromosomen werden unabhängig (ungekoppelt) vererbt

↕ kein Widerspruch

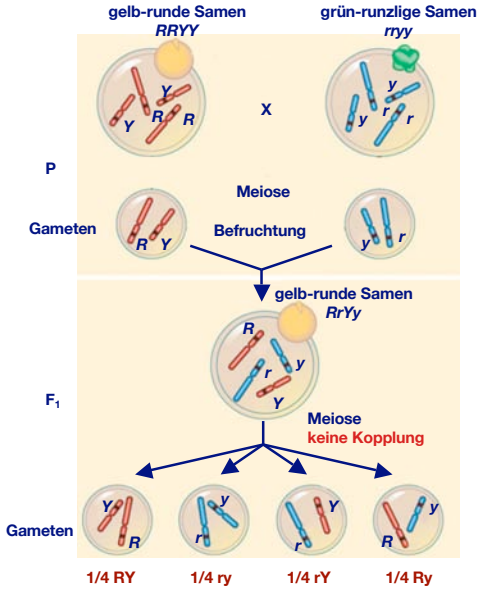
Mendel: ‚Gene werden unabhängig vererbt'

Rekombination ungekoppelter Gene



- Genloci R/r und Y/y auf unterschiedlichen Chromosomen
- keine (physikalische) Kopplung während Meiose
- Rekombination (= Neukombination) durch unabhängige Segregation von Chromosomen

Rekombination ungekoppelter Gene: Bestimmung der Rekombinationsfrequenz durch Rückkreuzung



Rückkreuzung der F_1-Gameten mit *ry*-Gameten aus P-Generation (4 Möglichkeiten)

1/4 (*RrYy*)
1/4 (*rryy*)

50 % Parentaltyp
keine Rekombination

1/4 (*rrYy*)
1/4 (*Rryy*)

50 % Rekombinanten
nicht-Parentaltyp

↓

50 %ige Rekombinationsfrequenz

Chromosomentheorie und Unabhängigkeitsregel

Gene auf demselben Chromosom (physikalische Einheit) werden miteinander (gekoppelt) vererbt

↕ **Widerspruch**

Mendel: ‚Gene werden unabhängig vererbt'

Entdeckung genetischer Kopplung durch Thomas Hunt Morgan (1866-1945)

Genetische Experimente mit Fruchtfliegen (*Drosophila melanogaster*):

- kurze Generationszeit (2 Wochen)
- Paarung ergibt hunderte von Nachkommen
- nur 4 Chromosomenpaare, im Lichtmikroskop unterscheidbar:
  - 3 Autosomenpaare
  - 1 Geschlechtschromosomenpaar: XX oder XY
- viele stabile Merkmalsformen:
  - Körperfarbe
  - Augenfarbe
  - Flügelform

Weibchen

Männchen

Genkopplung bei *Drosophila*

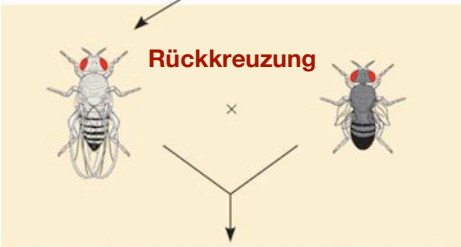
P-Generation
(homozygot)

Wildtyp
grau, normale Flügel
$b^+ b^+ vg^+ vg^+$

Doppelmutante
schwarz, Stummelflügel
b b vg vg

F1-Dihybriden
(heterozygot)

Wildtyp
grau, normale Flügel
$b^+ b vg^+ vg$

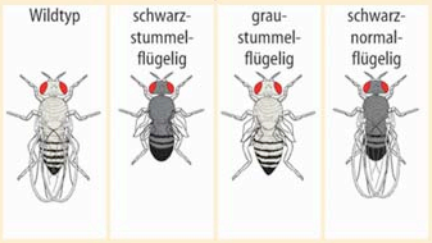


Doppelmutante
schwarz, Stummelflügel
b b vg vg

b = schwarz (rezessiv)
b^+ = grau (dominant)

vg = Stummelflügel (rezessiv)
vg^+ = normale Flügel (dominant)

Nachkommen aus der Rückkreuzung (2‘300 Ereignisse)



	Wildtyp	schwarz-stummel-flügelig	grau-stummel-flügelig	schwarz-normal-flügelig
erwartet: unabhängige Segregation	575	575	575	575
erwartet: vollständige Kopplung	1150	1150	0	0
	parentale Phänotypen		rekombinante Phänotypen	
beobachtet	965	944	206	185

Kopplung zwischen den beiden Genloci *b* und *vg*

Rekombination gekoppelter Gene erfolgt durch Crossing-over

Beobachtung:

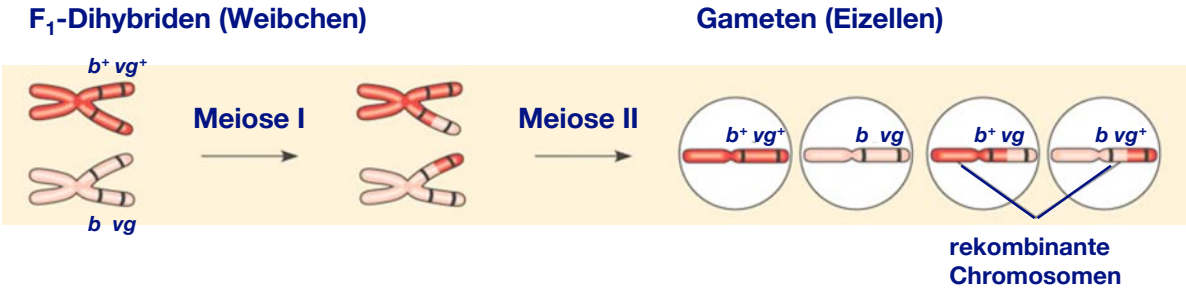
Genloci *b* und *vg sind* gekoppelt, aber nicht vollständig.

Erklärung für Kopplung:

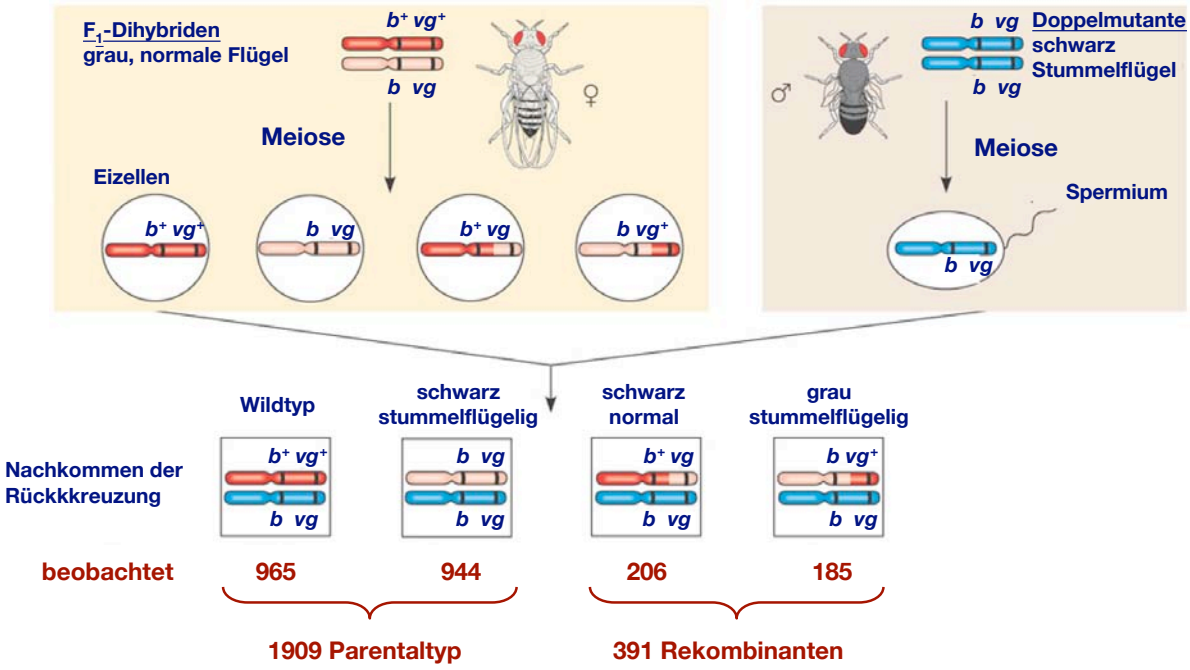
***b* und *vg* liegen auf demselben Chromosom.**

Erklärung für Unvollständigkeit der Kopplung:

Genloci *b* und *vg* werden über Crossing-over-Ereignisse während der Meiose rekombiniert.



Rekombination durch Crossing-over bewirkt Entkoppelung

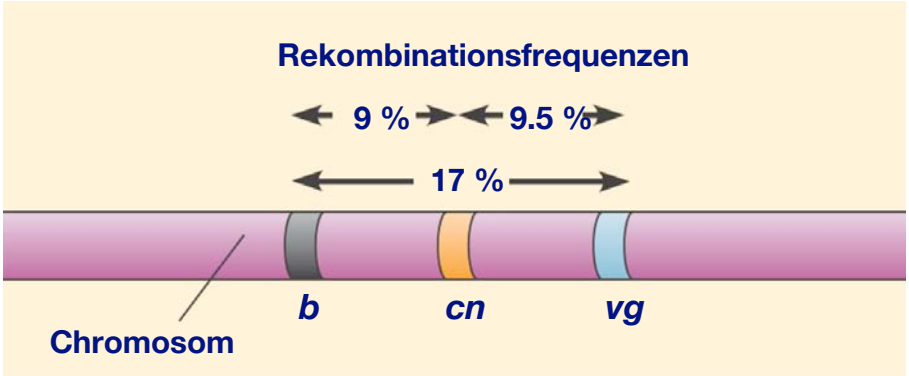


$$\text{Rekombinationsfrequenz} = \frac{\text{391 Rekombinanten}}{\text{2300 Nachkommen insgesamt}} \times 100 = 17\ \%$$

Genkartierung

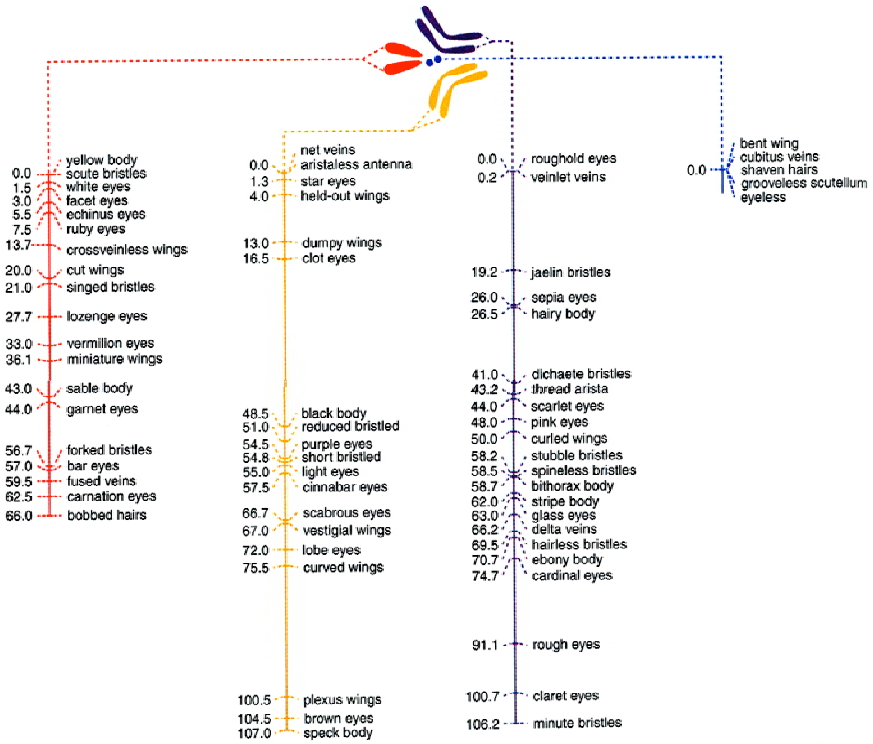
- **Wahrscheinlichkeiten** für Crossing-over und Rekombinationsfrequenz **steigen mit Abstand** zwischen Genen
- **Kartierung** von Gene auf Chromosomen durch Bestimmung der **Rekombinationsfrequenzen** möglich
- 1 Genkarteneinheit (**Centimorgan**) entspricht 1 % Rekombination

3 Gene *b*, *vg* und *cn*



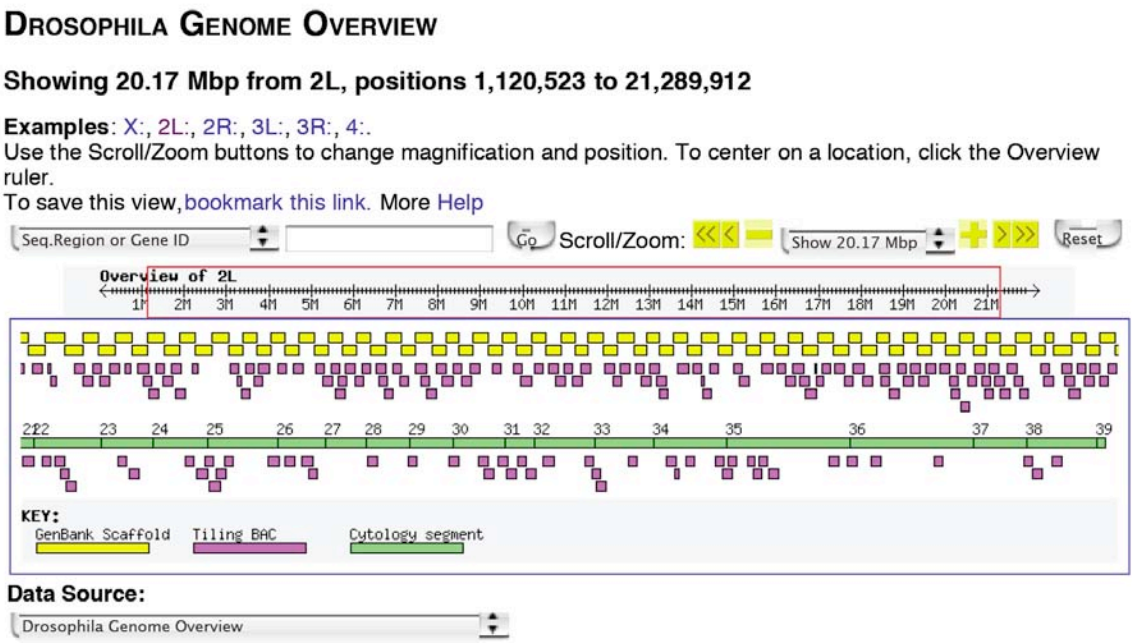
Kopplungskarte von *Drosophila*

(nur lineare Abfolge der Gene, keine präzise Lokalisation)



Molekulare Genkarte von *Drosophila*

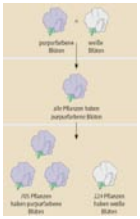
(präzise Lokalisation der Gene durch DNA-Sequenzierung)

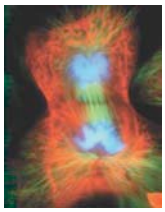


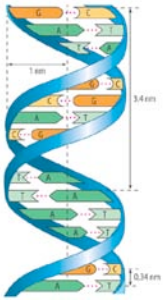
http://flybase.net/common/cgi-bin/gbrowse_fb

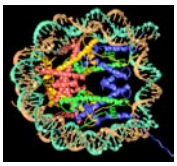
Kernmodul Genetik

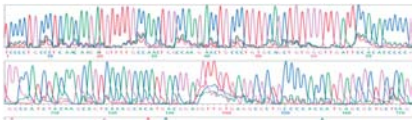
1. Einführung
2. Mendel-Genetik
3. Chromosomentheorie
4. Zellzyklus und Mitose
5. Meiose
6. Rekombination und Genkartierung
7. **Humangenetik**
8. DNA als genetisches Material
9. Replikation
10. Mutation und Reparatur
11. Genexpression
12. Transkription
13. RNA-Prozessierung
14. Translation
15. Genregulation
16. Molekulargenetische Methoden











Themen der Humangenetik

- Stammbaumanalysen und Erbkrankheiten
- Besonderheiten geschlechtsgebundener Erbgänge
- Chromosomen-Aberrationen
- Genomisches Imprinting
- Genetische Tests zur Analyse von Erbkrankheiten
- Populationsanalysen (Hardy-Weinberg)

Stammbaumanalysen

Problem:

- Analyse menschlicher Vererbungsvorgänge komplex
- gezielte Kreuzungsexperimente nicht möglich
- Mensch kein günstiges Objekt für genetische Forschung, da lange Generationszeit und wenige Nachkommen

⬇

Stammbaumanalyse:

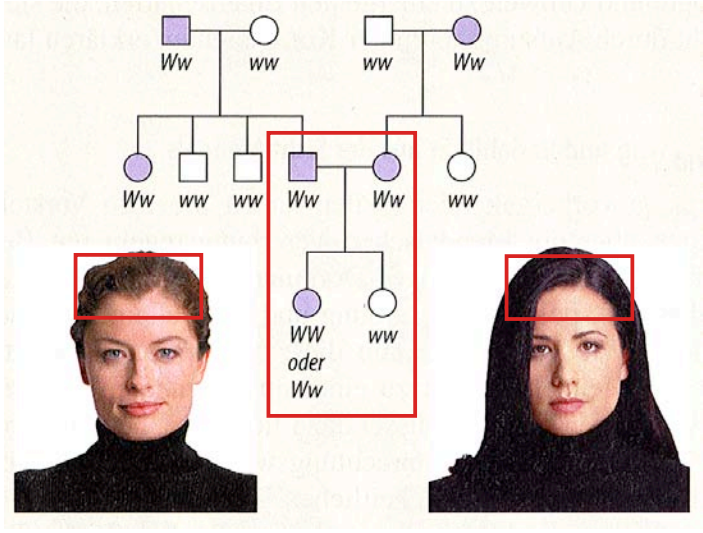
- Sammeln vieler Daten über Auftreten von Erbmerkmalen bzw. Erbkrankheiten innerhalb von betroffenen Familien
- Ableiten der Genotypen der Vorfahren
- Voraussagen über zu erwartende Genotypen der Nachkommen

Stammbaumanalyse dominanter und rezessiver Merkmale

erste Generation
(Großeltern)

zweite Generation
(Eltern, Tanten, Onkel)

dritte Generation
(zwei Schwestern)



- ☐ männlich, ohne Merkmal
- ○ weiblich, ohne Merkmal
- ■ männlich, mit Merkmal
- ● weiblich, mit Merkmal

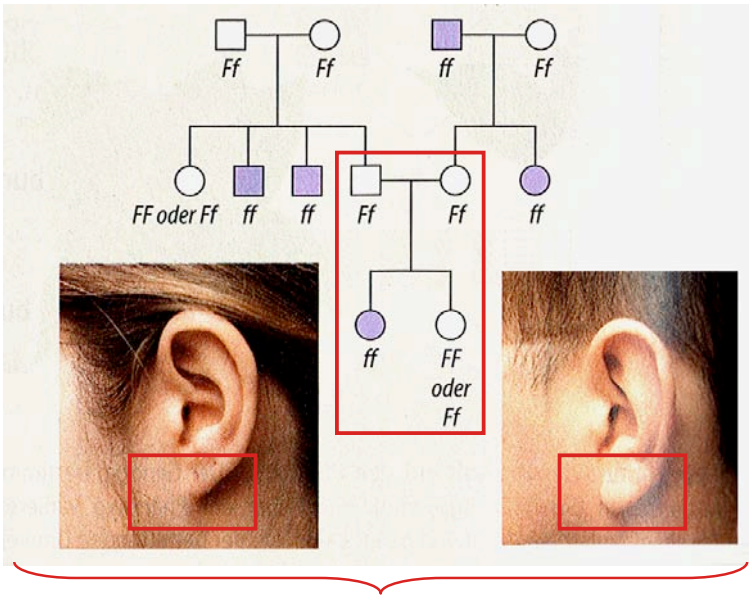
Schlussfolgerung:
Auftreten des Merkmals ‚Witwenspitz' (= dreieckiger Haarschwund) wird durch ein dominantes Merkmal *W* vererbt.

Stammbaumanalyse dominanter und rezessiver Merkmale

erste Generation
(Großeltern)

zweite Generation
(Eltern, Tanten, Onkel)

dritte Generation
(zwei Schwestern)



- ☐ männlich, ohne Merkmal
- ○ weiblich, ohne Merkmal
- ■ männlich, mit Merkmal
- ● weiblich, mit Merkmal

Schlussfolgerung:
Auftreten des Merkmals ‚angewachsenes Ohrläppchen' wird durch ein rezessives Merkmal *f* vererbt.

Rezessiv vererbte Krankheiten

- Hunderte rezessiv vererbter Krankheiten bekannt
- harmlos bis akut lebensbedrohlich
- krankmachendes Allel *a* = nicht-funktionelle Genform
- gesundes Allel *A* = funktionelle Genform
- *AA*-Homozygote sind gesund
- *Aa*-Heterozygote sind gesund, aber Träger von *a*
- *aa*-Homozygote (meist Kinder von *Aa*-Heterozygoten) können Krankheit entwickeln

7. Humangenetik

Rezessiv vererbte Krankheiten

Beispiel: Cystische Fibrose (‚Mukoviszidose')

- häufigste letale genetisch bedingte Krankheit in Europa
- jedes 2500ste Neugeborene
- 4 % heterozygote Träger in Bevölkerung
- funktionelle Genform *A* kodiert für lebenswichtiges Membranprotein
- krankmachende Genform *a* führt zum Verlust der Proteinfunktion
- starke Schleimbildung in Lungen von *aa*-Homozygoten führt ohne Behandlung zum Tod im Kindesalter

Rezessiv vererbte Krankheiten

Bsp. Cystische Fibrose

4 % x 4 % = 0.16 % = Wahrscheinlickeit, dass sich zwei Träger treffen

P-Generation *Aa* x *Aa*

↓

F_1-Generation

AA	*Aa*	*aa*
50 %	25 %	25 %

Wahrscheinlichkeit für das Auftreten der Krankheit?

P = 0.16 % x 25 % = 0.04 % = 1/2500 = 0.0004

Wahrscheinlichkeit, dass sich zwei Träger treffen, steigt an, wenn Mann und Frau enge Verwandte sind, z.B. Geschwister oder Cousin und Cousine ersten Grades. Damit steigt auch die Wahrscheinlichkeit für Homozygotie und das Auftreten der Krankheit.

Dominant vererbte Krankheiten

- deutlich seltener als rezessiv vererbte Krankheiten
- harmlos bis letal
- gesundes Allel *a* = Genform mit normaler Funktion
- krankmachendes Allel *A* = Genform mit verstärkter normaler Funktion oder mit neuer, zusätzlicher Funktion
- *aa*-Homozygote sind gesund
- *Aa*-Heterozygote können Krankheit entwickeln
- *AA*-Homozygote selten bei letal-verlaufenden Krankheiten

Dominant vererbte Krankheiten

Achondroplasie (Zwergwuchs):

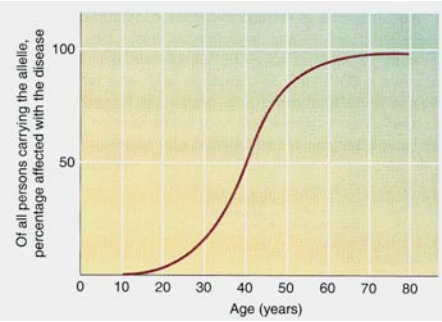
- nicht letal
- Häufigkeit 1:10‘000 (*Aa*-Heterozygote oder *AA*-Homozygote)
- 99.99% der Menschheit normalwüchsig und *aa*-homozygot

Dominant vererbte Krankheiten

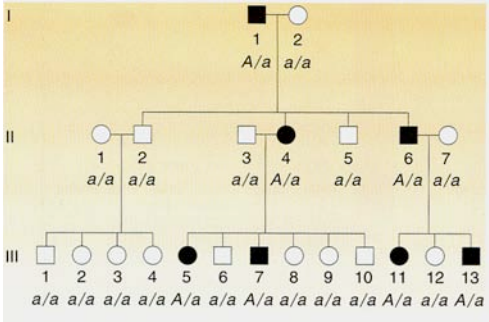
Chorea Huntington:

- letale, degenerative Nervenkrankheit
- Krankheitssymptome bei *Aa*-Heterozygoten erst spät erkennbar
- krankmachendes Allel im Genom heute durch molekulare Methoden nachweisbar

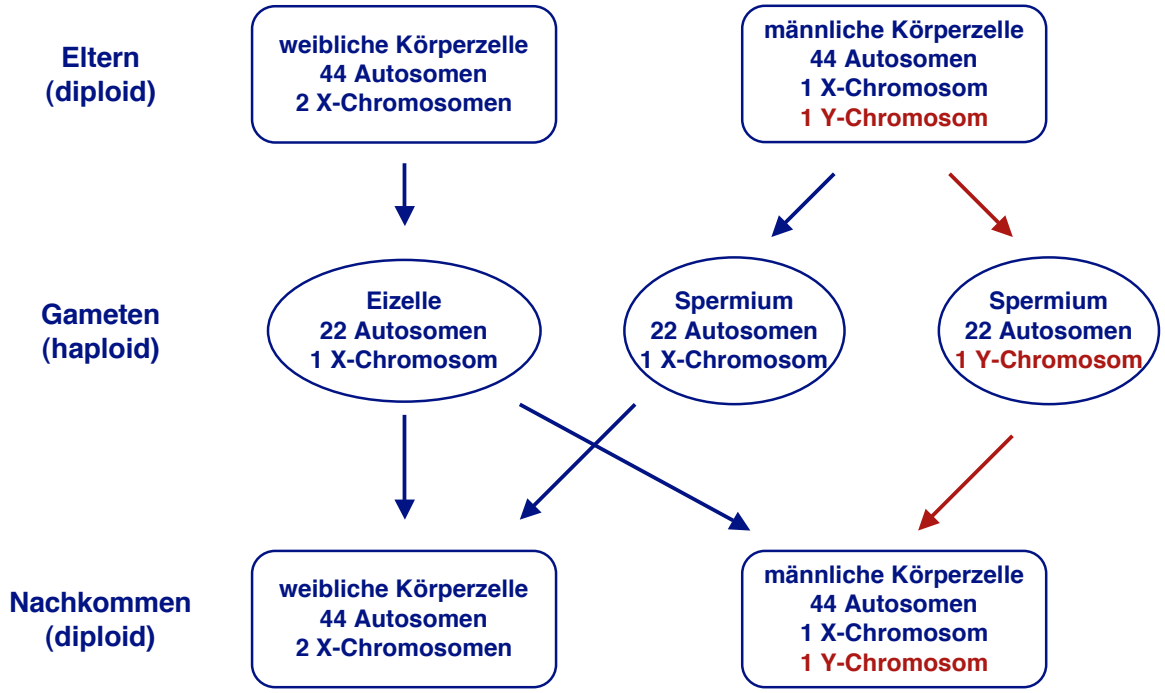
Altersabhängiger Ausbruch der Huntington-Krankheit



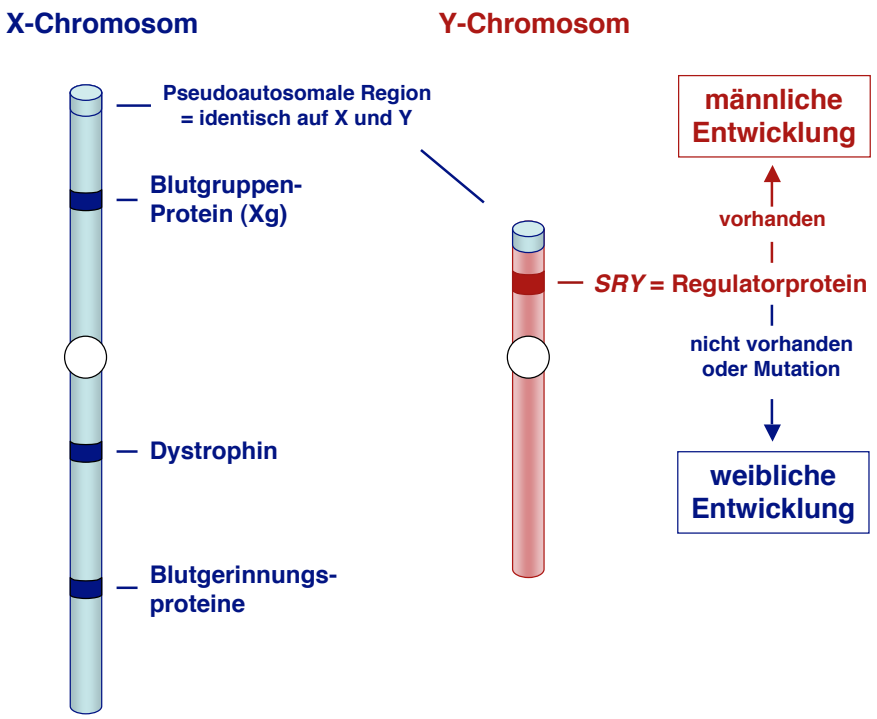
Typischer Stammbaum einer dominat vererbten Krankheit



Chromosomale Basis der Geschlechtsbestimmung bei Säugetieren



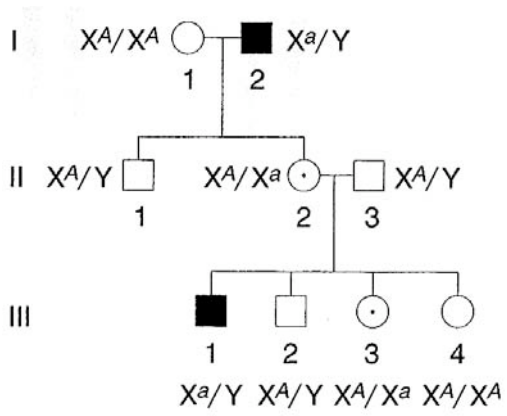
Wichtige Unterschiede zwischen X- und Y-Chromosom



Geschlechtsgebundene Erbrankheiten

Beispiel Hämophilie:

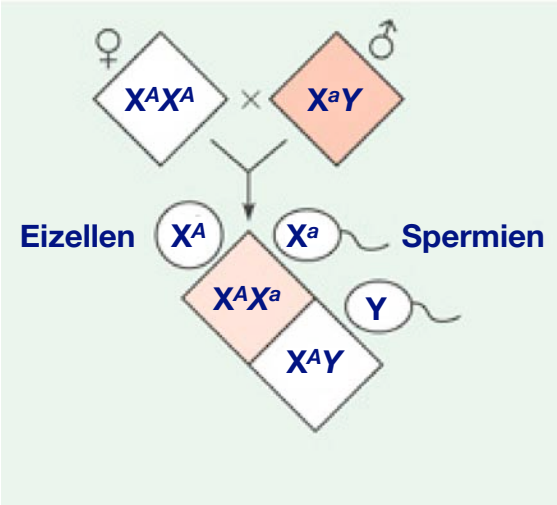
- **X-chromosomales rezessives Merkmal *a* führt zum Verlust von Blutgerinnungsprotein und zu schlechtem Wundverschluss (‚Bluter')**



Stammbaum einer X-chromosomal gebundenen Erbkrankheit (Hämophilie)

Vererbung X-chromosomaler rezessiver Merkmale

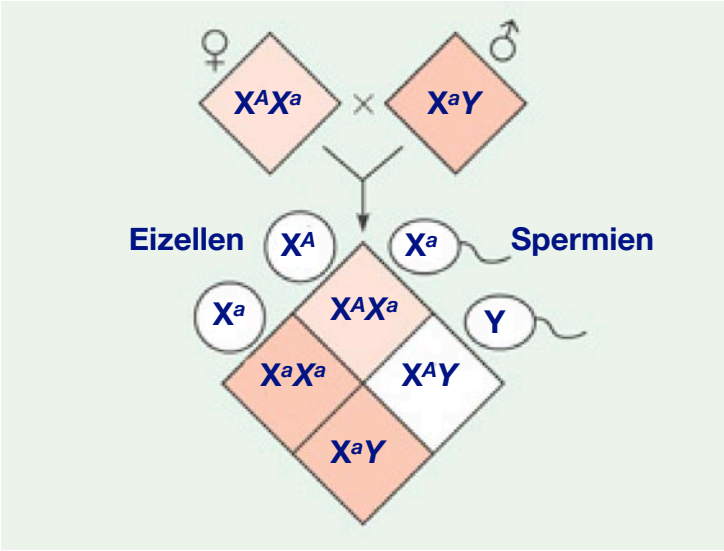
Männlicher Träger und gesunde X^AX^A-Frau



100 % der Söhne gesund
100 % der Töchter Trägerinnen

Vererbung X-chromosomaler rezessiver Merkmale

Männlicher Träger und gesunde X^AX^a-Trägerin

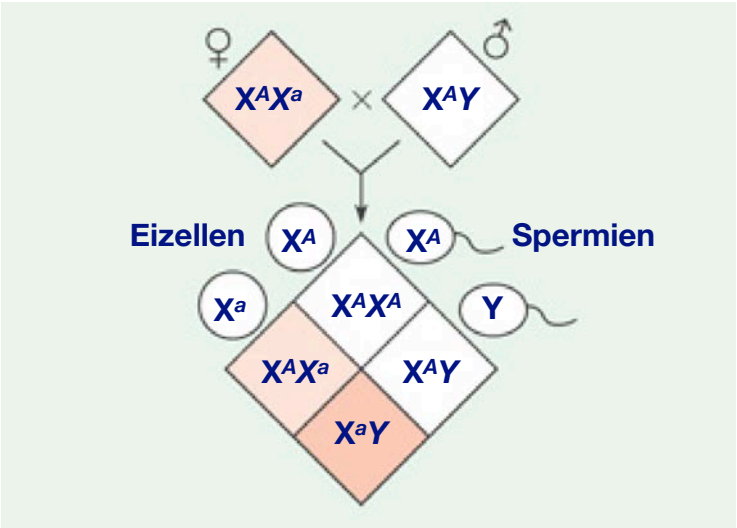


50 % der Söhne krank
50 % der Töchter krank
50 % der Töchter Trägerinnen

7. Humangenetik

Vererbung X-chromosomaler rezessiver Merkmale

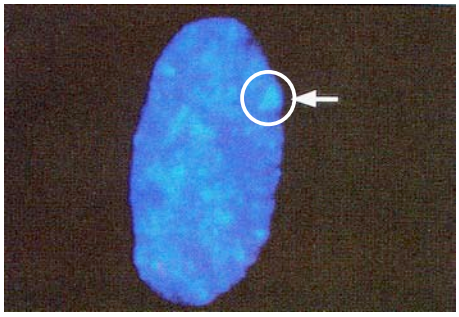
Gesunder Mann und gesunde X^AX^a-Trägerin



50 % der Söhne krank
50 % der Töchter Trägerinnen

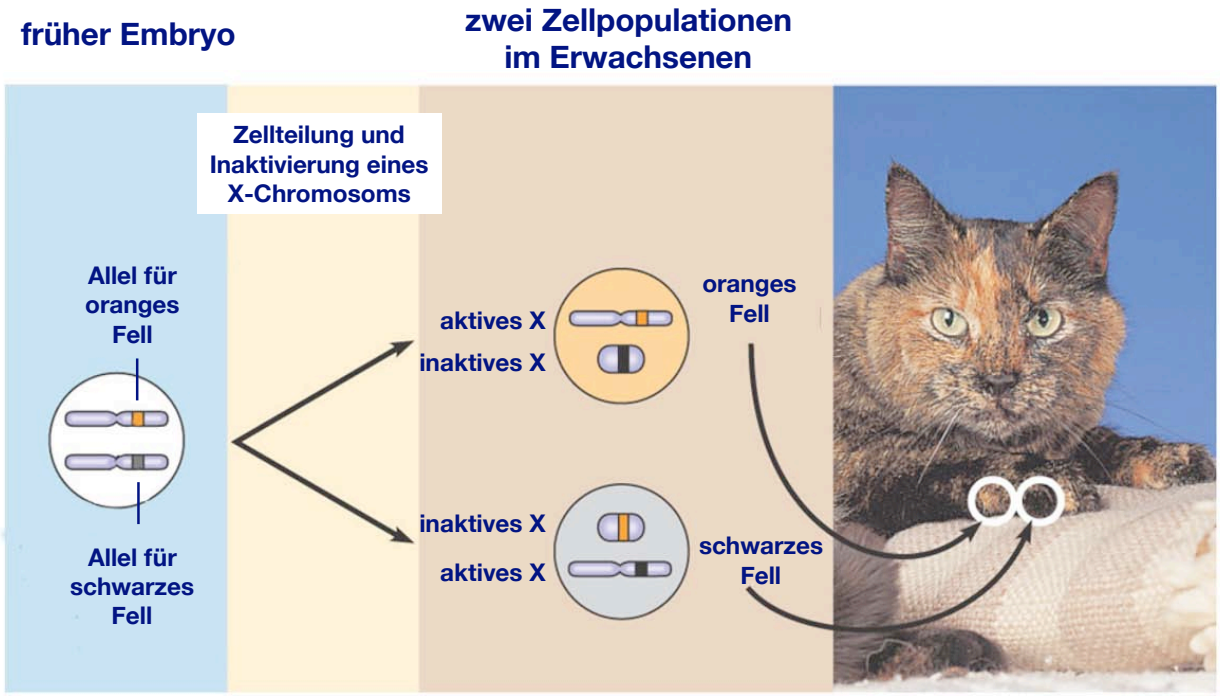
Inaktivierung des X-Chromosoms

- Herabsetzung der X-chromosomalen Gendosis auf männliches Niveau
- während früher Embryonalentwicklung weiblicher Säugetiere
- Kondensation eines zufällig gewählten X-Chromosoms (Barr-Körperchen) führt zu einer (reversiblen) Inaktivierung
- ‚Mosaikbildung' weiblicher Individuen



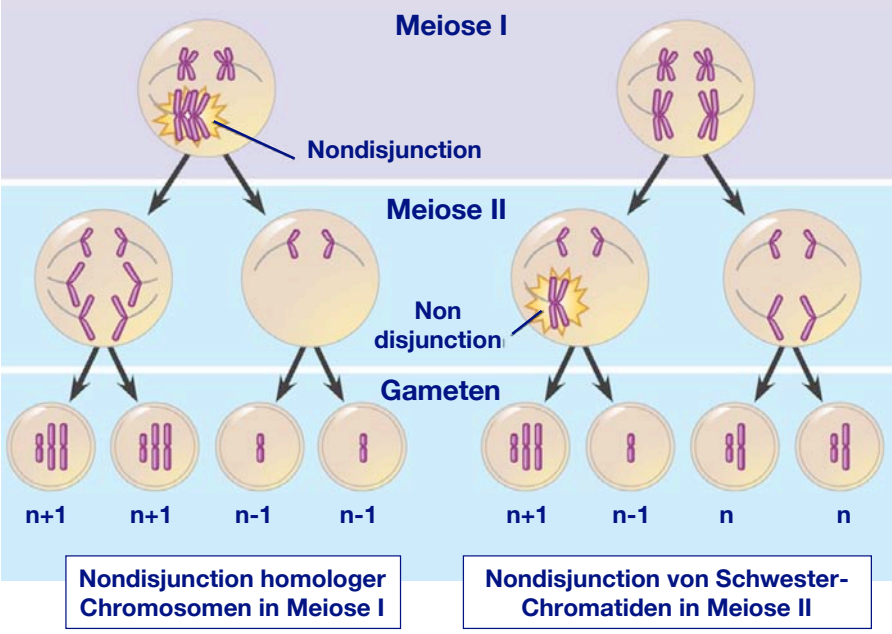
Barr-Körperchen
- kondensiertes X-Chromosom
- kompaktes Gebilde
- nur in XX-Zellen sichtbar

Inaktivierung des X-Chromosoms: Mosaikbildung



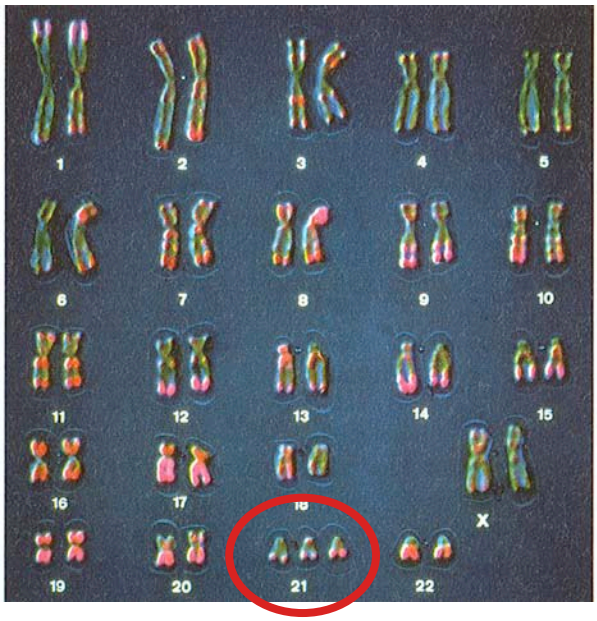
Chromosomenaberrationen: Änderung der Chromosomenzahl

- durch fehlerhafte Verteilung während der Meiose = Nondisjunction
- verursacht aberranten Chromosomensatz = Aneuploidie
- Trisomie = bestimmtes Chromosom dreifach im befruchteten Ei
- Monosomie = bestimmtes Chromosom einfach im befruchteten Ei



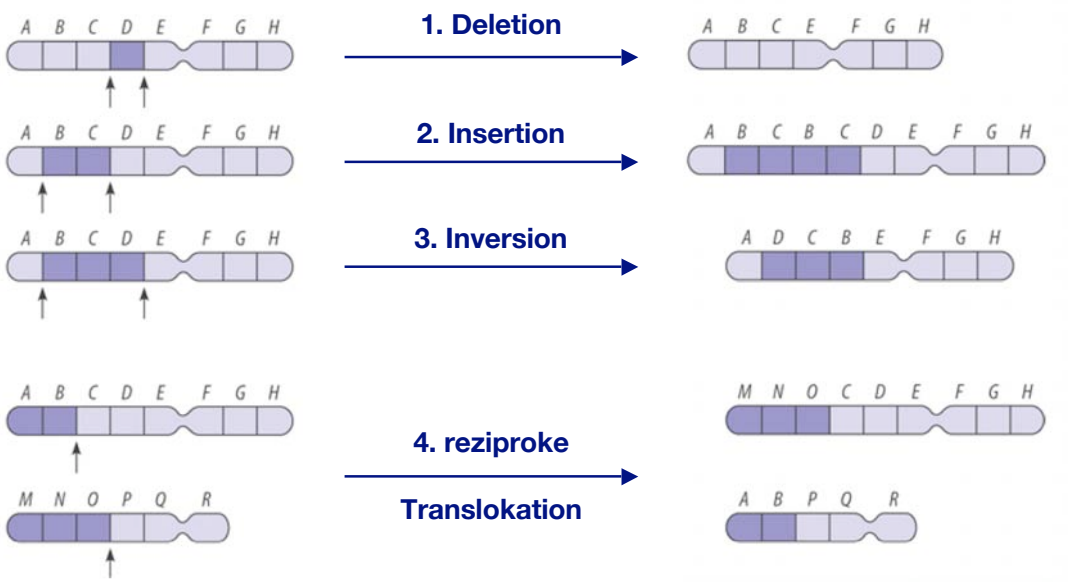
Down-Syndrom = Trisomie 21

- Chromosom 21 dreifach vorhanden, Gendosiseffekt
- nicht letal, Beeinträchtigung der normalen Entwicklung
- Häufigkeit korreliert mit Alter der Mutter und steigt von 0.04 % (Alter < 30) bis 1.25 % (Alter > 35)



Änderung der Chromosomenstruktur = Chromosomenmutationen

- Chromosomenbrüche während der Mitose
- Fehler beim Crossing-over während der Meiose

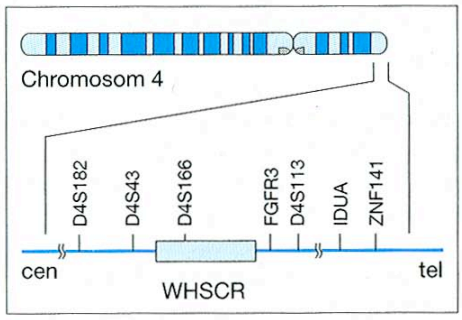


Wolf-Hirschhorn-Syndrom

- partielle Deletion des kurzen Armes von Chromosom 4 (4p-)
- meist *de novo*
- ausgeprägte körperliche und geistige Entwicklungsverzögerung

1. 11/4 Jahre alt

2. 4 Jahre alt



3. Schema der physischen Karte von 4p16

Cri-du-Chat-Syndrom (Katzenschrei-Syndrom)

- partielle Deletion eines Armes von Chromosom 5 (5p-)
- verzögerte körperliche und geistige Entwicklung
- erkrankte Kinder fallen durch langezogenes, hohes wimmerndes Schreien auf, ähnlich dem eines Kätzchens
- oft letal im Säuglings- oder Kleinkindalter

Weitere genetische Begriffe

Vollständige Dominanz

Die Phänotypen der Heterozygoten und dominanten Homozygoten Individuen zeigen keinen Unterschied.

Unvollständige Dominanz

Dominante Homozygote zeigen einen stärker ausgeprägten Phänotyp als die Heterozygoten (intermediärer Erbgang).

Codominanz

Allele eines Gens, welche beide unabhängig voneinander ihren Phäntotyp exprimieren.

Weitere genetische Begriffe

Multiple Allele

Die meisten Gene existieren in Populationen in mehr als zwei allelen Formen.

Pleiotropie (griech. *pleion* = ‚mehr')

Die Befähigung eines Gens, den Phänotyp eines Organismus in vielfacher Weise zu beeinflussen.

Epistase (griech. *epistasis* = ‚bedingter Stillstand')

Die Fähigkeit eines Gens den Phänotyp eines anderen Gens zu verändern bzw. zu überlagern.

Polygene Vererbung

Zwei oder mehrere Gene wirken zusammen, um einen Phänotyp hervorzubringen (quantitative Merkmale).

Multiple Allele: das AB0-Blutgruppensystem

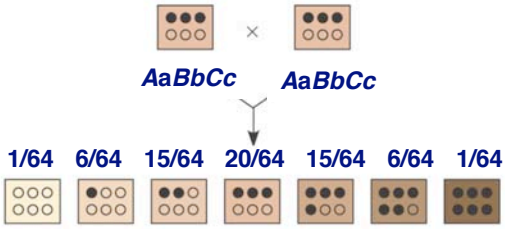
3 Allele des *I*-Gens

I^A	Produktion von Kohlenhydrat A	auf der Oberfläche roter Blutzellen
I^B	Produktion von Kohlenhydrat B	
I^i	weder A noch B	

6 Genotypen ergeben 4 Phänotypen

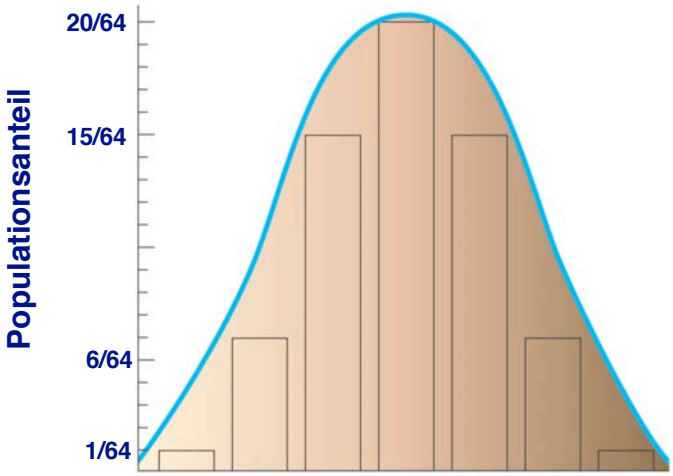
$I^A I^A$	Produktion von A	Blutgruppe A
$I^A I^i$	Produktion von A	
$I^B I^B$	Produktion von B	Blutgruppe B
$I^B I^i$	Produktion von B	
$I^A I^B$	Produktion von A und B	Blutgruppe AB
$I^i I^i$	weder A noch B	Blutgruppe 0

Polygene Vererbung: Hautfarbe des Menschen



3 unabhängige Gene

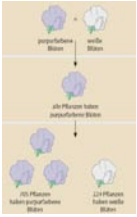
- ***A*, *B* und *C***
- **wirken additiv**
- **je 2 Allele**

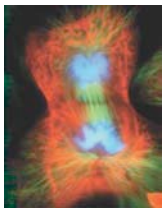


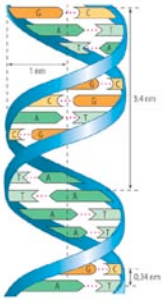
Phänotyp Hautfarbe zeigt kontinuierliche Variation

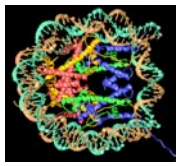
Kernmodul Genetik

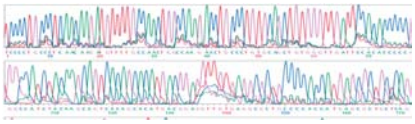
1. Einführung
2. Mendel-Genetik
3. Chromosomentheorie
4. Zellzyklus und Mitose
5. Meiose
6. Rekombination und Genkartierung
7. Humangenetik
8. **DNA als genetisches Material**
9. Replikation
10. Mutation und Reparatur
11. Genexpression
12. Transkription
13. RNA-Prozessierung
14. Translation
15. Genregulation
16. Molekulargenetische Methoden











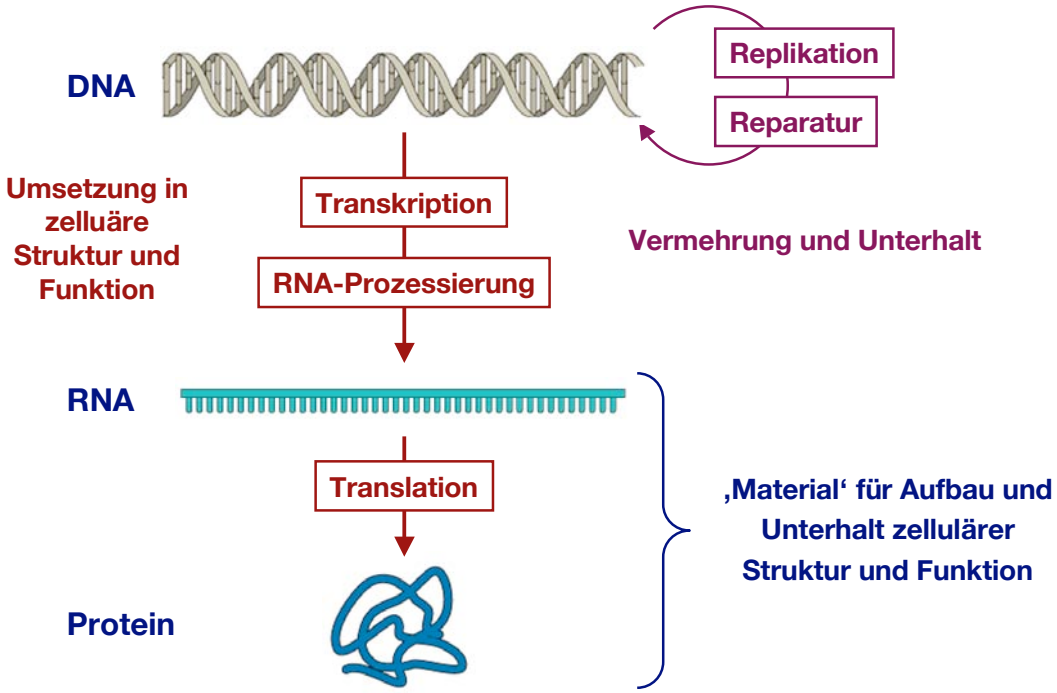
Fragen der Molekulargenetik

- molekulare Struktur von Genen und Genomen?
- molekulare Basis für Vermehrung, Unterhalt und Verteilung von Genen?
- molekulare Basis der Umsetzung von genetischer Information in zelluläre Struktur und Funktion?

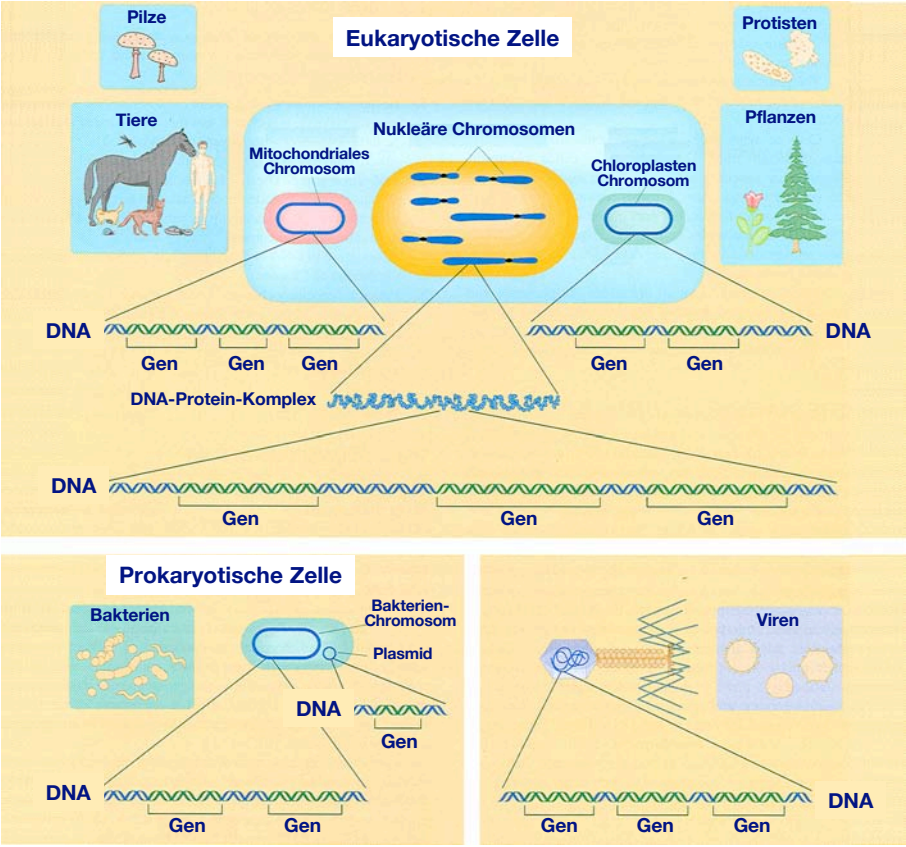
Molekulare Bausteine von Zellen

- Nukleinsäuren (DNA und RNA) = Polymere aus Nukleotidbausteinen
- Proteine = Polymere aus Aminosäurebausteinen
- Polysaccharide = Polymere aus Zuckerbausteinen
- Lipide = Bausteine für Membranhüllen
- Gelöste Salze = Ionen
- ‚Kleine' organische Verbindungen

Zentrales Dogma der Molekulargenetik



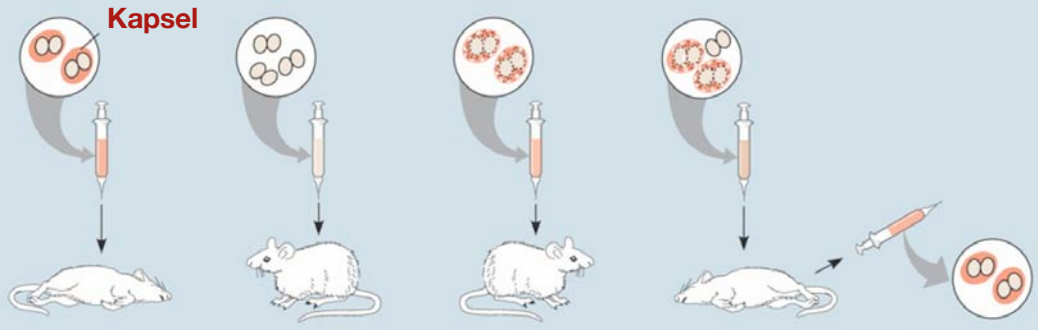
Genome lebender Organismen und Viren



F. Griffith entdeckt Transformation bei Bakterien (1928)

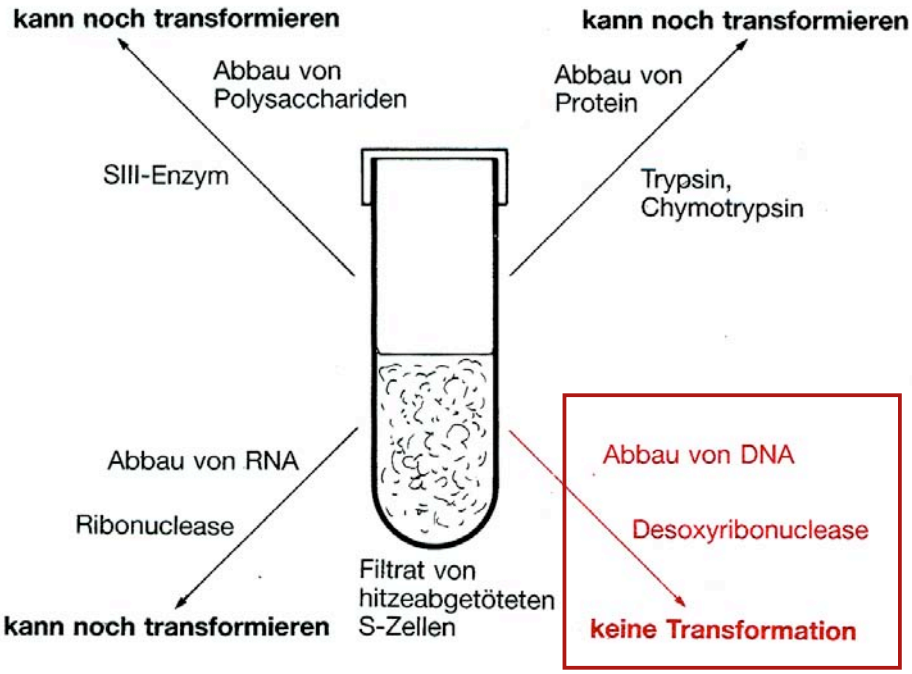
Injektion von S- und R-Stämmen des Bakteriums *Streptococcus pneumoniae* (Verursacher der Lungenentzündung) in Mäuse

1	2	3	4
lebende S-Zellen	lebende R-Zellen	durch Hitze getötete S-Zellen	Mischung aus getöteten S-Zellen mit lebenden R-Zellen

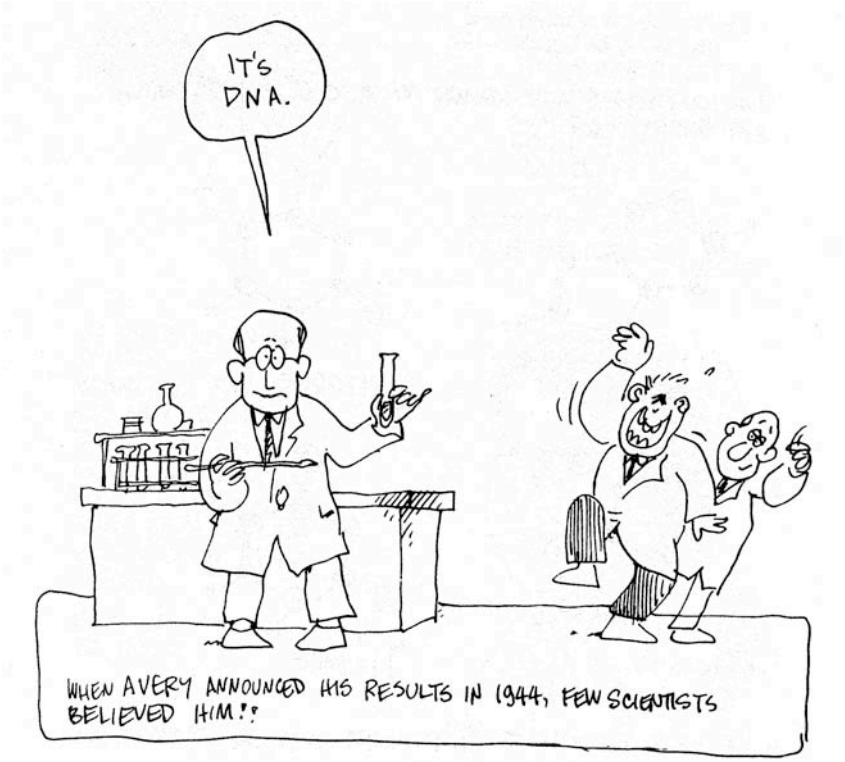


Maus stirbt	Maus lebt	Maus lebt	Maus stirbt
⬇	⬇	⬇	⬇
S-Stamm ist pathogen	R-Stamm ist harmlos	Durch Hitze getötete S-Zellen sind harmlos	Moleküle aus toten S-Zellen verwandeln (tranformieren) lebende R-Zellen in pathogene S-Zellen

Avery, McCarty and McLeod weisen DNA als genetisches Material nach (1944)

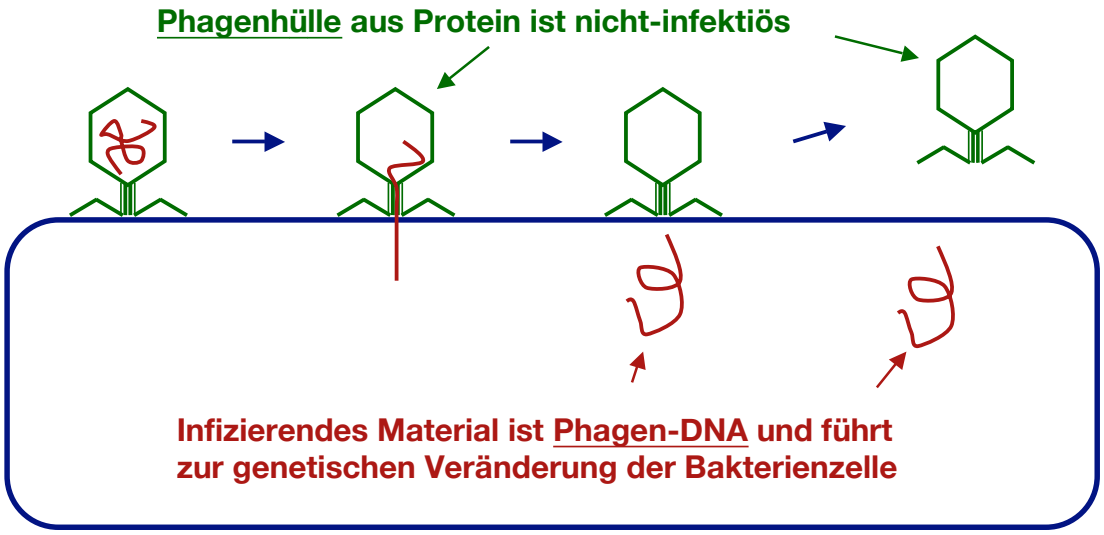


Avery verkündet 1944: ‚DNA ist das genetische Material'



Hershey-Chase-Experiment (1952)

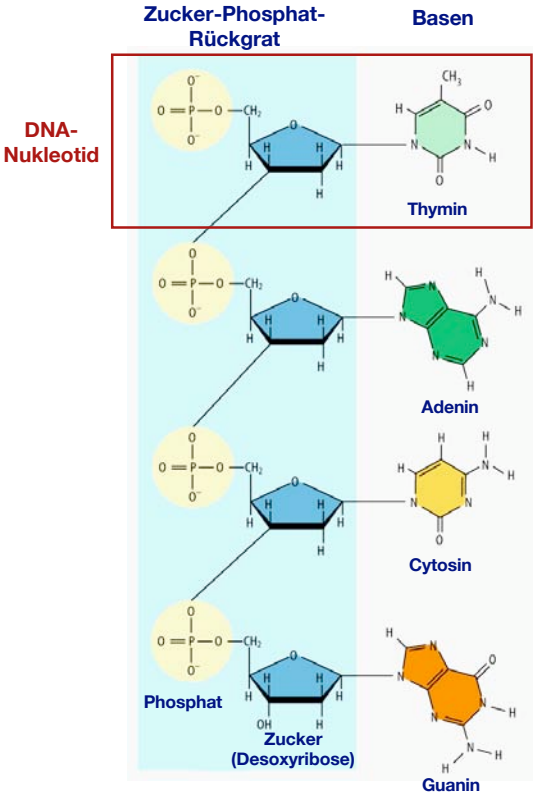
- Infizierendes Material von Bakterien-befallenden Viren (Bakteriophagen) besteht aus DNA und nicht aus Proteinen
- Nachweis durch radioaktive Markierung von Phagen-Proteinen mit radioaktivem Schwefel und Phagen-DNA mit radioaktivem Phosphor



Bakterienzelle wird durch Infektion mit Phagen genetisch verändert

Chemische Zusammensetzung der DNA

(Chargaff, Vischer und Zamenhof, 1950)



- DNA ist ein Polymer
- Monomere sind Nukelotide
- Nukleotide bestehen aus:
  - Phosphatgruppe
  - Pentosezucker (Desoxyribose)
  - stickstoffhaltiger Base
- vier mögliche Basen:
  - Thymin (T)
  - Adenin (A)
  - Cytosin (C)
  - Guanin (G)

Die ‚Chargaff-Regel'

Analyse verschiedener DNA-Proben ergibt:

- Anzahl Adenine = Anzahl Thymine A = T
- Anzahl Guanine = Anzahl Cytosine G = C

Organismus	Basenverhältnis in DNA-Proben Adenin : Thymin	Guanin : Cytosin
Kuh	1,04	1,00
Mensch	1,00	1,00
Lachs	1,02	1,02
Escherichia coli	1,09	0,99

Daten aus: Chargaff, E. *Essays on Nucleic Acids* (Elsevier) 1963 S. 30.

Aber:

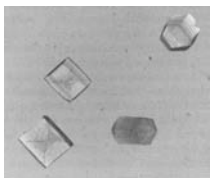
- GC-Gehalt (AT-Gehalt) variiert von Art zu Art
- A + T nicht unbedingt G + C

DNA-Strukturaufklärung durch Röntgenbeugung

(Rosalind Franklin und Maurice Wilkins, 1952)

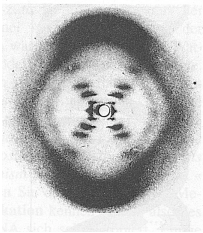
DNA-Kristalle

möglichst reine DNA (Rudolf Signer, Bern) → **Kristallisation**



↓

Röntgenaufnahme



Röntgenbeugungs-muster

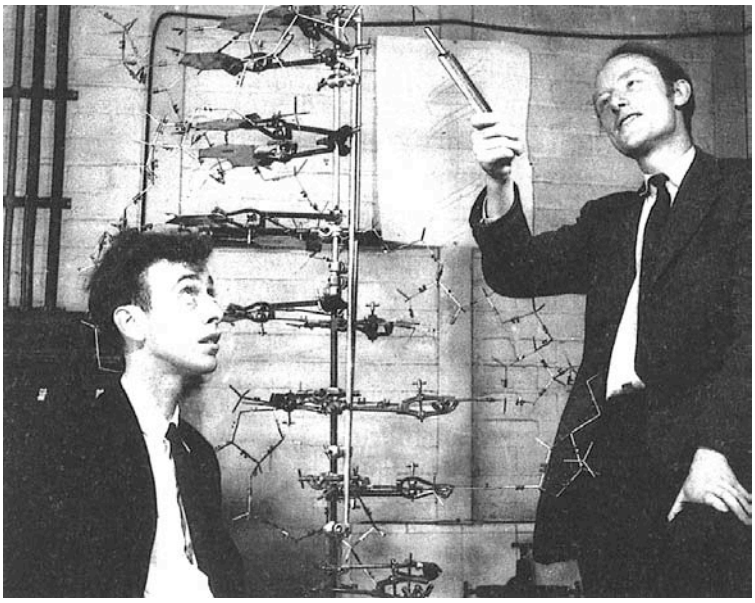
← **Ableiten der Struktur**

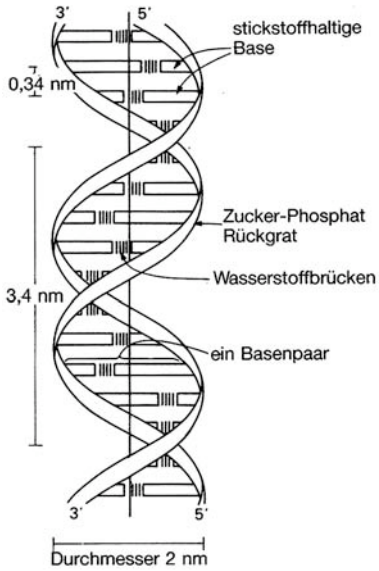
DNA ist eine Helix

1. **Periodizität 3.4 nm**
2. **Periodizität 0.34 nm**

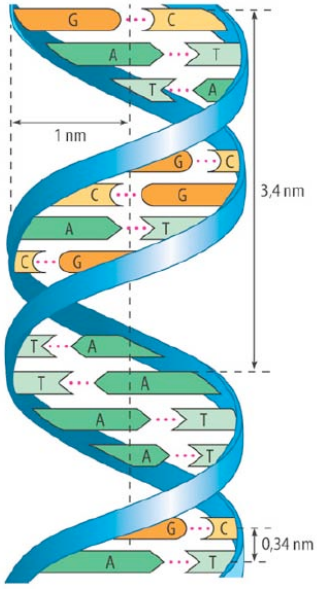
DNA-Struktur ist eine Doppelhelix

(James Watson und Francis Crick, 1953)





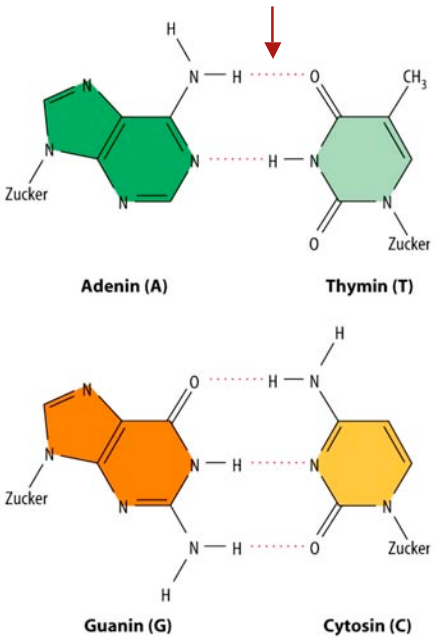
Eigenschaften der DNA-Doppelhelix



1. DNA-Doppelhelix besteht aus zwei Polynukleotiden.
2. Stickstoffhaltige Basen sind auf der Innenseite.
3. Basen der beiden Polynukleotide stehen über Wasserstoffbrücken (•••) in Wechselwirkung.
4. Eine Windung der Helix enthält 10 Basenpaare (bp).
5. Die beiden Stränge verlaufen antiparallel.
6. Doppelhelix hat zwei verschiedene Furchen.
7. Doppelhelix ist rechtsgewunden.

Basenpaarung in der DNA

Wasserstoffbrücke (= schwache elektrostatische Kräfte)



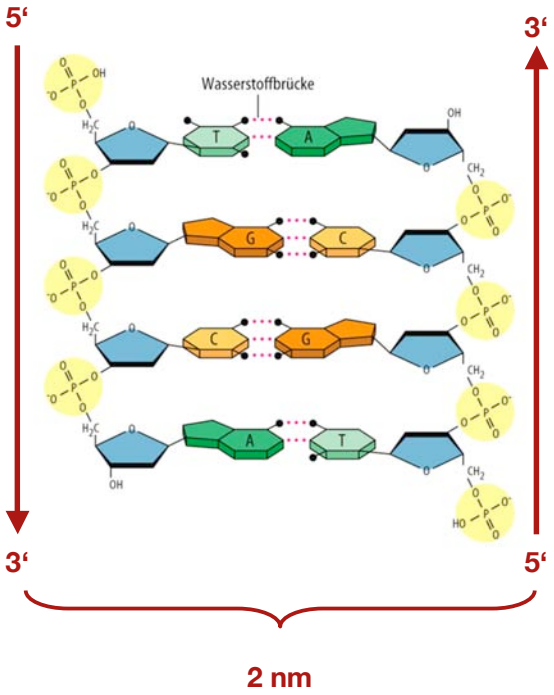
AT-Basenpaar

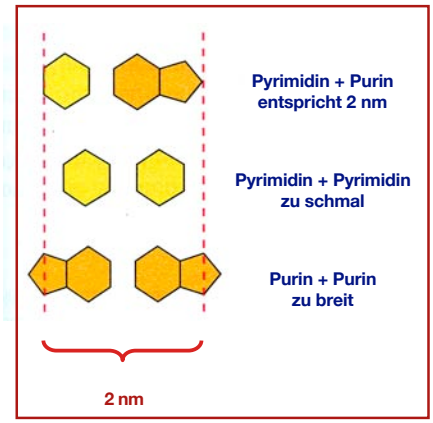
- Adenin (Purinbase) paart mit Thymin (Pyrimidinbase) des Gegenstrangs
- Paarung erfolgt über zwei Wasserstoff-brücken

GC-Basenpaar

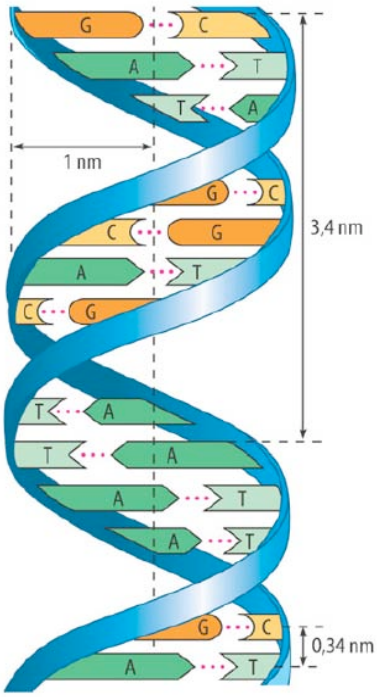
- Guanin (Purinbase) paart mit Cytosin (Pyrimidinbase) des Gegenstrangs
- Paarung erfolgt über drei Wasserstoff-brücken

Basenpaarung zwischen antiparallelen Strängen



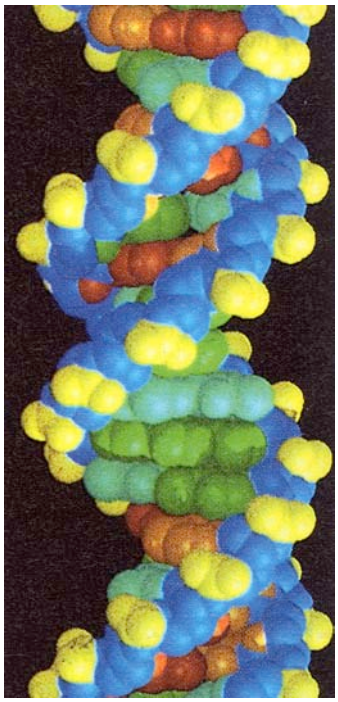


DNA-Doppelhelix hat zwei verschiedene Furchen

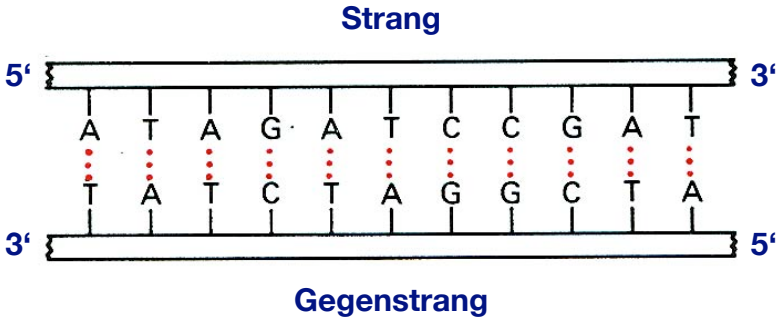


kleine Furche

große Furche



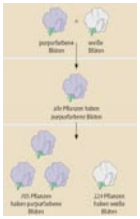
Paarung komplementärer Basen ist der entscheidende Vorgang der Molekulargenetik

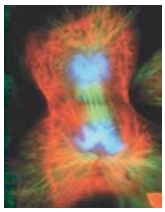
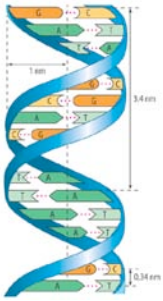
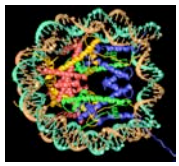
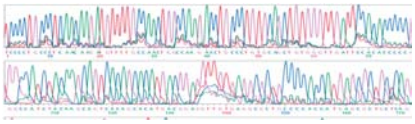


- Basensequenz eines Strangs legt Basensequenz des Gegenstrangs fest
- Basensequenz von Strang und Gegenstrang sind komplementär

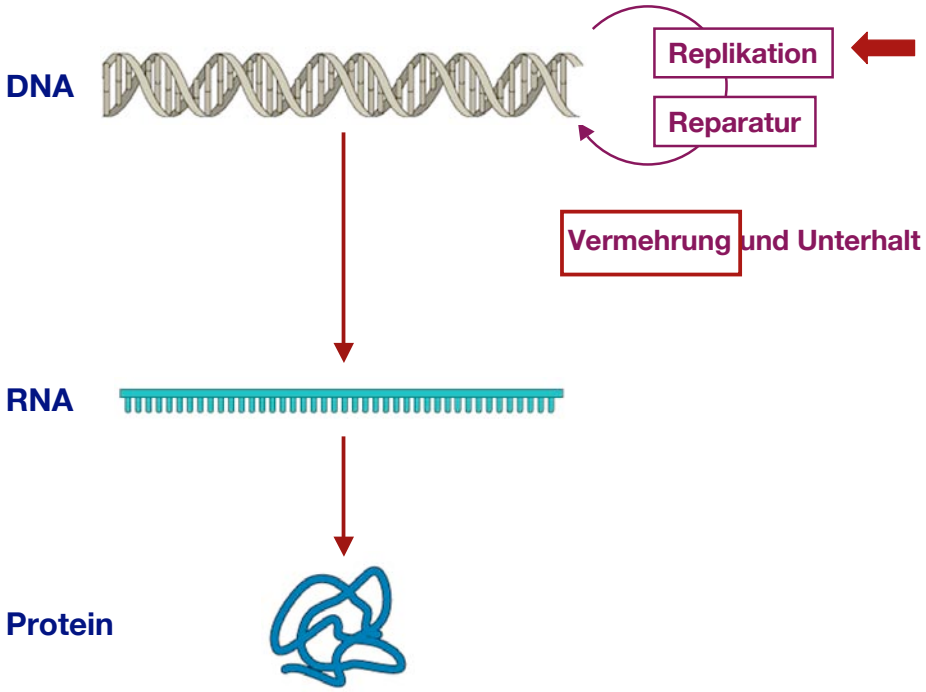
Kernmodul Genetik

1. Einführung
2. Mendel-Genetik
3. Chromosomentheorie
4. Zellzyklus und Mitose
5. Meiose
6. Rekombination und Genkartierung
7. Humangenetik
8. DNA als genetisches Material
9. **Replikation**
10. Mutation und Reparatur
11. Genexpression
12. Transkription
13. RNA-Prozessierung
14. Translation
15. Genregulation
16. Molekulargenetische Methoden

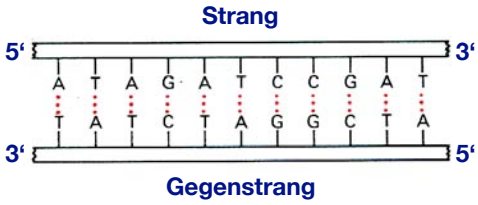


Replikation

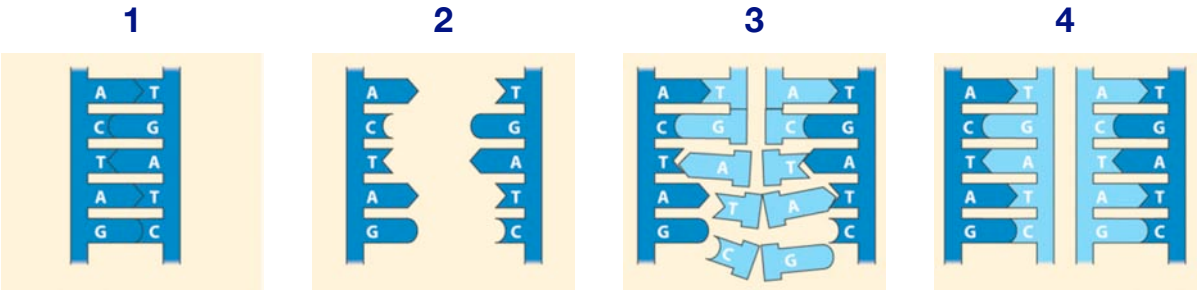


Wichtige Aspekte der DNA-Replikation



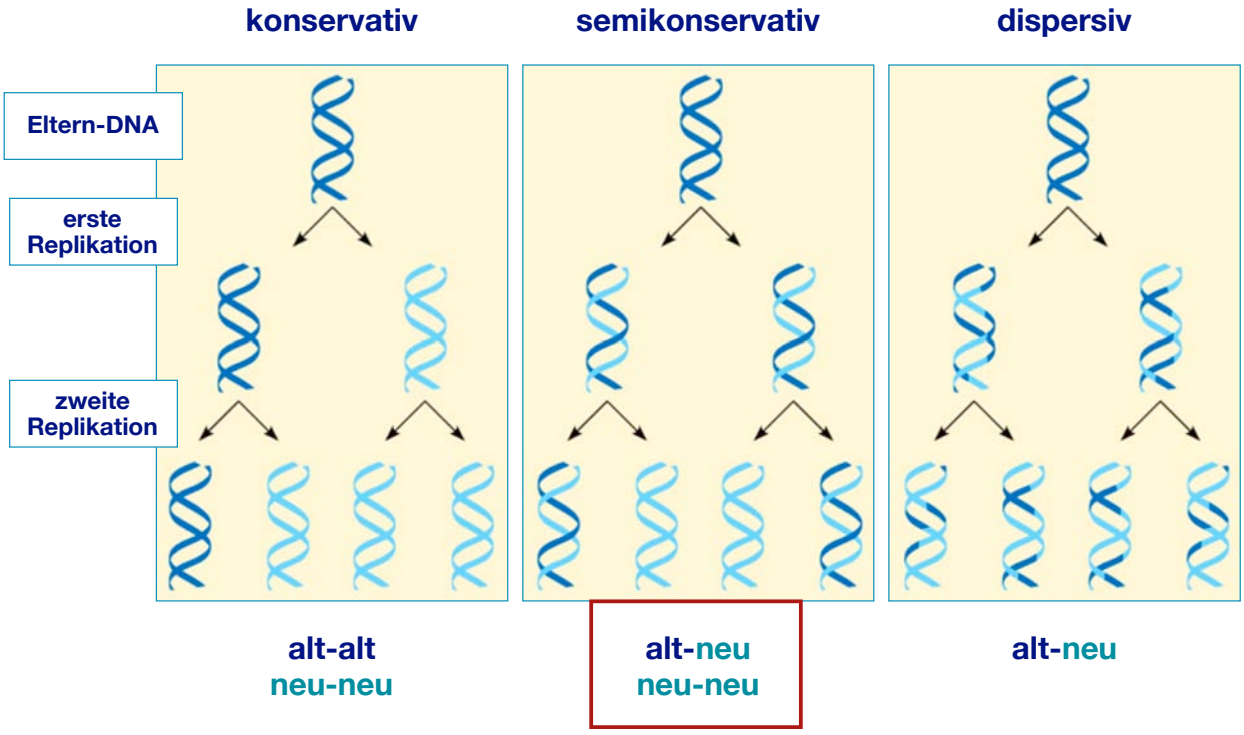
- Herstellung einer vollständigen Kopie aller Gene pro Zellteilung
- hohes Maß an Genauigkeit (1 Fehler pro 1 Milliarde Nukleotide)
- semi-konservative Verdoppelung der DNA-Doppelhelix
- Beteiligung vieler Proteine an verschiedenen Reaktionen
  = ‚Replikationsapparat'

Grundprinzip der DNA-Replikation

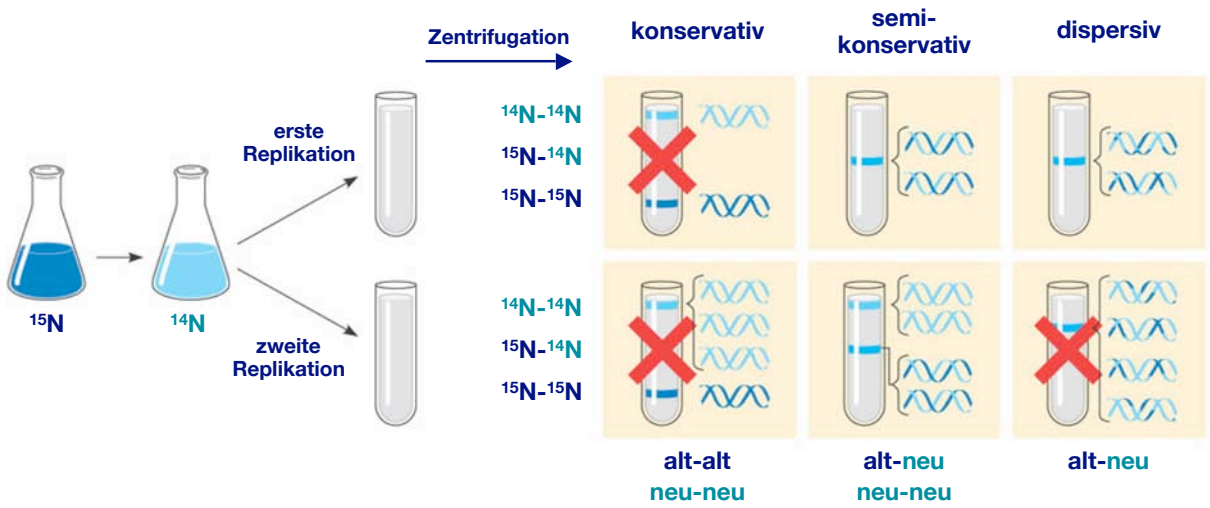


1. DNA-Doppelhelix aus zwei komplementären Strängen.
2. Trennung der komplementären Stränge.
3. ‚Alte' Stränge dienen als Vorlage (Matrize) zur Synthese der beiden ‚neuen' Stränge gemäß der AT- und GC-Regel.
4. Verknüpfung der ‚neuen' Nukleotide über Zucker-Phosphat-Rückgrad ergibt zwei identische DNA-Doppelhelices aus je einem ‚alten' und ‚neuen' Strang

Drei Möglichkeiten der DNA-Replikation



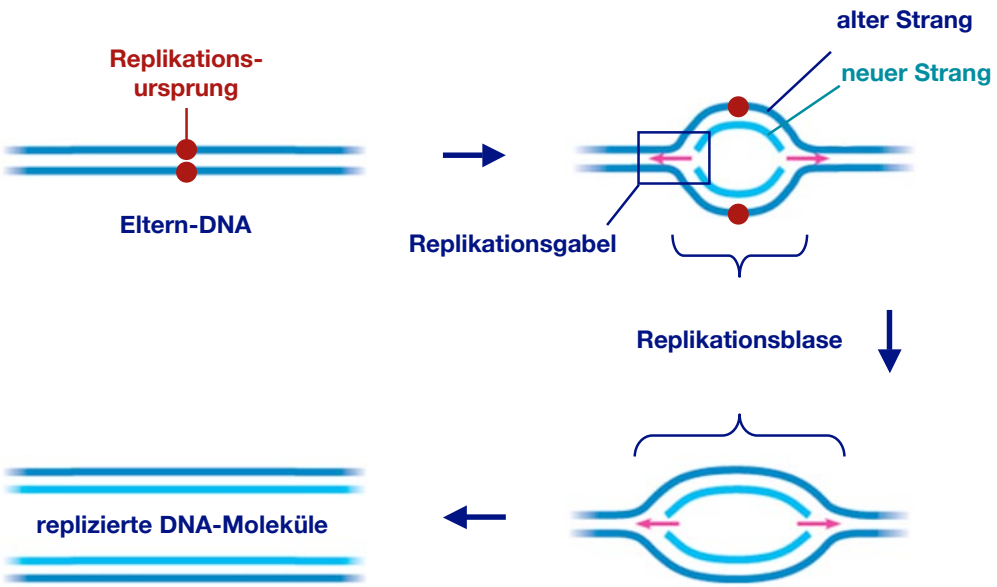
Meselson-Stahl-Experiment (1958)



^{15}N = ‚schwerer' Stickstoff ergibt ‚schwere' DNA-Basen

^{14}N = ‚leichter' normaler Stickstoff ergibt ‚leichte' DNA-Basen

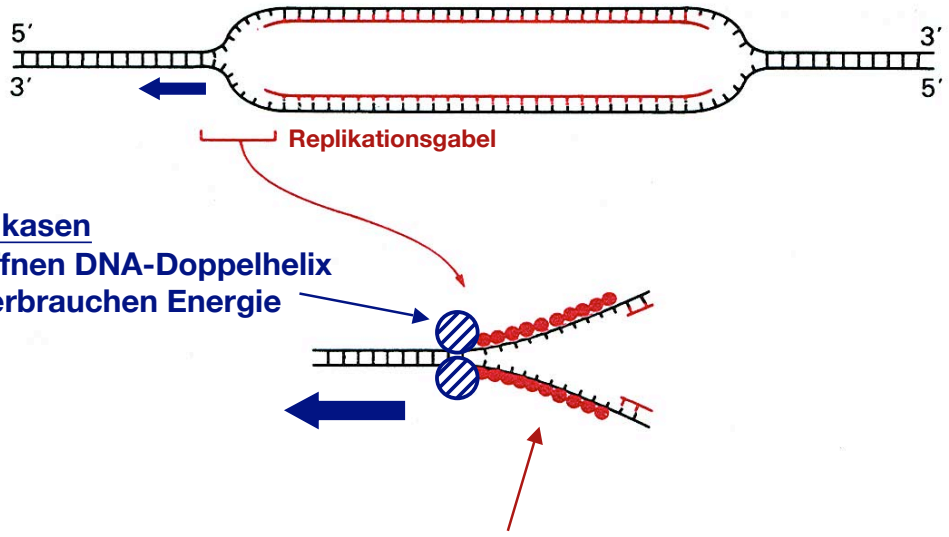
Replikation im Überblick



Die wichtigsten Proteine der DNA-Replikation

Bezeichnung	Funktionen
1. Helikasen	Entwinden der DNA-Doppelhelix
2. Einzelstrang- bindende Proteine (SSB-Proteine)	Stabilisierung der geöffneten DNA-Doppelhelix
3. Primasen	Synthese eines kurzen RNA-Primers für das Starten der DNA-Synthese
4. DNA-Polymerasen	DNA-Synthese, Korrekturlesen
5. Ligasen	Verknüpfung von DNA-Einzelsträngen

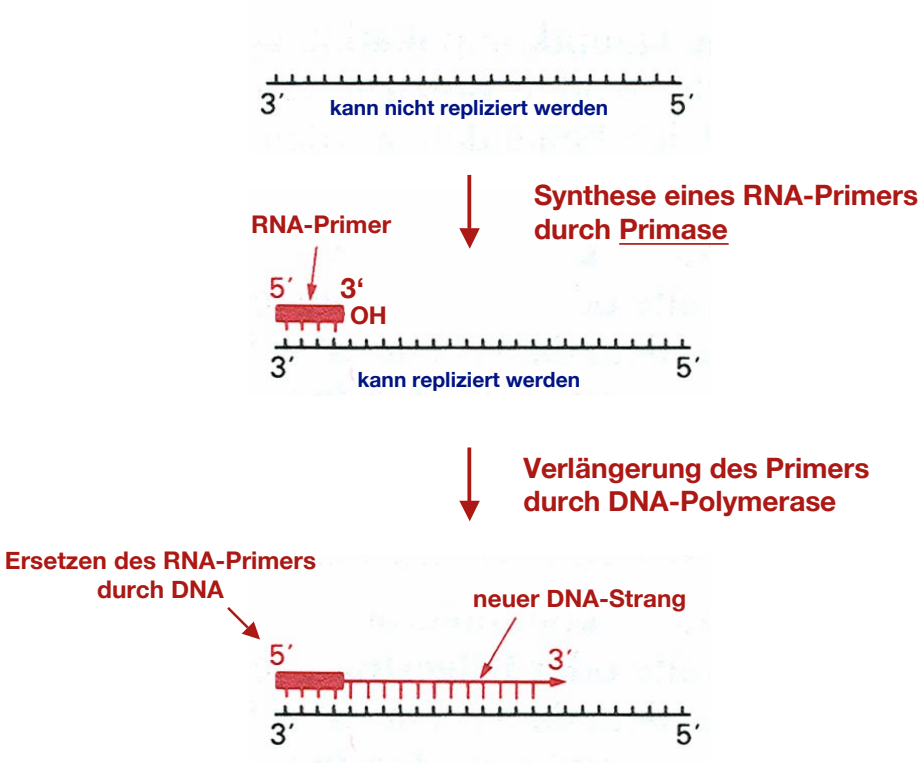
Helikasen und Einzelstrang-bindende Proteine



Helikasen
- öffnen DNA-Doppelhelix
- verbrauchen Energie

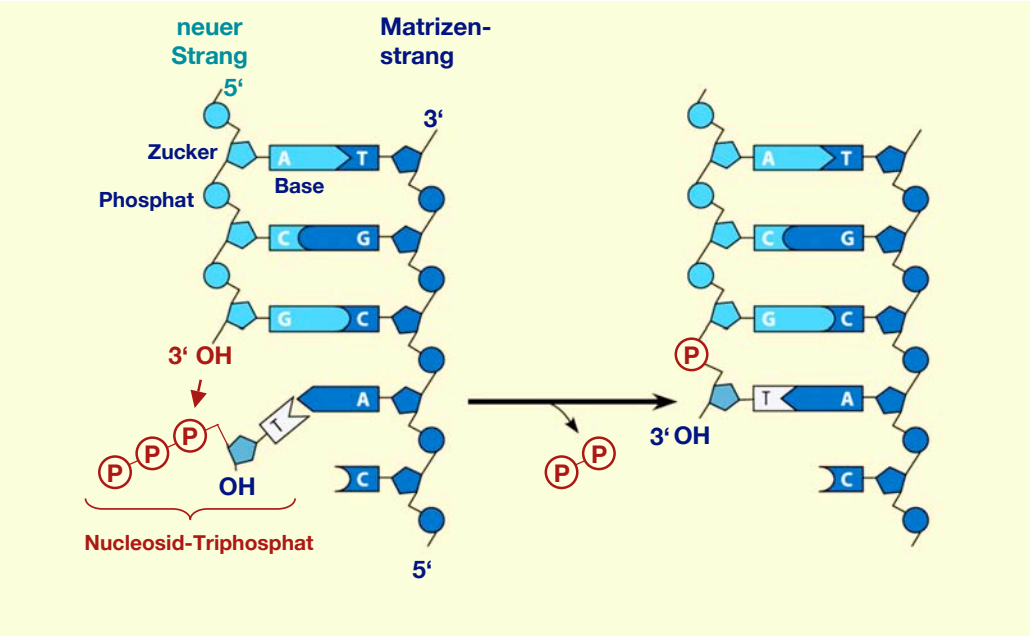
Einzelstrang-bindende Proteine (SSB-Proteine)
- binden entstehende Einzelstränge
- verhindern sofortiges Verschliessen

DNA-Synthese durch DNA-Polymerase erfordert einen Primer



DNA-Polymerase-katalysierte DNA-Synthesereaktion

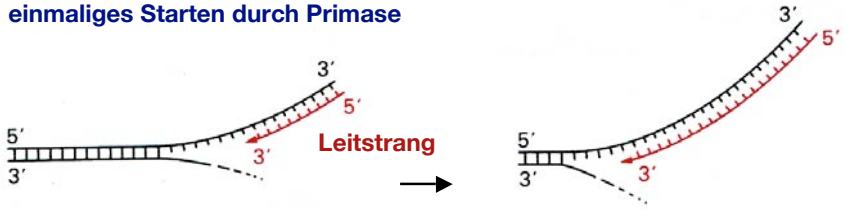
- Knüpfen neuer Nukleotide an freie 3‘-Enden
- Antrieb der Reaktion durch Hydrolyse von Nucleosid-Triphosphaten
- Wachstum des neuen Strangs vom 5‘- zum 3‘-Ende



Unterschiedliche Replikation von Leitstrang und Folgestrang

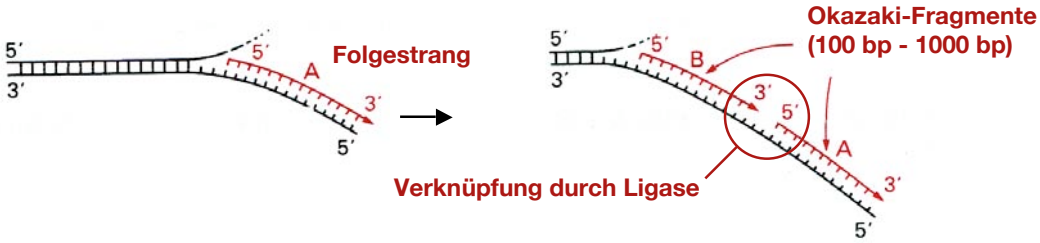
Replikation des Leitstrangs

- kontinuierliche 5‘ → 3‘ DNA-Synthese
- einmaliges Starten durch Primase

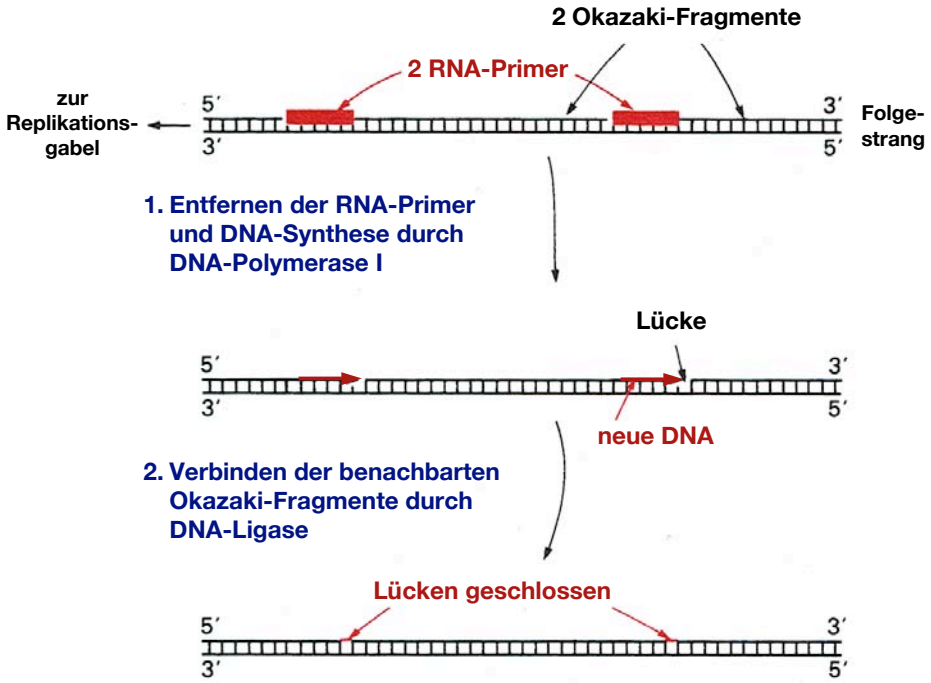


Replikation des Folgestrangs

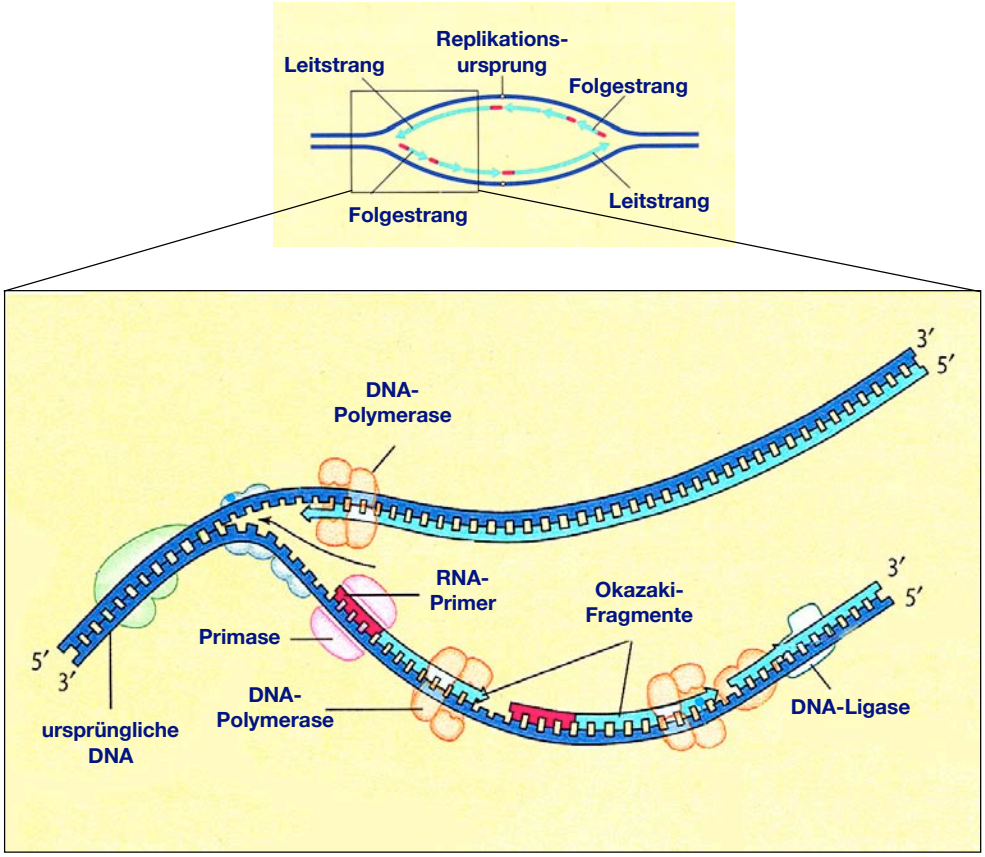
- diskontinuierliche 5‘ → 3‘ DNA-Synthese
- wiederholtes Starten durch Primase notwendig
- Verknüpfung der entstehenden Fragmente durch Ligase



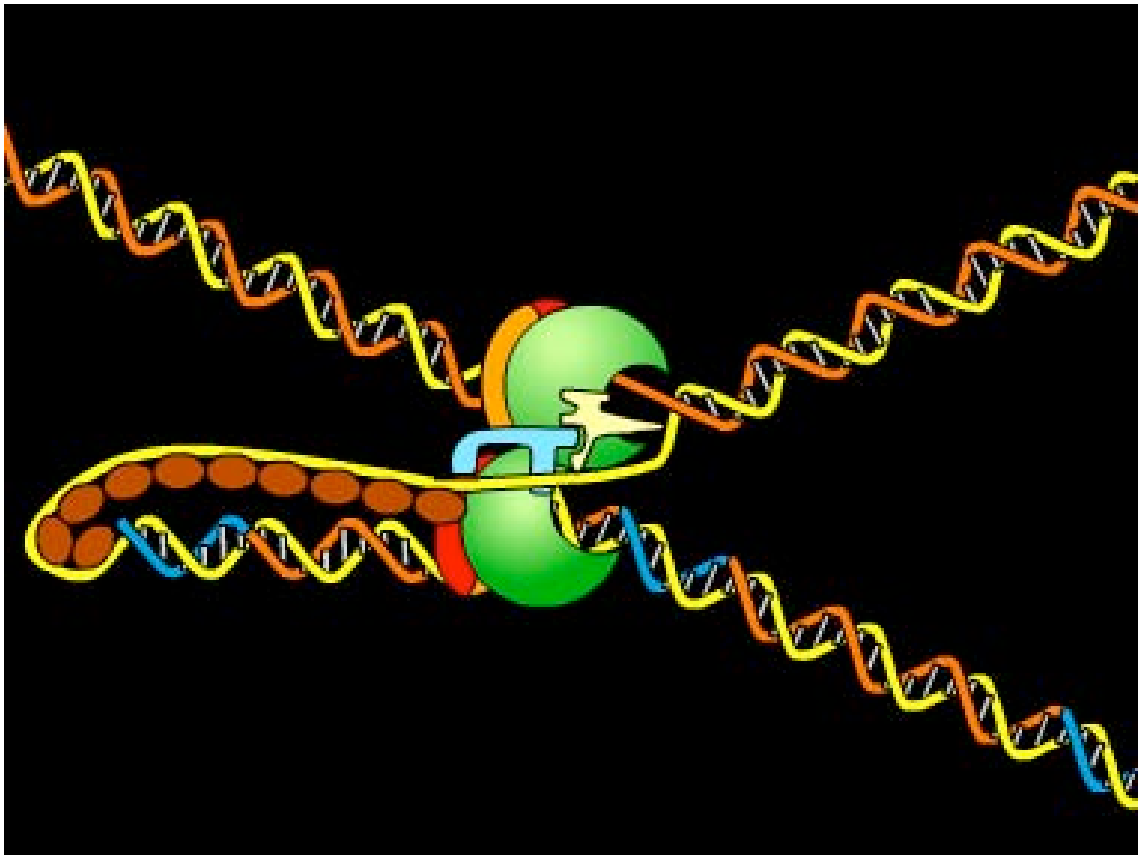
Ersetzen der RNA-Primer durch DNA



Zusammenfassung der DNA-Replikation



DNA-Replikation



Prokaryotische und Eukaryotische DNA-Polymerasen

Die drei DNA-Polymerasen von *E. coli*

E. coli besitzt drei DNA-Polymerasen mit folgenden Merkmalen:

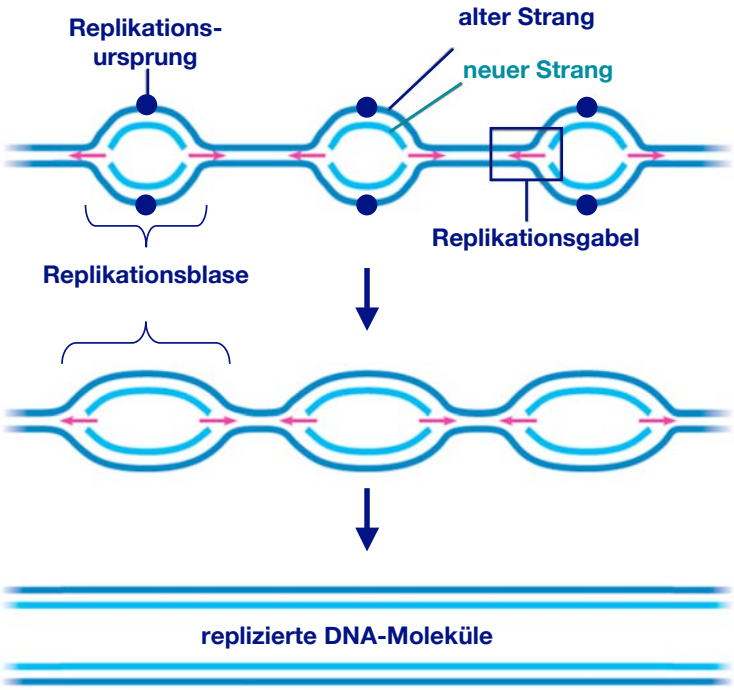
Enzym	Molmasse (Dalton)	ungefähre Zahl der Moleküle je Zelle	Funktion
DNA-Polymerase I	109 000	400	DNA-Replikation, Reparatur
DNA-Polymerase II	120 000	?	DNA-Reparatur?
DNA-Polymerase III	800 000	10–20	DNA-Replikation

A. Kornberg

Die fünf DNA-Polymerasen der Säugerzellen

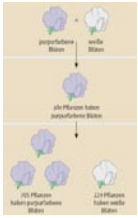
	Molmasse	Funktion
DNA-Polymerase α	> 500 000	Replikation der DNA im Zellkern
DNA-Polymerase β	40 000	DNA-Reparatur
DNA-Polymerase γ	140 000	Replikation mitochondrialer DNA
DNA-Polymerase δ	173 000	Replikation der DNA im Zellkern
DNA-Polymerase ε	215 000	DNA-Reparatur

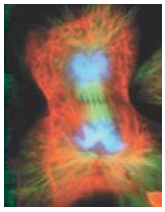
Replikation bei Eukaryoten

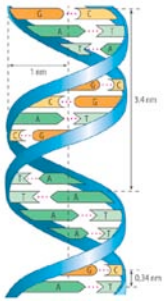


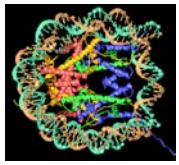
Kernmodul Genetik

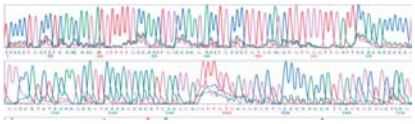
1. Einführung
2. Mendel-Genetik
3. Chromosomentheorie
4. Zellzyklus und Mitose
5. Meiose
6. Rekombination und Genkartierung
7. Humangenetik
8. DNA als genetisches Material
9. Replikation
10. **Mutation und Reparatur**
11. Genexpression
12. Transkription
13. RNA-Prozessierung
14. Translation
15. Genregulation
16. Molekulargenetische Methoden



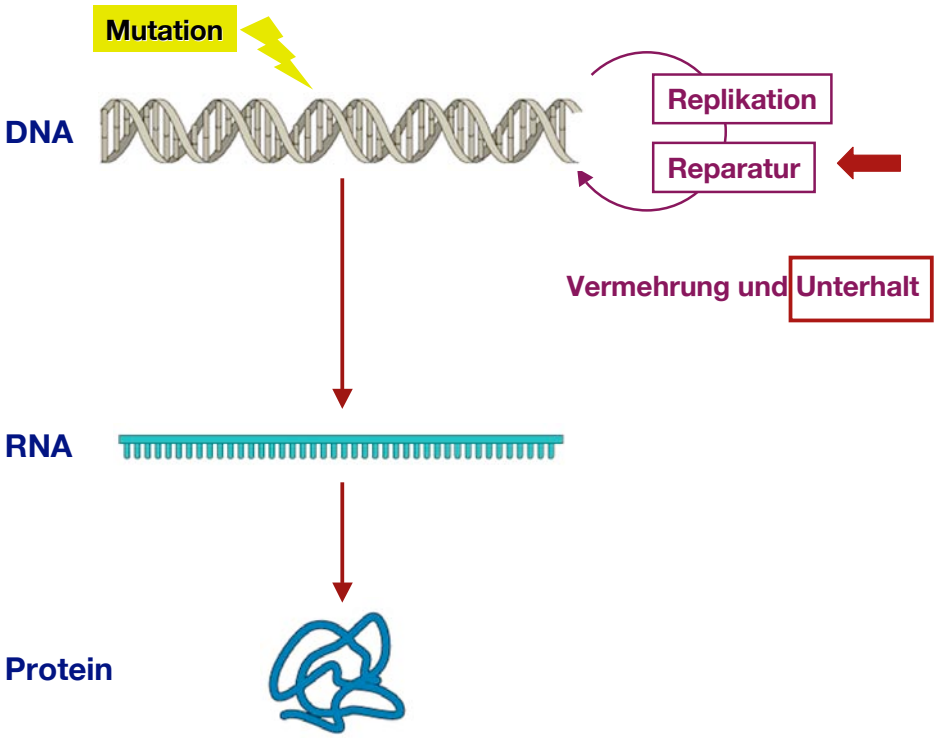








Mutation und Reparatur



Mutationen sind Veränderungen der Nukleotidsequenz

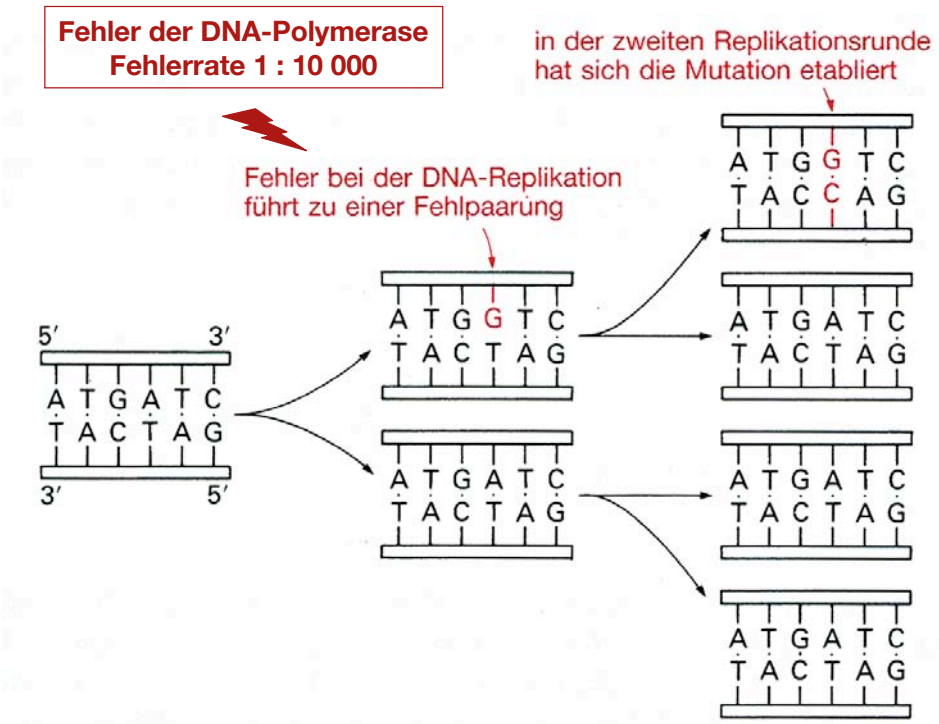
Replikationsfehler

- **Fehlpaarung (mismatch) von Nukleotiden**
- **Veränderte Nukleotidsequenz in 2. Replikationsrunde**
- **Fehlerate 1 : 10 000**

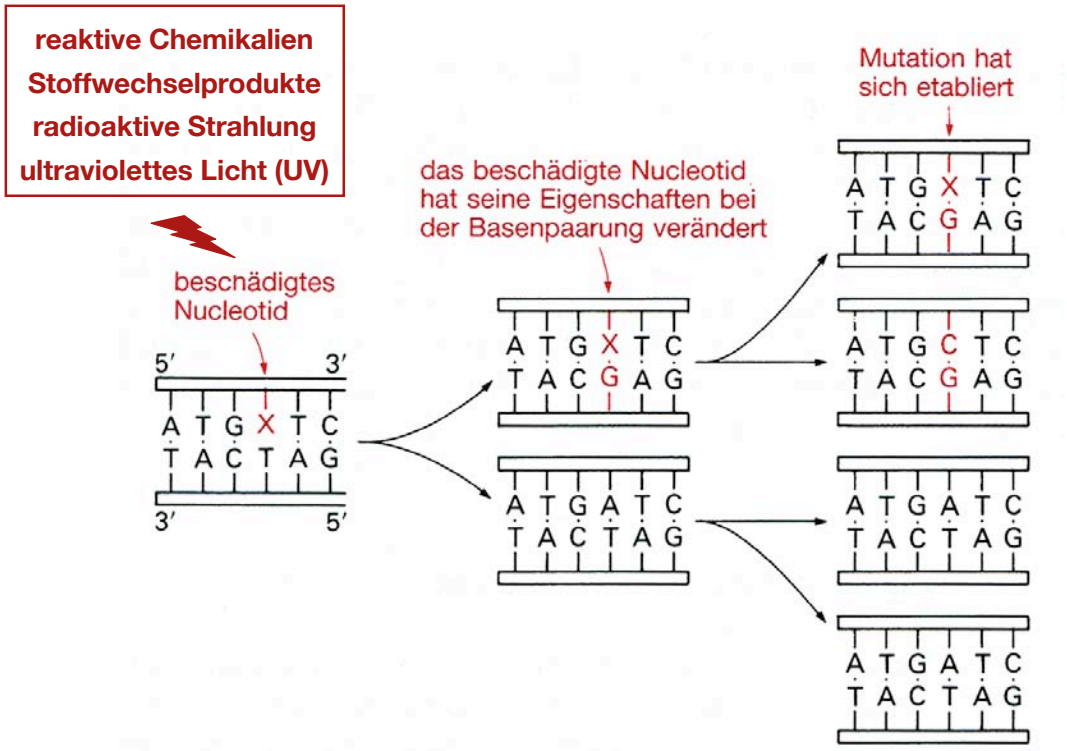
Strukturelle Schädigung

- **Veränderung der Nukleotidstruktur durch chemische oder physikalische Mutagene**
- **Einbau falscher Nukleotide bei der Replikation**
- **Veränderte Nukleotidsequenz in 2. Replikationsrunde**

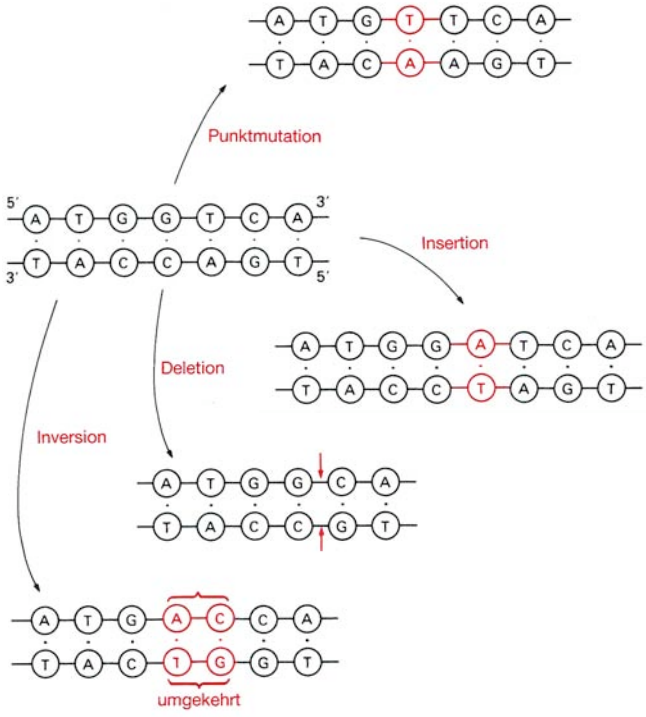
Mutation durch Fehlpaarung



Mutation durch Strukturveränderung



Mutationsarten



Punktmutation
Austausch eines Nukelotids gegen ein anderes

Insertion
Hinzukommen neuer Nukleotide

Deletion
Entfernen von Nukleotiden

Inversion
Herausschneiden mehrerer Nukleotide und Einfügen in umgekehrter Orientierung an derselben Stelle

DNA-Reparaturmechanismen

Fehlpaarungsreparatur

- erkennt und korrigiert Fehler (falsch eingebaute Basen), die während der Replikation eingeführt werden
- z.B. durch Korrekturlesefunktion bakterieller DNA-Polymerasen mit 3'→ 5'-Exonuclease-Aktivität
- Reduziert Fehlerate auf 1 : 1 000 000 000 (von 1 : 10 000)

⇩

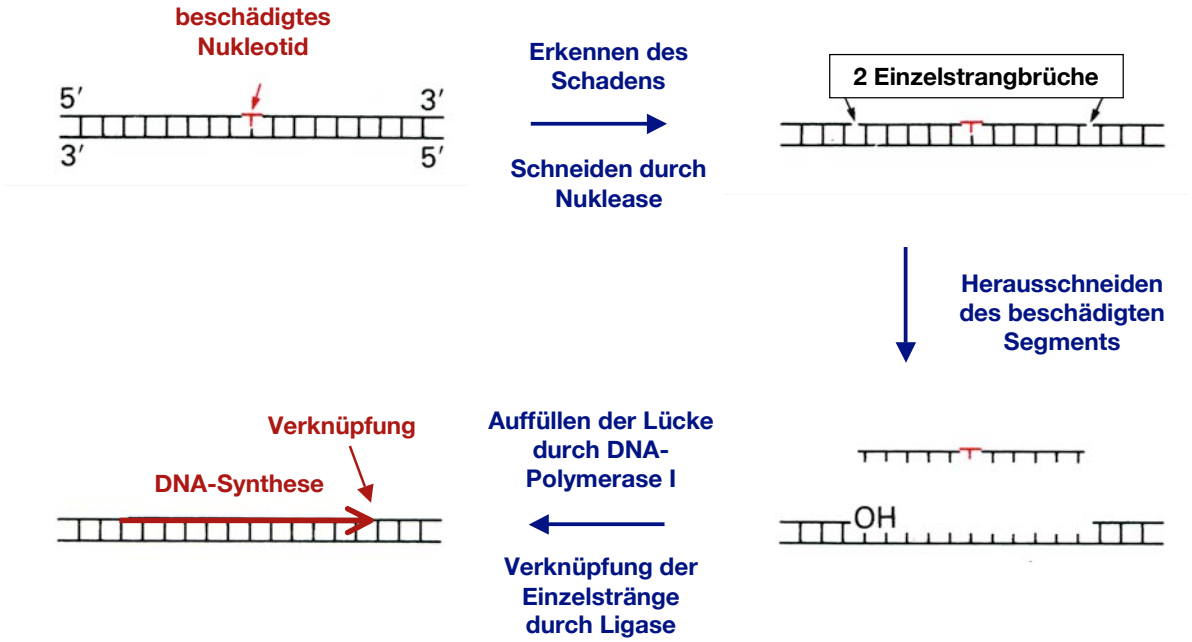
Excisionsreparatur

- wichtigster Mechanismus zur Schadensbeseitigung
- mehr als hundert DNA-Reparatur Enzyme (Proteine) bekannt

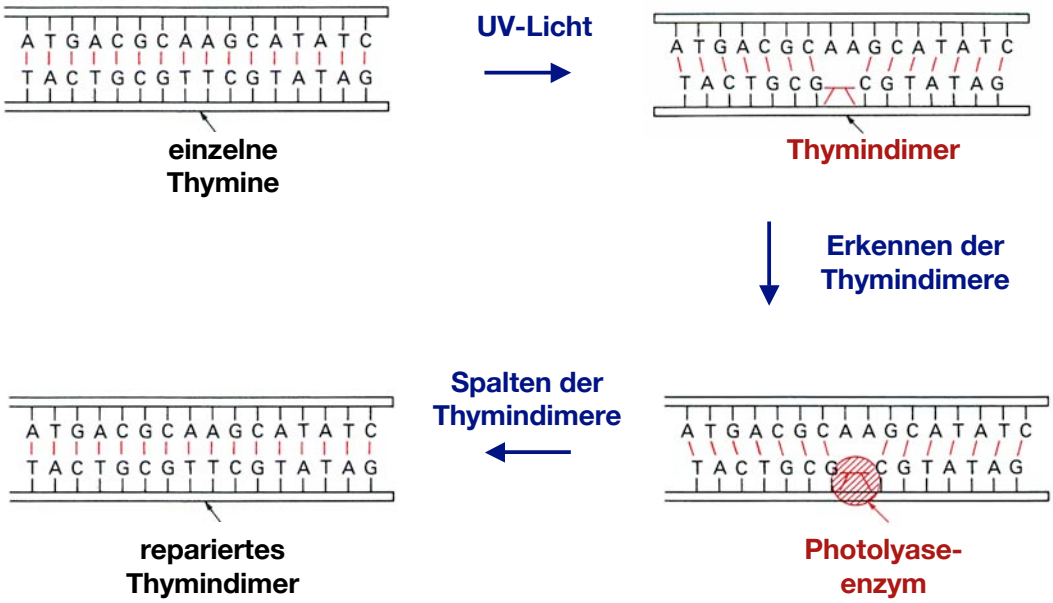
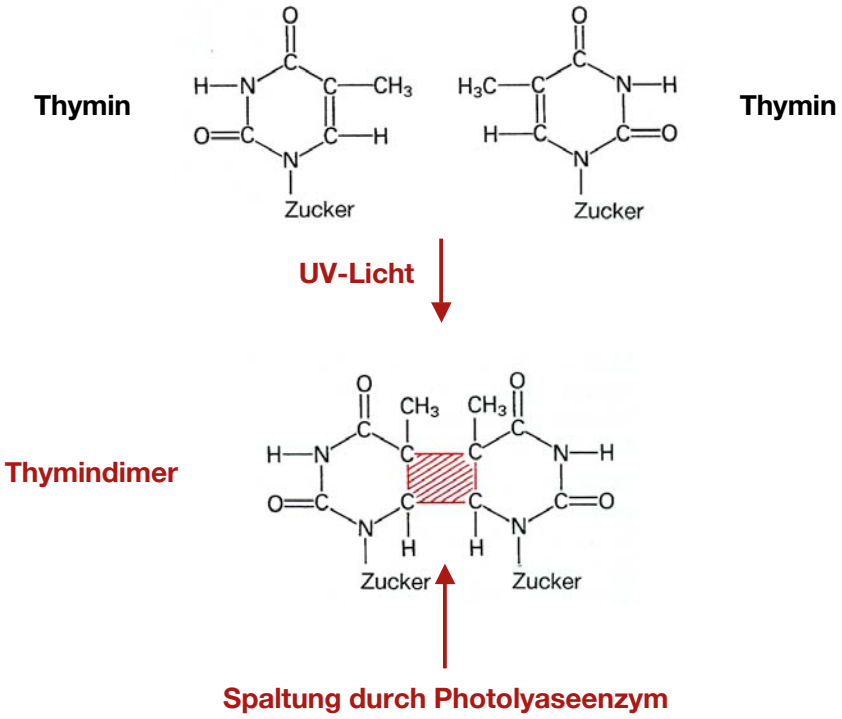
Direkte Reparatur

- strukturelle Veränderung wird direkt rückgängig gemacht

Nucleotidexcisionsreparatur



Reparatur von Thymindimeren durch Photoreaktivierung



Struktur von Thymindimeren