

Kurs1: Genetik



Was macht müde Gene munter?

Hendrickje Catriona Windisch

Mit Forschergeist und Neugierde habe wir uns daran gemacht, die Welt der Molekularbiologie zu entdecken. 12 TeilnehmerInnen aus ganz Baden-Württemberg trafen sich zu einem kleinen Forschungsmarathon in Adelsheim, im tiefsten Odenwald. Vom Heidelberger DKFZ aus betrachtet gewissermaßen „hinter den sieben Bergen bei den sieben Zwergen“.

Geleitet wurde unser Kurs von Dr. Thomas Schutz, der im Rahmen des PUSH-Programms der Landesstiftung Baden-Württemberg diese supertolle Akademie durch seine organisatorische Vorarbeit überhaupt erst ermöglicht hatte.

Tobias Stuwe war während der gesamten Zeit unser unermüdlicher Ansprechpartner in allen wissenschaftlichen Fragen. Lucas Krupp war immer da,

wenn es um die Installation von technischen Geräten ging. Auch er stets gelassen und gut gelaunt im Wirbel der Nachwuchswissenschaftler. Im Vorbereitungsseminar in Donaueschingen hatten wir uns bereits, zellteilungsähnlich wie durch Mitose, in themenorientierte Vorbereitungsgruppen unterteilt. So arbeiteten sich einige schon spezieller in molekulare Experimente ein, andere in molekulare Theorie und molekularspezifische Animation.

Unsere Ergebnisse präsentierten wir uns gegenseitig in Form von Referaten gleich zu Beginn der Akademiewoche. Dies stellte für uns alle eine gute Basis dar, auf der wir den weiteren Verlauf der Forschungstage aufbauen konnten.

Wir begannen mit dem klassischen Haustier des Genetiklabors, der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster*. Vier verschiedene Stämme wurden gekreuzt und die Versuchsbeobachtungen begleitete uns allabendlich zwei Wochen lang. Für die ersten fünf Tage stand uns das Gen-Mobil zur Verfügung. Es stand unter der Obhut zweier sehr netter wissenschaftlicher Projektbegleiterinnen, Dr. Stefanie Moll und Dr. Susanne Pauly. Von der Transformation bei *E. coli*-Bakterien bis hin zur hochkomplexen Bioinformatik vermittelten sie uns mit Spaß das Leben im Labor.

Zur Halbzeit der Akademie, einem kleinen Bergfest, stand eine Rotation auf dem Programm. Die Laborversuche wurden von unserer Arbeitsgruppe mit Power Point Präsentation und den anderen

Arbeitsgruppen vorgestellt. Selbstgewählten Fragenkomplexen und Experimenten, die sich in der ersten Woche herauskristallisiert hatten, galt in der verbleibenden Zeit unsere Aufmerksamkeit.

Wir danken sehr herzlich für die gegebene Möglichkeit an solch einem herausragenden Kurs teilzunehmen. Unsere Erwartungen wurden weit übertroffen, denn zu dem interessanten Programm kamen zusätzlich supersympathische Kursleiter.

Die Dokumentation unseres vielseitigen Programms der 2. Akademiewoche wird nun auf folgenden Seiten dargestellt. Sehen Sie selbst!



Genetischer Fingerabdruck

DNS-Typisierung

Hendrickje Catriona Windisch

„DNS-Spuren erhärten den Verdacht“ so lautete am 8. Oktober 03 die Überschrift in der Frankfurter Rundschau zum Thema Ermordung der schwedischen Außenministerin Anna Lindh.

Das ist nur eine von vielen Schlagzeilen, in denen das Verfahren des Genetischen Fingerabdrucks wiederholt in den Medien angesprochen wird. Als DNS-Typisierung, früher auch genetischer Fingerabdruck genannt, bezeichnet man das Verfahren, eine Person aufgrund ihrer individuellen genetischen Daten zu identifizieren.

Die Methode der DNS-Typisierung wurde 1985 von dem englischen Forscher Prof. Alec Jeffreys, Universität Leicester, entwickelt. Die Wortschöpfung „genetischer Fingerabdruck“ stammt von ihm. Das für Einzelpersonen charakteristische Strichmuster erinnerte Jeffreys an die für jede Person einmalige Anordnung der Hauterhebungen und -vertiefungen der Fingerkuppen, die echte Fingerabdrücke hervorrufen. (Benecke, M., „ Genetischer Fingerabdruck (DNA-Typisierung, DNA-typing))

Die Täteridentifikation anhand unterschiedlichster Spuren am Ort des Verbrechens ist ein Hauptproblem der Kriminalistik. Mit der Verwissenschaftlichung der Spurensicherung am Tatort kam man von Fußabdrücken im Schlamm über Fingerabdrücke auf dem Messer letztendlich zu einem genetischen Fingerabdruck des Täters. Hierfür genügt ein Haarpartikel, ein Tropfen Blut oder Sperma, ein Hautstück oder Speicheltropfen, denn jede dieser Proben enthält die genetische Information des Straftäters, d.h. seinen Bauplan, der ihn eindeutig identifiziert – die DNS (*DesoxyriboNucleinSäure*) - eineiige Mehrlinge ausgenommen.

Der genetische Fingerabdruck hat jedoch nicht nur in der Kriminalistik eine große Bedeutung. Er hilft ebenso beim Aufklären von Vaterschafts- und Verwandtschaftsbeziehungen, Dopingverdacht, sowie in der medizinischen Diagnostik, im Arten- und Umweltschutz sowie der Archäologie.

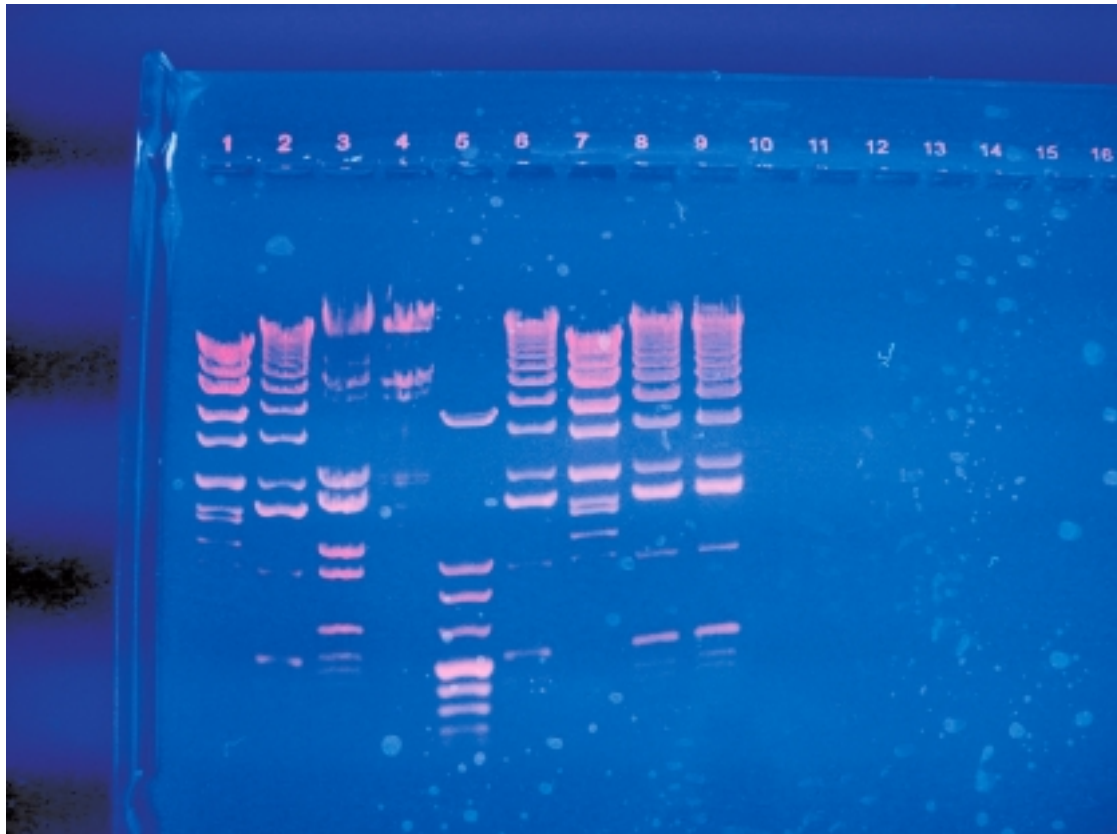


Abb. 1.3: Agarose-Gelelektrophorese zur Identifikation des Täters durch den genetischen Fingerabdruck
Mit freundlicher Genehmigung von Lucas Krupp, Science-Academy, den 27. August 03

Im Genmobil konnten wir diese Zerlegung von DNS-Fragmenten auf dem Polyacrylamidgel sehen:

Überführt: Die Einzigartigkeit der Genome führt bei Anwendung der DNS-Typisierung zur Bildung von DNS-Fragmenten charakteristischer Länge.

Hier wird die von Indizien am Tatort isolierte DNS: Zigarettenkippe 1 (5), Zigarettenkippe 2 (6), Zigarettenkippe 3 (7) sowie Haaren (8) und Hautresten, die unter den Fingernägeln des Opfer waren, (9) mit der DNS des Opfer (1), des ersten potentiellen Täters x (2), dem zweiten potentiellen Täter y (3), sowie dem dritten potentiellen Täter (4) verglichen. Die Banden der Proben des Opfers (1) und der Zigarettenkippe 3 (7) stimmen überein. Das Opfer hat folglich kurz vor dem Mord noch geraucht. Die Proben der Zigarettenkippe 2 (6), der Haare (8) und der Hautreste (9) stimmen mit den DNS-Proben des potentiellen Täters x (2) überein. Er ist also der Mörder und somit überführt.

Aufbauend auf dem Verständnis der PCR und *Gel-Elektrophorese*, hat unser Kurs im Genmobil diese Verfahren in einem Kriminalspiel angewendet. Ich habe dieses Kriminalspiel in den aktuellen Mordfall Anna Lindh umgewandelt und ein Rollenspiel zum genetischen Fingerabdruck geschrieben. Die Idee des Rollenspiels haben wir bereits in Form eines Theaterstückes bei der Rotation verwendet. Anhand einer Power Point haben wir dem Publikum folgendes Foto gezeigt und nach ihrer Meinung gefragt: Wer ist der Mörder?

Der Fall Anna Lindh

Im September wird die schwedische Außenministerin Anna Lindh in einem Stockholmer Kaufhaus erstochen. Auf einer Aufnahme einer Sicherheitskamera des Kaufhauses ist ein vages Bild des Täters zu erkennen, eindeutige Identifizierung ist jedoch unmöglich. Ein auf Grund dieser Aufnahmen Verdächtigter muss nach kurzer Zeit aus der Untersuchungshaft entlassen werden. Es kommt zur Festnahme eines neuen Verdächtigen.

Das bei der Auswertung von DNS-Spuren führende britische Institut *Forencis Science Service* ist nun dabei, für die Ermittler erste Ergebnisse der Analyse winziger Partikel, die von der Mordwaffe stammen, zu erbringen. Das Jagdmesser war von dem Täter auf der Flucht weggeworfen worden. Kann nun der Verdächtige durch die DNS-Typisierung des Mordes überführt werden? Gespannt auf das Ergebnis der DNS-Analyse suchen die Ermittler das Labor auf. Es kommt zur Festnahme eines neuen Verdächtigen.

Das bei der Auswertung von DNS-Spuren führende britische Institut *Forencis Science Service* ist nun dabei, für die Ermittler erste Ergebnisse der Analyse winziger Partikel, die von der Mordwaffe stammen, zu erbringen. Das Jagdmesser war von dem Täter auf der Flucht weggeworfen worden. Kann nun der Verdächtige durch die DNS-Typisierung des Mordes überführt werden? Gespannt auf das Ergebnis der DNS-Analyse suchen die Ermittler das Labor auf.

Laborant: Die Untersuchung der DNS-Typisierung ist noch nicht abgeschlossen, die DNS-Fragmente brauchen noch einen Moment, bis sie sich in der Gelelektrophorese nach ihrer Größe getrennt haben.

Ermittler: Was muss denn alles gemacht werden, damit man einen „genetischen Fingerabdruck“ erhält?

Lab.: Zur DNS-Typisierung braucht man meistens zellkernhaltiges Spurenmaterial. Um die DNS genau untersuchen zu können, isoliert man sie von übrigen Zellbestandteilen der Probe.

Erm.: Also isoliert man im Fall Anna Lindh die DNS der Blutpartikel an der Mordwaffe?

Lab.: Ja, genau. Es liegt dann reine DNS vor. Für die DNS-Typisierung sind nur die 97% der nicht-codierenden Sequenzen (*Introns*) der DNS nützlich, d.h. Bereiche deren Basenfolge nicht in Proteine übersetzt wird und deren Funktion noch weitgehend unbekannt ist. Innerhalb dieser Bereiche finden sich an verschiedenen Stellen sogenannte SNPs (single nucleotide polymorphisms). Das sind Variationen

einzelner Basen. Weiterhin gibt es VNTRs (variable number of tandem repeats), die aus kurzen wiederholten Basenfolgen bestehen und bei verschiedenen Menschen unterschiedlich lang sein können. Vor allem letztere macht man sich bei der DNS-Typisierung zunutze.

Erm.: Wie zerteilt man denn die DNS, um an diese Introns zu gelangen?

Lab.: Dem Extrakt werden Restriktionsenzyme (Molekülscheren) hinzugegeben, welche die DNS an ausgewählten Stellen, den sogenannten signifikanten Basensequenzen, zerschneiden. So entstehen DNS Fragmente. Diese bestimmten Abschnitte der DNS werden mithilfe der PCR (*Polymerase-chain-reaction*) selektiv vermehrt, um genügend DNS für eine Analyse in der Gelelektrophorese zu enthalten.

Erm.: Was ist die Polymerase-Kettenreaktion?

Lab.: Die PCR ist ein „in vitro“ Verfahren zur gezielten Vermehrung von DNS. Durch wiederholte thermische Zyklen werden spezifische DNS-Abschnitte reproduziert.

Erm.: Und was ist die Gelelektrophorese?

Lab.: Nach Abschluss der PCR werden DNS-Fragmente mittels Polyacrylamid-Gelelektrophorese der Länge nach geordnet.

Erm.: Wie funktioniert diese Trennung der Fragmente der Länge nach?

Lab.: DNS hat eine negative Ladung, man legt also einen Pluspol ans andere Ende des Polyacrylamid-Gels. Die DNS-Abschnitte werden auf diese Weise einer elektrischen

Gleichspannung ausgesetzt und durch das Gel zum Pluspol hin angezogen. Das Gel ist ein molekulares Sieb aus Poren; kleine DNS-Abschnitte können durch dieses schneller wandern als große. Mit einem Blick auf die Uhr müsste die DNS-Trennung nun vollzogen sein. Schauen wir uns an, ob sich Ihr Verdächtiger als Mörder herausstellt.

Erm.: Ist das Licht, mit dem das Gel bestrahlt wird, nicht UV-Licht?

Lab.: Korrekt. Um den Verlauf der DNS-Banden bereits vor der UV-Bestrahlung während der Wanderung sehen zu können, wurde ein markierender, dunkler Farbstoff zu der DNS gegeben. Die eigentlichen Bandenmuster der unterschiedlich großen DNS-Abschnitte werden jedoch erst unter UV-Licht sichtbar.

Erm.: Es stimmen alle Striche der zwei untersuchten DNS überein, d.h. es handelt sich um eine Person, der Mörder ist erfasst!

Lab.: Mit errechenbarer Wahrscheinlichkeit zweier identischer genetischer Fingerabdrücke handelt es sich um Spuren derselben Person. Übrigens: bei einer DNA-Typisierung in der Kriminalistik wird nur nichtcodierende DNA verwendet, d.h., dass keine Gene untersucht werden. Somit tragen die untersuchten Bereiche keine Informationen, die auch nur im entferntesten mit Körper oder Psyche des Untersuchten zusammenhängen.

Literatur:

Wettig, S. „DNA-Analyse (genetischer Fingerabdruck)
Seminar Biometrie: Verfahren und Rechtsprobleme,
Universität Jena, Sommersemester 2002

[www.ev-stift-gymn-guetersloh.de / uforum / gentechnik / glossar.html](http://www.ev-stift-gymn-guetersloh.de/uforum/gentechnik/glossar.html)
Benecke, M. "Naturwissenschaftliche Kriminalistik und Forensik" www.bdk-brandenburg.de/fa010723.html
Benecke, M. " Genetischer Fingerabdruck (DNS-Typisierung, DNA-typing"
www.benecke.com/gloeggler.html

Auf den folgenden Seiten wird das Prinzip der Restriktionsspaltung beschrieben, welches auch bei dem genetischen Fingerabdruck verwendet wurde.

Restriktionsenzyme

Carsten Ehret und Christoph Grathwol

Eines der Praktika der ersten Akademiewoche handelte von Restriktionsspaltung. Wir stießen dabei auf einige interessante Fragen und beschlossen daher, uns in der zweiten Akademiewoche intensiver mit den Themen Restriktionsenzyme und Restriktionsspaltung im Allgemeinen zu beschäftigen, um Antworten auf unsere Fragen zu finden.

Einleitung

Die Restriktionsspaltung ist ein Verfahren, mit dem man die DNA an bestimmten Stellen spalten kann. Man kann dann die entstandenen Fragmente mit anderen Fragmenten verbinden. So kann man beispielsweise aus der DNA eines antibiotikaresistenten Bakteriums das verantwortliche Gen herausnehmen, um es mit der DNA eines

anderen Organismus' zu fusionieren, sodass dieser auch dieses Gen enthält und antibiotikaresistent ist.

Gespalten wird die DNA von Restriktionsenzymen. Diese werden aus Bakterien isoliert, in denen sie als Abwehrsystem gegen Bakteriophagen (Viren, die Bakterien befallen) dienen. Denn wenn eine Bakteriophage ein Bakterium befallen will, muss sie ihre DNA in das Bakterium einschleusen, um es als Wirt zu nutzen. Das Abwehrsystem der Bakterien, das von Restriktionsenzymen vermittelt wird, spaltet nun die eingedrungene DNA der Bakteriophage in Fragmente. Somit wird verhindert, dass die Zelle vom Virus befallen und zerstört werden kann.

Entdeckt wurden die Restriktionsenzyme im Jahre 1962 durch Werner Arber, der dafür 1978 den Nobelpreis in Medizin erhielt [1]. Seine Tochter machte ein Märchen aus der Geschichte:

*„<< vom König und seinen Dienern >>. Darin ist der << sehr lange, aber dünne >> König die DNA in einem Bakterium. Die << dicken und kleinen >> Diener sind die Enzyme. Mein Vater hat entdeckt, dass einer der Diener als Schere arbeitet. Versucht nun ein fremder König einzudringen, schneidet ihn der Diener in kleine Stücke.
<< Clevere Leute nutzen die Diener >> jetzt, um die << Geheimnisse des Königs herauszufinden >>, was mit kleinen Stücken viel einfacher ist. << Deshalb hat mein Vater den Nobelpreis für die Entdeckung des Dieners mit der Schere bekommen.>>“*

Zitat von Silvia Arbers [2]

Heute stellt die Restriktionsspaltung eines der grundlegendsten Verfahren der Gentechnik dar. Beispielsweise ermöglichte es die Entschlüsselung des menschlichen Genoms, welches in seiner kompletten Länge zu entschlüsseln nahezu unmöglich gewesen wäre. Die Entschlüsselung von durch Restriktionsenzymen getrennten, kleineren Fragmenten war hingegen sehr viel einfacher.

Dies ist eine Anwendung der Restriktionsenzyme. Es entsteht allerdings die Frage, was für Restriktionsenzyme es überhaupt gibt.

Die Typen der Restriktionsenzyme

Restriktionsenzyme benötigen zum Spalten eine Erkennungssequenz, an der sie an die DNA binden können. Diese Sequenz ist von Enzym zu Enzym unterschiedlich.

Man unterscheidet zwischen Typ I Enzymen, Typ II Enzymen und Typ III Enzymen.

Typ I Enzyme erkennen eine Erkennungssequenz der Länge von 15 Basenpaaren an deren Ende sich die benötigte Erkennungssequenz in der Länge von drei Basenpaaren befindet. Das Typ I Enzym spaltet im Bereich um 1000 Basenpaare um ihre Erkennungssequenz an beliebigen Stellen, das heißt „sie hacken den DNA-Strang kurz und klein.“ Typ III Enzyme erkennen eine Sequenz der Länge von fünf Basenpaaren mit unterschiedlich langer, undefinierter Basenabfolge. Das Enzym schneidet dann 14 Basenpaare entfernt von dieser Sequenz,

was letztendlich bedeutet, dass die Schnittstelle unmöglich vorherzusagen ist.

Daher werden diese Enzyme in der Gentechnik nur sehr selten eingesetzt.

Die Restriktionsenzyme der 2. Gruppe haben vier, fünf oder acht Basenpaar lange Erkennungssequenzen. Längere sind jedoch auch möglich. Der Vorteil gegenüber den anderen beiden Gruppen besteht darin, dass die Typ II Enzyme an der Stelle schneiden an, der ihre Erkennungssequenz liegt und somit ist die letztendliche Schnittstelle genau vorherzusagen. Deswegen werden meistens Restriktionsenzyme aus dieser Gruppe für eine Restriktionsspaltung benutzt.

Es bleibt allerdings immer noch die Frage offen, wie die Restriktionsenzyme überhaupt die DNA spalten.

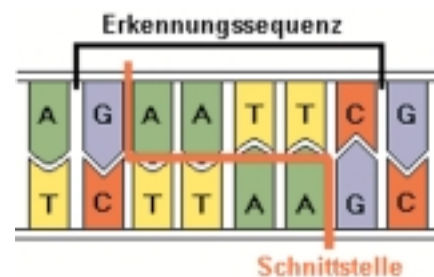


Abb. 1.5: Beispiel einer Spaltungssequenz eines Typ II Enzyms am Restriktionsenzym *EcoRI*

Die Arbeitsweise von Restriktionsenzymen

Aufgrund der Brown'schen Molekularbewegung bewegen sich die Restriktionsenzyme wahllos in der DNA-Probe, deren DNA sie spalten sollen. Treffen sie zufällig auf ihre Erkennungssequenz, so spalten sie die DNA an der für sie typischen Stelle. Die Restriktionsenzyme spalten die Zucker-Phosphat-Rückrate der DNA an einer Phosphordiesterbindung mit Hilfe von alkalischer Hydrolyse:

Die Restriktionsenzyme geben einer OH-Gruppe die Möglichkeit, sich an das positiv polarisierte Phosphor anzuhängen (s. Abb.).

Die Bindungen zum Sauerstoff der nächsten Desoxyribose löst sich auf. An den Sauerstoff hängt sich nun noch ein H⁺-Ion an.

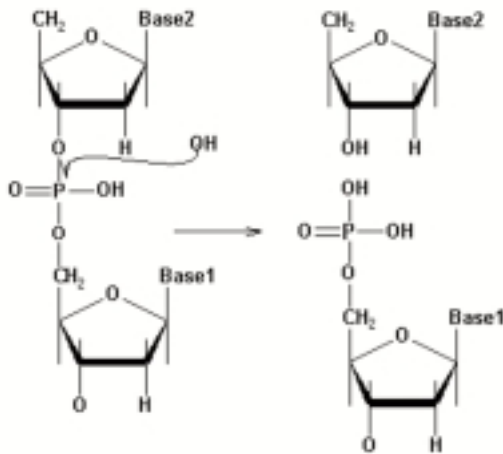


Abb. 1.6: Die Spaltung eines Zucker-Phosphat-Rückrates der DNA an einer Phosphordiesterbindung

Dies geschieht ebenso mit dem zweiten Zucker-Phosphat-Rückrat der DNA. Die Wasserstoffbrückenbindungen der Basen zwischen den Schnittstellen lösen sich auf und die DNA ist gespalten.

Doch warum spaltet ein Restriktionsenzym nicht die bakterieneigene DNA? Dies liegt an einer Methylase, die zu dem Restriktionsenzym dazu-gehört. Sie schützt die eigene DNA durch Methylierung.

Methylierung

Die Methylase schützt die bakterieneigene DNA durch Methylierung. Gäbe es diese nicht, so würde auch die DNA der Bakterie durch die Restriktionsenzyme gespalten werden, da sie nicht durch eine Membran geschützt ist.

Methylierung ist eine CH₃-Gruppen-Übertragung.

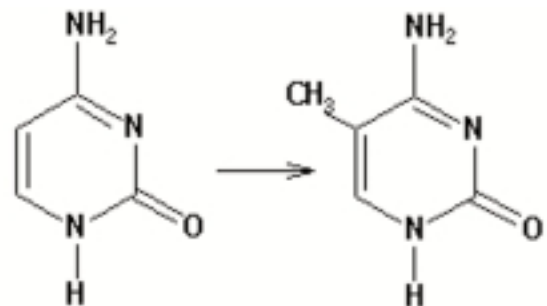


Abb. 1.7: Methylierung von Cytosin zu 5'-Methyl-Cytosin

Dies geschieht meist an den Basen Adenin oder Cytosin. Das Restriktionsenzym kann dann auf Grund räumlicher Bedingungen nicht mehr schneiden.

Im folgenden Text wird erklärt, wie man die durch Restriktionsspaltung erhaltenen DNA Fragmente der Größe nach auftrennen kann um zum Beispiel die Länge der erhaltenen Fragmente zu ermitteln.

Literatur:

Horst Ibenganfts: Gentechnologie von A bis Z, Wiley-VCH 1993

[1]:
<http://www.nobel.se/medicine/laureates/1978/>

[2]:
<http://www.netzeitung.de/genundmensch/serie/pioniere/138690.html>

Agarose-Gelelektrophorese

Carsten Ehret

Die Agarose-Gelelektrophorese ist ein Verfahren, um DNA-Fragmente ihrer Größe nach aufzutrennen. Aufgrund der negativen Ladung der DNA wandern die Fragmente durch ein Agarosegel, an dem Spannung angelegt ist, zum Pluspol. Das Agarosegel wirkt wie ein molekulares Sieb aus verzweigten Zuckerketten. In ihm wandern die kleinen Fragmente schneller, als die größeren, da sie einen

geringeren Widerstand erfahren. So entsteht ein charakteristisches Bandenmuster. Um die Banden sehen zu können, ist in dem Agarosegel Ethidiumbromid enthalten, das sich in die DNA-Fragmente einlagert und unter UV-Anregung orange fluoresziert.

Wir benutzten dieses Verfahren, um zu überprüfen ob auf einem Plasmid das Gen, das das green fluorescent Protein (GFP) codiert, vorhanden bzw. richtig orientiert war (s. Abb.).

Richtige Orientierung bedeutet, dass das Enzym welches am Promoter ansetzt, um das Gen für GFP abzulesen, dies in der richtigen Richtung (dargestellt durch den blauen Pfeil) tut. Die vorher durch eine Restriktionsspaltung gespaltenen Plasmide trennten wir hierzu in einem Agarosegel auf.

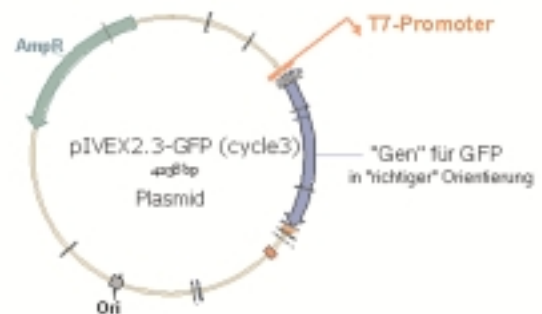


Abb. 1.8: Plasmid mit „richtiger“ Orientierung des „Gens“ für GFP

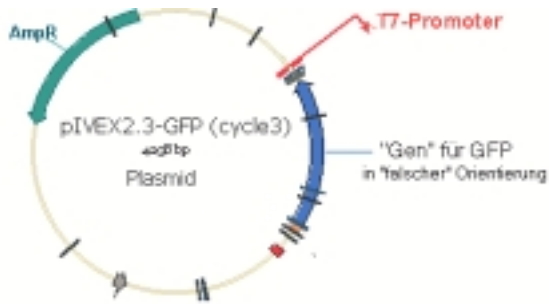


Abb. 1.9: Plasmid mit „falscher“ Orientierung des „Gens“ für GFP

Die DNA-Proben werden in Vertiefungen des Gels (sog. Taschen) gefüllt. Um einen ungefähren Anhaltspunkt der Wandergeschwindigkeit zu haben, werden sie mit den Farbstoffen Bromphenolblau bzw. Xylencyanol vermischt, von denen man weiß, dass sie mit ungefähr der selben Geschwindigkeit wie Fragmente von 500 bp bzw. von 3000 bp wandern. Des Weiteren befindet sich in der ersten Tasche eine Marker-DNA, die DNA-Stücke bekannter Größe enthält. Diese Marker sind sehr wichtig, da nur mit DNA bekannter Länge ein Größenvergleich möglich ist.

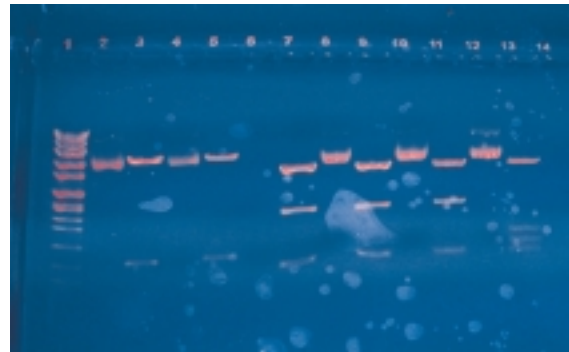


Abb. 1.10: Photo des Experiment 3, Agarose-Gelelektrophorese, vom 26.8.2003

In der ersten Spur sieht man die schon angesprochenen Banden des Markers, mit Fragmenten von 8576, 7427, 6106, 4899, 3639, 2799, 1953, 1882, 1515, 1482, 1164, 992, 710, 492 und 359 bp Größe.

Die geradzahligen Spuren (s. Abb.) enthalten Proben der Plasmidlösung ohne Enzym, um zu überprüfen, ob in der Lösung DNA vorhanden war. Wie man unschwer erkennen kann ist in den Proben DNA erhalten.

In den Spuren 3 und 5 wurde das Plasmid mit dem Enzym *EcoRI* aus *Escherichia coli* geschnitten. Man sieht Banden bei ungefähr 3600 und 500 bp Länge. Schaut man auf der Vektorkarte des Plasmids nach, so sieht man, dass das Gen für GFP auf dem Plasmid vorhanden ist, man weiß aber nicht ob es richtig oder falsch orientiert ist. Um dies herauszufinden, wurde das Plasmid auch noch mit einem anderen Enzym geschnitten.

In den Spuren 7 und 9 wurde das Plasmid mit dem Enzym *HindIII* aus *Haemophilus influenzae* geschnitten. Man sieht Banden bei ca. 2700 und 1100 bp Länge. Schaut man auf der Vektorkarte nach, so sieht man, dass das Gen für GFP auf dem Plasmid die richtige Orientierung hatte, denn wenn es die falsche Orientierung gehabt hätte, würde ein anderes Bandenmuster entstehen. Dies sieht man auch bei einem Doppelverdau mit beiden Enzymen.

In den Spuren 11 und 13 wurden die Plasmide sowohl mit *EcoRI* als auch mit *HindIII* geschnitten. Wenn man allerdings die Spur 11 mit den Spuren 7 und 9 vergleicht, so bemerkt man, dass sie das gleiche Bandenmuster aufweisen. Man kann also davon ausgehen, dass bei der Probe in Spur 11 das Enzym *EcoRI* nicht geschnitten hat.

Bei Spur 13 sieht man Banden bei ca. 2700, 700 und 400 bp Länge, sowie eine Bande, die zwischen den beiden letztgenannten liegen. Auch sieht man, wenn man die Vektorkarte mit dem Bandenmuster vergleicht, dass das Gen richtig orientiert ist.

Als nächstes folgt ein Text über die Transformation von *E. Coli*.

Literatur:

[1], [2] „BioLab-Baden-Württemberg on Tour, 2003, Experimentierprotokoll für Haupt- und Realschulen, Fachoberschulen und Gymnasien (Mittelstufe)

Transformation von *E.coli* Zellen

Sabrina Müller

Bei einer Transformation soll fremde DNA in eine Zelle eingeschleust werden, so dass diese Zelle, die einzelnen Informationen der fremden DNA abliest und verarbeitet, zum Beispiel ein Eiweiß produziert.

Es gibt zwei Zelltypen: Eukaryonten (z.B. Menschen, Tiere, Pflanzen,...) und Prokaryonten (z.B. Bakterien, Blaualgen,...) Ein wesentlicher Unterschied dieser beiden Zelltypen besteht darin, dass Eukaryonten einen Zellkern besitzen, Prokaryonten dagegen keinen. Außerdem können Prokaryonten Plasmide enthalten. Ein Plasmid ist eine ringförmige DNA, welche zusätzliche Informationen z.B. für Resistenzfaktoren gegen Antibiotika enthält. Außerdem können Plasmide ohne Zellteilung von der Bakterienzelle an eine andere weitergegeben werden, also auch aufgenommen werden – man spricht von Konjugation.

Bei diesem Versuch soll nun solch ein Plasmid, mit der sich darauf befindenden Information für das Eiweiß GFP, in *E.coli* (Darmbakterien) transformiert werden. Dazu mussten allerdings die Bakterien zuerst kompetent gemacht werden, so dass diese das Plasmid aufnehmen können. Dazu wurden die Bakterien mehrmals in CaCl_2 auf und ab pipettiert. (siehe Abb. 1.11)



Abb. 1.11: die Genetiker beim Pipettieren

Anschließend wurde die Plasmidlösung hinzugegeben. Danach wurde die gesamte Lösung auf den Agar – Platten mit einer Impföse ausgestrichen. Nun wurden die vier Agar – Platten auf gleicher Temperatur inkubiert, so dass sich die Bakterien optimal vermehren konnten.

Es stellte sich jedoch heraus, dass auf der Platte: „- pGLO LB“ die Bakterien in einem dichten Bakterienrasen wuchsen und sich vermehren konnten, da ihnen überhaupt kein Plasmid dazugegeben wurde und auf dem Nährboden kein Antibiotika vorhanden war.

Bei der Platte: „- pGLO LB amp“: hier konnten in der Regel keine Bakterien wachsen, da ihnen kein Plasmid hinzugegeben wurde, jedoch in dem Nährboden Antibiotika vorhanden war und dies die Bakterien abtötete.

Auf der dritten Platte: „+ pGLO LB/amp“: Diesen Bakterien wurde das Plasmid hinzugegeben, auf dem der Resistenzfaktor für das Antibiotika enthalten war. Deshalb konnten sich auch nur die Bakterien vermehren, die das Plasmid aufgenommen hatten. Deshalb gab es auf dieser Platte wesentlich weniger Bakterien als auf der Ersten.

Auf der letzten Platte: „+ pGLO LB/amp/ara“ konnten sich auch nur die Bakterien vermehren, die das Plasmid aufgenommen hatten, da das Antibiotika die Bakterien ohne Plasmid abgetötet hatte. Außerdem leuchteten die Bakterien, bzw. das Genprodukt GFP. Die Erklärung für das Leuchten wird in dem nachfolgenden Text erleutert: (Im folgenden Bild sieht man die Agar – Platte unter UV-Licht, man erkennt, dass das Genprodukt GFP grün fluoresziert.)



Abb. 1.12: Agar – Platte: + pGLO LB/amp/ara unter UV – Licht

Vor dem Versuch wurden jeweils Zweiertteams gebildet. Jedes Team bekam eine kleine Abänderung des Protokolls. Eine Gruppe führte den Versuch wie vorgegeben aus.

Es stellte sich jedoch heraus, dass bei allen Gruppen nur die Agar – Platten auf dem der Zucker im Nährboden enthalten war, das Eiweiß grün leuchtete.

Die erste Gruppe wärmte die vier Agarplatten nicht auf. Es stellte sich heraus, dass auf den Agar – Platten weniger Bakterien wuchsen. Somit erreichten sie eine wesentliche niedrigere Transformationseffizienz als die restlichen Gruppen.

Die Transformationseffizienz berechnet sich wie folgt: Anzahl transformierter Bakterien pro μg eingesetzter DNA. Die Anzahl an transformierten Bakterien ist die Anzahl, der Bakterien die wir auf

der Platte mit den leuchtenden Bakterien gezählt hatten.

Bei mir betrug die Transformationseffizienz auf der Platte: „+pGLO LB/amp/ara“ 133 transformierte Bakterien pro μg eingesetzter DNA. Die anderen Transformationseffizienzen lagen zwischen 100 und 5000 transformierter Bakterien pro μg eingesetzter DNA.

Die zweite Gruppe pipettierte eine stärkere Konzentration 0,2 M CaCl_2 statt 0,1 M CaCl_2 . Dies brachte für den Versuch keine Vorteile, denn wie bei Gruppe eins war die Transformationseffizienz niedriger.

Die dritte Gruppe ließ die Eppendorf - Gefäße statt 15 min nur 10 min auf Eis stehen. Durch das verkürzen der Zeit, erreichte diese Gruppe eine höhere Transformationseffizienz als die anderen Gruppen.

Die vierte Gruppe löste die Bakterienpellets in 150 ml 0,1M CaCl_2 Lösung auf, anstelle von nur 100 ml. Diese Gruppe erreichte die höchste Transformationseffizienz.

Die fünfte Gruppe und somit die letzte Gruppe, die eine Abweichung des Protokolls durchführte, gab einfach nur die Hälfte der Plasmidlösung hinzu. Allerdings konnte bei dieser Gruppe, das Ergebnis nicht genau analysiert werden, da die Ergebnisse der beiden Personen deutlich voneinander abwichen.

Die sechste Gruppe, führte den Versuch genau nach dem Protokoll durch. Nach diesen Werten wurden die gesamten anderen Ergebnisse miteinander verglichen.

Meiner Meinung nach ist es sehr wichtig, dass man erkennt, dass manche Abweichungen eines Protokolls positive, bzw. negative Auswirkungen haben können. So war es z.B. sinnvoller etwas mehr Volumen, der 0,1M CaCl₂ hinzuzugeben, da sich die Transformationseffizienz deutlich erhöhte.

Welche Eindrücke bekam ich von der Academy?

Ich persönlich finde, es war eine wichtige Erfahrung, mit interessierten Gleichaltrigen ohne irgendwelchen störenden Nebeneffekte arbeiten zu können. Es konnten gezielte Fragestellungen, bzw. Themen unter professioneller, fachlicher Hilfe bearbeitet werden und spezielle Fragen konnten selbst, in der zweiten Woche bearbeitet werden. In unserem Kurs herrschte stets eine angenehme Atmosphäre und es wurden enge Freundschaften geknüpft. Ich finde es sehr wichtig, dass diese Academy in irgend einer Weise fortgesetzt wird, da man im normalen Schulalltag nicht die Möglichkeit hat sich über fachliche Themen genauer zu unterhalten und wir unsere tollen Kontakt nicht abbrechen sollten.

Die Aktivierung bestimmter Gene durch Arabinose (Zucker) am Beispiel des grün fluoreszierenden Proteins (GFP)

Mirjam Niklasch

Im Rahmen eines Transformationsversuchs im „Biolab on Tour“, bei dem Plasmide (pGLO mit T7-Promotor + GFP-Genen) in *E.coli*-Bakterien eingebracht wurden, stellte sich heraus, dass die Bakterium lediglich unter UV-Licht grün leuchtete, wenn Arabinose im Nährboden vorhanden war.

GFP ist ein Protein der Tiefseequalle *Aequorea victoria*. Es dient als Schutzfunktion der Qualle und wird bei Berührung zur Aussendung von grünen Lichtblitzen angeregt. In der Forschung werden Plasmide mit GFP-Genen oft in Zellen eingebracht, um diese zu markieren. Wir haben bei einem Transformationsversuch, bei dem solche Plasmide in *E.coli*-Bakterien eingebracht wurden, festgestellt, dass diese Kennzeichnung nur erfolgreich ist, wenn den zu markierenden Zellen Arabinose zur Verfügung steht.

Wieso habe ich mich mit diesem Thema beschäftigt?

Eine Woche lang in einem Labor mit professionellen Methoden und interessierten und motivierten Leuten zu arbeiten, war eine neue und faszinierende Erfahrung. In dem Labor haben wir verschiedene Versuche gemacht. Unter anderem den oben

genannten Transformationsversuch. Nach diesem war für mich folgende Frage noch ungeklärt:

Was bewirkt die Arabinose?

Dieser Fragestellung konnte ich dann ausgiebig als Projekt in der 2. Woche nachgehen. Dafür standen mir unter anderem mehrere Fachlexika und das Internet zur Verfügung.

Ergebnisse:

Auf dem genannten Plasmid befindet sich neben dem GFP-Gen ein modifiziertes **Arabinose-Operon**. Das Arabinose-Operon dient zur Regulation der GFP-Expression. Auf dem natürlichen Arabinose-Operon ist eine Promotorregion (= Region von Regulatorgenen) vor drei Genen angeordnet, welche Proteine zum Abbau von Arabinose (AraA, AraB, AraC und AraD) kodieren.

Ein weiteres Gen außerhalb dieser Transkriptionseinheit kodiert das DNA bindende Regulator-Protein AraC, welches fortlaufend exprimiert wird. Der Regulator AraC bindet an den genannten Promotor und hindert dadurch die RNAPolymerase daran, die drei Arabinose-Abbau-Gene zu transkribieren. Ara C dissoziiert vom (= bindet nicht mehr an den) Promotor bei Bindung von Arabinose, sodass die Polymerase binden und die Transkription beginnen kann. Die Gene zum Abbau von Arabinose werden aktiviert.

Ist die Arabinose vollständig abgebaut, wechselt AraC zurück in die erste Konformation, die Transkription wird wieder gestoppt. Das modifizierte

Arabinose-Operon auf pGLO enthält nun anstelle der drei Gene zum Abbau von Arabinose das Gen für GFP. GFP wird jetzt also genauso reguliert, wie die Arabinose-Abbau-Gene im natürlichen Operon: Wird den transformierten Zellen Arabinose gegeben, findet die GFP-Expression statt. Ohne Arabinose wird das GFP-Gen nicht transkribiert. Transformierte Zellen werden also auf Selektivmedium mit Ampicillin im UV-Licht weiß erscheinen, wenn sie keine Arabinose erhalten und fluoreszieren grün, wenn sie Arabinose erhalten.

Nach einer Woche Laborarbeit und einer Woche Arbeit an meinem Projekt ist die Science Academy leider zu Ende. Nun stellt sich für mich folgende Frage:

Welche Erfahrungen habe ich gesammelt?

Es hat sehr viel Spaß gemacht mit anderen motivierten und interessierten Leuten an einem Themenkomplex ohne störendes Desinteresse zu arbeiten, wobei sich auch neue Freundschaften bildeten. Wir hatten die Möglichkeit während der ersten Woche zusammen mit Fachleuten unter professionellen Bedingungen in einem Labor zu arbeiten. Hierbei und bei der theoretischen Durchdringung des Stoffes konnten wir unsere eigenen Kenntnisse erheblich erweitern.

Die organisierte Rotation machte es uns auch möglich, Einblicke in andere naturwissenschaftliche Themen zu erhalten und unsere Präsentationstechniken zu verbessern.

GFP eignet sich nicht nur Versuche zur Genaktivierung machen, sondern auch Versuche zur zellfreien Genexpression.

Quellenangabe:

http://www.microeco.unizh.ch/uni/kurs/bio3_03/berichte/11report02.pdf

Stryer ,L. Biochemie, 4. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg / Berlin / Oxford

Zellfreie Expression

Tabea Kulschewski

Man expremiert Proteine, um ein bestimmtes Protein zu erhalten und dieses dann später vervielfältigen zu können. Dieses Experiment, dass wir in der ersten Woche in Adelsheim im Labor vom BioLab gemacht haben, erklärt das Prinzip der gentechnischen Produktion von Proteinen in verschiedenen Systemen.

Ausgehend von einem Expressionsplasmid wird das **grün fluoreszierende Protein (GFP)** mit Hilfe des Expressionssystems **RTS (Rapid Translation System)** gewonnen.

Was ist überhaupt GFP?

GFP ist ein grün fluoreszierendes Protein, das bereits in den frühen sechziger Jahren zufällig bei der Reinigung des Proteins Aequorin aus der Qualle **Aequorea victoria** entdeckt wurde.

GFP ist streng genommen das bislang einzige bekannte fluoreszierende Protein, da sein Farbstoffmolekül aus Bestandteilen der Polypeptidkette gebildet wird. Andere heute bekannte fluoreszierende Proteine benötigen ausnahmslos andere Stoffe als Leuchtfaktoren.



Abb. 1.13: Diese Abbildung zeigt die Qualle **Aequorea victoria**

Zellfreies Proteinexpressions-system:

Das Rapid Translation System (RTS) basiert auf dem Zellinhalt lysierter *E.coli-Zellen*, aus dem die gesamte zelluläre DNA und mRNA entfernt wurde, während RNA-Polymerase, Ribosomen und alle weiteren für die Transkription und Translation wichtigen Faktoren in konzentrierter Form noch vorhanden sind.

Die Zusammensetzung der Reaktionslösung ist dann so beschaffen, dass ein passender Expressionsvektor direkt in die Flüssigkeit gegeben werden kann. Gegenüber der Expression in der Zelle, die zunächst mit dem Vektor transformiert und danach kultiviert werden muss, bedeutet das einen erheblichen Zeitvorteil.

Es hat aber auch den Nachteil, dass die Effizienz der Proteinexpression nicht sehr hoch ist. Da keine zelluläre DNA bzw. mRNA mehr im Lysat enthalten ist, exprimiert man nun das ausschließlich mit dem Vektor eingebrachte Gen. Im zellfreien System laufen Transkription und Translation entkoppelt ab, weil die Ribosomen in der Reaktionslösung nun die neu gebildete mRNA ablesen können, bevor deren Synthese fertig abgeschlossen ist.

Die Trennung der Versuchsabläufe in zwei Kammern verbessern die Proteinausbeute. Die sog. „Reaktionskammer“ ist in den Gefäßen über einen Membran mit der sog. „Fütterungskammer“ verbunden. Diese Fütterungskammer enthält zum Teil Energieliefernde Substanzen und Aminosäuren, die bei der Proteinsynthese ständig

verbraucht werden. Durch die Membran können diese kleine Stoffe nach ihrem Konzentrationsgradienten ständig in die Reaktionskammer eindringen. Gleichzeitig dringen bei der Proteinsynthese anfallende Reaktionsnebenprodukte in die Fütterungskammer ein. So werden sie aus dem Reaktionsgemisch entfernt, bevor sich ihre Konzentration hemmend auf die Proteinsynthese auswirken kann.

Für alle anderen beteiligten Bestandteile sind die Poren des Membrans zu klein, so dass sie in der Reaktionskammer bleiben müssen. So hat man jetzt das Protein aus der Reaktionslösung herausgefiltert und hat ein reines Protein erhalten.

Wie man nun das gewonnene Protein aufreinigt, erklärt Maik in ihrer folgenden Dokumentation.

Quellen:

Literatur:
BioLab Protokoll

Bilder:
srv2.lycoming.edu/~newman/bioinformatics/mggwetlab.html

Proteinreinigung

Maike Nortmeyer

Um nach einer Proteinexpression nur das eine, gewünschte Protein zu erhalten, muss man das Proteingemisch von allen unerwünschten Proteinen reinigen. Da die Proteine z.B. für Medikamente oder (ihre Er)Forschung gebraucht werden, ist es sinnvoll, eine möglichst konzentrierte und reine Lösung des gewünschten Protein zu erhalten. Verunreinigungen und falsche Proteine würden ganze Forschungen unnütz machen und Medikamente mit zusätzlichen verkehrten Proteinen (Wirkstoffveränderung) könnten fatale Folgen haben. Daher ist es notwendig, die falschen Proteine zu entfernen. Dazu wendet man ein bestimmtes Verfahren an, die Affinitätschromatographie. Hierbei nutzt man die unterschiedliche Bindungsfähigkeit von Proteinen an bestimmte chemische Gruppen (Substrate, Antikörper,...).

In unserem Fall führten wir eine Nickel-Chelat-Affinitätsreinigung durch. Hierbei bindet die Matrix im Reaktionsgefäß (ein Komplex aus Nitriloessigsäure und Nickel (II) Ionen) an das His-Tagdes GFP-Proteins (eine an das GFP-Protein angehängte Kette aus 6 Histidinen (eine Aminosäure)).

Versuch:

Materialien und Geräte:

-Nickel-NTA Spin Kit (Säule mit Matrix)

-1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäße (Eppis)
-Präzisionspipetten und Pipettenspitzen
-Tischzentrifugen (MiniSpin)
-Becherglas für Abfälle

Chemikalien und Reagenzien:

-Proteingemisch aus dem vorherigen Versuch
-Puffer B (Bindepuffer)
-Puffer C (Waschpuffer)
-Puffer E (Elutionspuffer)

Versuchsdurchführung:

Zuerst wird die Säule mit „Puffer B“ durchgespült. Dazu werden 600µl Puffer B auf die Säule, die in einem sauberen „Eppi“ steht, pipettiert. Um die Säule zu spülen, wird die Säule im „Eppi“ zentrifugiert (immer 2 min bei 3.200 rpm). Der Puffer befindet sich nun im „Eppi“ und wird in den Abfallbehälter entleert.

Nun werden 550µl „Puffer B“ und zusätzlich noch 50µl Proteingemisch auf die Säule gegeben und diese unter den gleichen Bedingungen zentrifugiert. Dabei binden die 6 Histidine des His-Tag-GFPs an die Säule und werden so nicht mit herunter-zentrifugiert. Das GFP befindet sich also auf der Säule. Das Zentrifugat der Eppis wird wieder in den Abfallbehälter entleert, nur eines wird aufgehoben, da sein Inhalt noch für die Polyacrylamid-Gelelektrophorese benötigt wird (siehe Text Polyacrylamid-Gelelektrophorese).

Nun wird das GFP-Protein von weiteren Proteinen, die ebenfalls, wenn auch weniger stark, an die

Matrix der Säule binden, gereinigt. Hierzu werden 600 µl Waschpuffer (Puffer C) hinzupipettiert und das Ganze wieder zentrifugiert. Dieser Schritt wird 2-mal durchgeführt. Nach jedem Waschschrift wird das „Eppi“ neu entleert, nur nach dem 2. Waschschrift wird wieder eines der „Eppis“ für die Polyacrylamid-Gelelektrophorese aufgehoben. Nun befindet sich nur noch His-Tag-GFP auf der Matrix der Säule.

Beim letzten Schritt werden 200µl Puffer E (Elutionspuffer) auf die Säule pipettiert. Durch das Zentrifugieren mit dem Puffer wird das His-Tag-GFP abgelöst und befindet sich im Elutionspuffer gelöst im „Eppi“.

Erklärung:

Die verwendete Matrix bindet besonders gut an Histidine. Das bedeutet je mehr aufeinander folgende Histidine ein Protein hat, desto fester bindet das Protein an die Matrix der Säule. Zu Beginn des Versuches binden noch alle Proteine mit 2 oder mehr Histidinen an die Matrix. Durch das mehrmalige Spülen mit dem Waschpuffer werden nach und nach die Proteine mit wenigen Histidinen von der Matrix entfernt. Übrig bleibt das His-Tag-GFP Protein mit sechs Histidinen. Der Elutionspuffer löst die Bindung der His-Tag-GFP Proteine mit der Matrix dann komplett auf und die Proteine können herunterzentrifugiert werden.

Anschließend kontrollierten wir in einem weiteren Versuch, wie viel GFP durch die verschiedenen Reinigungsschritte verloren ging. Dazu stellten wir

unsere Proteingemische nach den jeweiligen Reinigungsschritten (zu Beginn, nach der Reinigung mit Puffer C und nach der Ablösung durch Puffer E) unter UV Licht und konnten je nach Stärke des Leuchtens abschätzen, wie viel GFP noch enthalten war. Entgegen unserer Erwartungen wurde das Leuchten nicht intensiver sondern schwächer. Es ging also bei den Reinigungsschritten sehr viel GFP verloren. Dieses Ergebnis ließ sich auch später noch in der Polyacrylamid-Gelelektrophorese, einem Verfahren zur Auftrennung von Proteinen nach ihrer Größe, bestätigen. Die aufbewarten „Eppis“ der ersten Reaktionsschritte enthielten noch viel mehr GFP als die gereinigten Endprodukte, zeigten jedoch auch noch viele andere Banden, die Verunreinigungen durch unerwünschte Proteine nachweisen.

Proteinstrukturen

Max Maurer

Fast alle chemischen Reaktionen in unserem Körper werden durch Enzyme katalysiert. Hierbei ist die Primärstruktur der Proteine, also die Abfolge der Aminosäuren, innerhalb dieser Makromoleküle existentiell. Daraus ergibt sich die Sekundärstruktur, die die räumliche Anordnung benachbarter Aminosäuren innerhalb einer linearen Sequenz beschreibt. Unter Einbezug weit entfernter Aminosäuren in der Kette entsteht dann die Tertiärstruktur, der räumliche Bau.

Welcher Zusammenhang besteht nun zwischen den einzelnen Strukturelementen (also Primär-, Sekundär und Tertiärstrukturen) ?

Um die oben genannte Frage detailliert beantworten zu können, beschäftigte ich mich zuerst mit dem generellen Bau von Polypeptiden und Proteinen, einem Thema in einem für mich bis dato völlig unbekanntem Terrain. Nach einigen fruchtlosen Recherchen im Internet eignete ich mir das notwendige Wissen doch besser aus dem Lehrbuch „Biochemie (Stryer, L., 1995, 4. Auflage) an. Die neugewonnenen Erkenntnisse hielt ich in persönlichen Notizen und kleinen Strukturformeln fest und verfasste eine erläuternde Zusammenfassungen.

Ergebnis :

„Proteine (Eiweiße), hochmolekulare Naturstoffe die in Form von Kolloiden lebensnotwendige Bausteine aller tierischen und pflanzlichen Zellen sind und die meisten Lebensfunktionen aufrechterhalten. (.....) Grundbausteine der Eiweiße sind die Aminosäuren die unter Austritt von Wasser zu langen Polypeptidketten zusammentreten.

Bereits dieser kurze Abschnitt einer beginnenden Definition aus dem „ABC Biologie (Dietrich, G.; 1975)“ enthält die wichtigsten Informationen über den chemischen Aufbau und der damit verbundenen dreidimensionalen Struktur, der sog. Konformation.

Proteine sind Eiweiße, die in unserem Körper sowohl als Bausteine der Zellen, als auch als

Katalysatoren auftreten, wobei sie chemische Reaktionen um mindestens den Faktor 1 Million beschleunigen und somit essentiell für jedes Leben auf der Erde sind.

Ebenfalls erhalten wir aus der oberen Quelle die Information über den molekularen Aufbau und den daran beteiligten Bausteinen dieser Eiweiße :

Proteine sind aus Aminosäuren zusammengesetzt, die eine lineare Kette bilden.

Aufbau der Aminosäuren

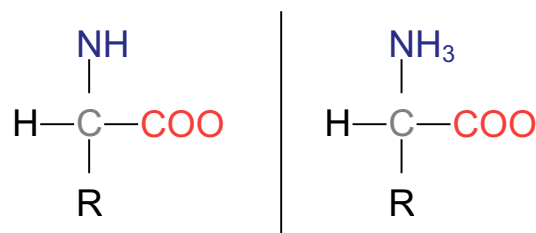


Abb. 1.14: Struktur der nichtionisierten und der Zwitterionenform (dipolaren) einer Aminosäure

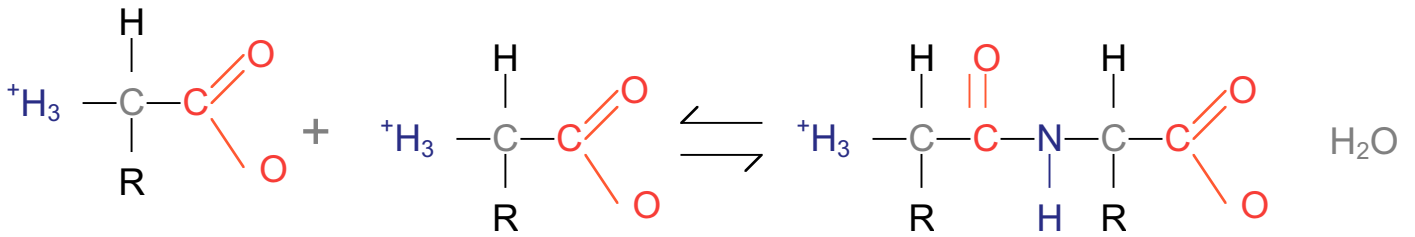


Abb.1.15: Entstehung der Peptid / Verknüpfung der Aminosäuren zu einer Polypeptid

Jede der zwanzig Aminosäuren besteht aus einer Carboxyl- und einer Aminogruppe, einer Seitenkette R, als auch aus einem Wasserstoff-atom, die über ein zentrales α -Kohlenstoffatom miteinander verknüpft sind. In Lösung liegen Aminosäuren bei neutralem (7) pH-Wert als dipolare Ionen oder Zwitterionen vor, da die Aminogruppe protoniert und die Carboxylgruppe dissoziiert vorliegt (s. Abb. 1.14). Erst durch die Seitenkette R (R = Rest) unterscheiden sich die Aminosäuren in Größe, Ladung, hydrophoben oder hydrophilen Eigenschaften und in der Fähigkeit zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken.

Wie sind diese Aminosäuren miteinander verknüpft ?

Einen anschaulichen Vergleich eines Proteins bietet eine Perlenkette, wobei die Perlen die einzelnen Aminosäuren darstellen. So wird deutlich, dass Proteine unverzweigte, also lineare Polymere sind, bei denen die Aminogruppe einer Aminosäure mit der Carboxylgruppe einer zweiten über eine Amid- oder Peptidbindung miteinander verbunden sind. Bei einer solchen Bildung eines Dipeptids (s. Abb 1.15) wird ein Wassermolekül freigesetzt.

Einige Proteine weisen neben der „normalen“, linearen Peptidbindung zusätzliche Querbrücken auf. Die häufigste Verknüpfung dieser Art stellen die Disulfidbrücken dar, die durch Oxidation zweier Cysteinreste entstehen. Die anschließend entstandene Einheit wird als Cystin bezeichnet. Betrachtet man unter Hinzunahme der neuen Aspekte die nun vorliegende Kette, so kann man zwischen dem Rückgrat (oder Hauptkette), eine sich regelmäßig wiederholende Einheit, und einem variablen Anteil, der Seitenketten, unterscheiden.

Da ein Ende der Polypeptidkette aus einer Carboxyl-, das andere aus einer Aminogruppe besteht, ist das gesamte Protein polar. Auch ist es somit möglich, der Polypeptidkette eine eindeutige Richtung zuzuweisen . Die in der Natur auftretenden Proteine bestehen aus 50-2000 Aminosäuren. Da das mittlere Molekulargewicht einer Aminosäure etwa 110 Dalton beträgt, weisen eben jene natürlich auftretenden Proteine ein Molekulargewicht von 5,5 Kilodalton bis 220 Kilodalton auf.

Rotationsfreiheit der Peptidkette

Der Wasserstoff der Aminogruppe befindet sich fast immer gegenständig (in trans-Position) zum Sauerstoff der Carboxylgruppe.

Da die Verbindung zwischen dem Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe und dem Stickstoffatom innerhalb der Bindungseinheit einen Doppelbindungscharakter aufweist, ist eine Rotation um diese Achse nicht möglich. Die Bindung zwischen dem α -Kohlenstoffatom und dem Kohlenstoff der Carbonylgruppe ist aber eine reine Einfachbindung und besitzt somit eine hohe Rotationsfreiheit (siehe Abbildung 2.2)

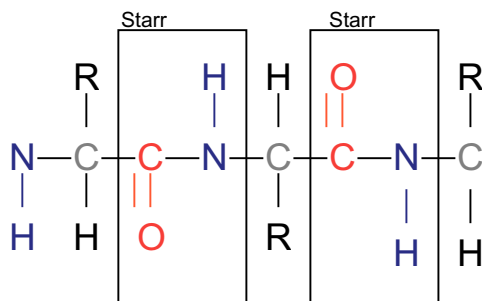


Abb. 1.16: Rotationsfreiheit beiderseits der starren Peptideinheiten

Sekundärstrukturelemente

Die Proteine in unserem Körper liegen allerdings nicht wie bisher beschrieben als lineare Kette, sondern als gefaltetes „Paket“ vor. Nachdem nun die Grundlagen des Proteinbaus bekannt sind,

wenden wir uns dieser dreidimensionalen Struktur, der Konformation, zu. Hierbei soll die räumliche Anordnung den energetisch günstigsten Zustand annehmen. Bereits 1951 entwickelten Pauling und Corey zwei revolutionäre, regelmäßige Strukturen:

1. Die α -Helix

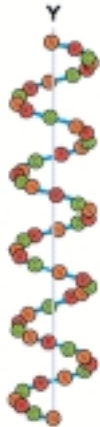


Abb. 1.17: Modell des Rückgrates in einer linksgängigen α -Helix

Die α -Helix ist eine gewundene Struktur mit einem stabförmigen Erscheinungsbild. Hierbei bildet das aufgewickelte Rückgrat den inneren Teil des Stabes, während die Seitenketten in symmetrischer Anordnung schraubenförmig nach außen zeigen. Wasserstoffbrücken zwischen der Carboxylgruppe, einer Aminosäure und der Aminogruppe eines in der linearen Sequenz um vier Reste entfernten Rests, stabilisieren die Helix. Die Reste sind entlang der Helixachse jeweils um 0,15 nm verschoben und um 100° gedreht, so dass eine volle Umdrehung 3,6 Aminosäureresten entspricht.

2. β -Faltblatt

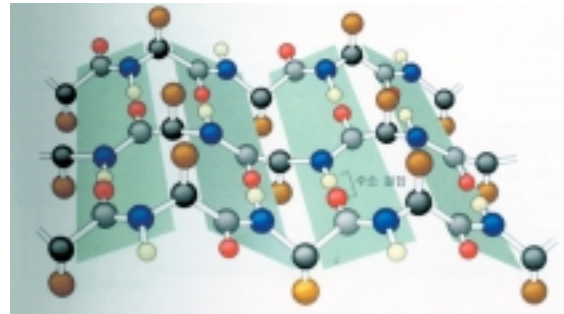


Abb. 1.18: paralleles β -Faltblatt. Gut zu erkennen sind die parallel verlaufenden Stränge

Eine weitere regelmäßige Sekundärstruktur, die von Pauling und Corey entdeckt wurde, stellt das β -Faltblatt dar. (β , da es nach der β -Helix die zweite von ihnen entdeckte Struktur war) Im Gegensatz zur β -Helix ist das Faltblatt ein flaches, breites Strukturmotiv. Die Polypeptidketten innerhalb des β -Faltblatts, auch β -Stränge genannt, liegen in ausgedreckter, parallel verlaufender Form vor. Die Entfernung benachbarter Aminosäuren ist dreimal höher als in der β -Helix ; 0,35nm.

3. β -Kehre

Die einzelnen β -Stränge können durch Haarnadelkehren (hairpin bend, reverse, β -Kehre) miteinander verbunden sein. Auch innerhalb dieser Kehren wirken Wasserstoffbrücken stabilisierend.

Der prozentuale Anteil der einzelnen Sekundärstrukturelemente ist von Protein zu Protein unterschiedlich. So gibt es Enzyme, die hauptsächlich aus α -Helices bestehen und kaum β -Faltblätter aufweisen (beispielsweise Myoglobin dem sauerstofftransportierenden im Muskel) und umgekehrt.

Wir kennen nun den generellen Aufbau der Polypeptidkette und wissen, welche Sekundärstrukturen sie annehmen kann, nämlich α -Helices und β -Faltblätter. Die Tertiärstruktur beschreibt nun die Anordnung der verschiedenen Sekundärstrukturmotive im ganzen Protein. Nun stellt sich jedoch die Frage, wie die eindimensionale Aminosäuresequenz diese Tertiärstruktur beeinflusst.

Bis heute kann die Forschung nicht alle Zusammenhänge der verschiedenen Strukturelemente (Primär, Sekundär und Tertiärstruktur) klären. Bekannt ist, dass Proteine ihre hydrophoben Seitenketten in wässriger Lösung in ihr Inneres packen, um sie möglichst maximal von Wasser abzusichern und ihre hydrophilen Ketten, dem polaren Medium zuwenden. Des weiteren weiß man heute, dass verschiedene Aminosäuren verschiedenen starke Neigungen zu Ausbildung der Sekundärstrukturelement aufweisen. Jedoch sind auch diese Präferenzen so geringen, dass vor dem Faltungsprozess keine genaue Vorhersage gemacht werden könnte. Insgesamt liegen noch immer einige Faktoren dieses äußerst komplexen Thema im Dunkeln.

Nach dieser sehr theoretischen Einheit, befasst sich der folgende Text mit einem praktischen Experiment: Der Kreuzung von *Drosophila melanogaster*.

Literaturangaben :

Stryer, L. ; Berg, M. B. ; Tymocko, J. L. ; *Biochemie* Biochemie, Heidelberg, Berlin, Oxford : Spektrum 5.Auflage 2002

Dietrich, G.; ABC Biologie, Brockhaus ABC Biologie Nachschlagewerk, 5. Aufl. Brockhausverlag Leipzig, 1975.

www.filzlexikon.de/fillex/wolle/chemie/helix.html
www.komabiotech.com/technical/review/molecular/protein.htm

Kreuzungen mit *Drosophila melanogaster*

Mirjam Niklasch

Fruchtfliegen (*Drosophila melanogaster*) eignen sich aufgrund ihrer kurzen Generationsdauer (ca. 2 Wochen) gut zu Kreuzungsexperimenten.

Wir haben folgende Kreuzungen durchgeführt:

Kreuzung des Stammes 1346 mit wt (Wildtyp) und
Kreuzung des Stammes 87 mit BM23

Drosophila besitzt für Kreuzungsexperimente folgende vorteilhaften Eigenschaften:

- leichte Ernährung der Larven und der adulten Tiere
- Paarung der geschlechtsreifen Tiere führt zu sehr vielen Nachkommen
- kurze Generationszeit von nur 2 Wochen
- einfache Unterscheidbarkeit von Männchen und Weibchen

Fliegen des Stammes 1346 besitzen weiße Augen, wohingegen die des Wildtyps rote Augen besitzen. Die Stämme BM23 und 87 weisen die selben Eigenschaften auf: In beiden Stämmen haben die Fliegen rote Augen und schrumpelige Flügel.

Methoden:

Männchen und Weibchen unterscheiden sich dadurch, dass die Männchen einen Geschlechtskamm am zweiten Glied des ersten Beinpaars besitzen, den man unter dem Mikroskop bei 50-facher Vergrößerung erkennen kann.



Abb. 1.19: links: 2. Glied des ersten Beinpaars eines Weibchens ohne Geschlechtskamm; rechts: 2. Glied des ersten Beinpaars eines Männchens: mit Geschlechtskamm

Um die Ergebnisse der Kreuzungen, durch von Männchen anderer Stämme befruchteter Weibchen, nicht zu verfälschen, mussten die Versuche mit unbefruchteten Weibchen durchgeführt werden. Diese wurden deswegen direkt nach dem Schlüpfen aussortiert.

Je 3 Männchen des einen Stammes und 1 unbefruchtetes Weibchen des anderen Stammes wurden in einem Reagenzglas mit Nährboden zusammengebracht. Die Reagenzgläser wurden anschließend in ein Wasserbad mit 25°C gestellt. Nach etwas weniger als zwei Wochen waren die Nachkommen geschlüpft und konnten ausgezählt werden.

Kreuzung: 1346 (♀) x wt (♂)

1. Ergebnisse

1. Kindergeneration (F1=Filialgeneration) aus insgesamt 12 Kreuzungen:

	rote Augen	weiße Augen
männlich	0	32
weiblich	31	0

Aus den 12 Kreuzungen entstanden insgesamt 63 Nachkommen, etwa gleich viele Männchen mit weißen Augen, wie Weibchen mit roten Augen. Dahingegen entstanden aber gar keine Männchen mit roten und keine Weibchen mit weißen Augen.

2. Auswertung:

Die Gene für bestimmte Merkmale können entweder auf den Autosomen (Körperchromosomen) oder auf den Genosomen (Geschlechtschromosomen) liegen.

Liegen die Gene auf den Geschlechtschromosomen, so werden sie x-Chromosomal vererbt. In diesem Fall ist die Vererbung geschlechtsspezifisch (es gibt nur Männchen mit roten Augen und Weibchen mit weißen Augen). D.h. die Augenfarbe (weiß oder rot) wird x-chromosomal vererbt.

Nun gehe ich davon aus, dass das Geschlecht wie beim Menschen vererbt wird, nämlich männlich = XY und weiblich = XX. Unsere Parentalgeneration P

(Elterngeneration) bestand aus Männchen mit roten Augen und Weibchen mit weißen Augen.

Ich gehe davon aus, dass Weibchen reinerbig weiße Augen haben und die Männchen reinerbig rote Augen haben.

Genotyp:

Legende : x → Gen für weiße Augen
 x → Gen für rote Augen

→ Männchen der P : xy

→ Weibchen der P : xx

Daraus ergibt sich folgendes Kreuzungsschema:

	x	y
x	xx	xy
x	xx	xy

Hieraus ergeben sich folgende Phänotypen:

xx → rote Augen

xy → weiße Augen

Aus der Tabelle schließe ich, dass das Gen für rote Augen rezessiv vererbt wird.

Bei meiner anschließenden Recherche hat sich ergeben, dass die männliche *Drosophila* kein y-Chromosom besitzt, sondern nur ein Genosom: x. Dies ändert aber an dem oben beschriebenen Vererbungsgang nichts, da die Augenfarbe auf dem x-Chromosom vererbt wird. Daraus ergeben sich dann folgende Genotypen für die Kindergeneration: xx (weiblich) und x- (männlich)

Kreuzung: BM23 x 87

1. Ergebnisse:

1. Kindergeneration (F1) aus insgesamt 6

Kreuzungen:

	männlich	weiblich
schrumpelige Flügel und rote Augen	19	8
nicht schrumpelige Flügel und rote Augen	12	3

Bei der zweiten Kreuzung kamen insgesamt 42 Nachkommen. Davon waren 31 männlich und 11 weiblich. 27 *Drosophilae* hatten schrumpelige Flügel und rote Augen, 15 *Drosophilae* hatten rote Augen und nicht schrumpelige Flügel.

2. Auswertung:

Die *Drosophilae* der Parentalgeneration hatten beide reinerbig rote Augen und mischerbig schrumpelige Flügel.

In der Kindergeneration trat zusätzlich noch das Merkmal „nicht schrumpelige Flügel“ auf. Man kann bei dem Erbgang keinen geschlechtsspezifischen Unterschied erkennen. Daraus schließe ich, dass das Merkmal „schrumpelige Flügel“ auf den Autosomen vererbt wird.

Da in unserer 1. Kindergeneration mehr *Drosophilae* „schrumpelige Flügel“ hatten, gehe ich davon aus, dass dieses Merkmal dominant vererbt wird.

Genotyp:

Legende : R: rote Augen
S: schrumpelige Flügel
s: nicht schrumpelige Flügel

Hieraus ergeben sich folgende Genotypen der P:

Männchen der P: RRSs

Weibchen der P: RRSs

Es ergibt sich folgendes Kreuzungsschema:

	RS	Rs
RS	RRSS	RRSs
Rs	RRSs	RRss

Dieses Kreuzungsschema scheint komplexer und mit diesen Methoden zu erklären zu sein.

Es gibt mehrere Unstimmigkeiten:

Eine davon ist folgende: Nach meinem Schema wäre das Verhältnis zwischen den Merkmalen „schrumpelige Flügel und rote Augen“ und „nicht schrumpelige Flügel und rote Augen“ 3:1. In unserem Versuch ergab sich etwa das Verhältnis 2:1

Ausblick:

Wir sollten uns in Zukunft mit der Frage beschäftigen: Wie funktioniert dieser Erbgang?

Eine eventuell stattfindende Aufbauakademie wäre dafür eine gute Gelegenheit.

Kreuzung von *Drosophila* im Haushalt

Michael Rabenstein

Wie im Text über die Kreuzung von *Drosophila* genannt, wurden die Stämme wt mit BM 1346 und BM 23 mit BM 87 gekreuzt. Die Ergebnisse lagen erst am Ende der Science Academy vor und daher fehlte die Zeit, weitere Kreuzungen in der Science Academy anzusetzen. Ich habe versucht, die Kreuzung Zuhause fortzuführen und zu beobachten, wie oft Augenfarbe (rote Augen, weiße Augen) und Flügelform (glatte Flügel, schrumpelige Flügel) der Fliegen an die Nachkommen weitergegeben wird.

Somit ergaben sich folgen Fragen:

- 1) Wie kann man *Drosophila* mit haushältlichen Mitteln halten?
- 2) Wie oft werden die Merkmale (Flügelform, Augenfarbe) dann vererbt und tauchen in späteren Generationen wieder alte Merkmale auf?

In der Science Academy haben wir die Fliegen mit Kohlenstoffdioxid betäubt (s. Abb. 1.20 & Abb. 1.21). Zuhause habe ich kein CO₂ zur Verfügung, und daher habe ich Mittel zur Betäubung gesucht und gefunden. Es gibt die Möglichkeit sie im Kühl-

schränk zu unterkühlen und somit bewegungsunfähig zu machen. Man kann auch Butan benutzen, welches die Fliegen für ca. 5 Minuten betäubt. In der Science Academy wurde sich für das Butan entschieden, welches im Haushalt in Feuerzeugen finden lässt, weil es praktisch besser einzusetzen war. Später stellte sich heraus, dass sobald die *Drosophila* außerhalb des Glases waren, sie nur schwer wieder zu betäuben waren, weil das Butan anscheinend nur konzentriert wirkt. Zuhause wurde ein Nährboden für die Fliegen hergestellt, wo statt dem Zucker Agar-Agar der Zucker Fructose enthalten ist. In diesem Nährboden war also insgesamt enthalten:

- Weizenstärke (Mehl)
- Weizengrieß
- Fructose
- Rübensirup
- Hefe
- Wasser
- Nipagin(Konservierungsmittel)

Dieser Nährboden wurde von den Fliegen angenommen und zeigte keine Nebenwirkungen. Dem Gegenüber schlug die Kreuzung fehl, weil die betäubten Jungfrauen nach einer weile aufwachten, zwar vorerst nicht wegflogen, aber nicht mehr zu betäuben waren und daher nach wenigen Minuten entflogen.



Abb. 1.20: Sortierung, der mit CO₂ betäubten Fliegen unter dem Binokular

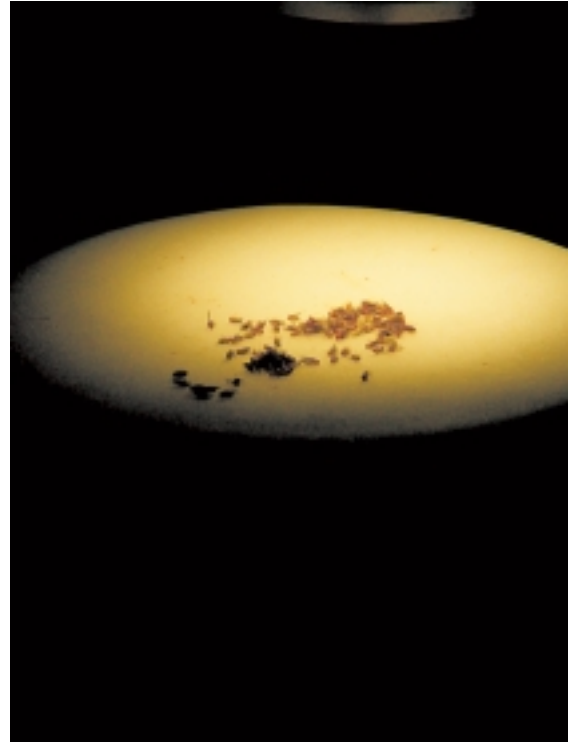


Abb. 1.21: mit CO₂ betäubte *Drosophila*

Im nächsten Text berichtet Hendrickje über die Genregulation bei Eukaryoten.

Genregulation bei Eukaryoten

Hendrickje Catriona Windisch



Abb. 1.22: *Drosophila melanogaster*

Der Star der Genetik ist die nur drei Millimeter lange „Liebhaberin des Taus“ - so die Übersetzung des griechischen Wortes *Drosophila*. Gemeint ist die Fruchtfliege *Drosophila melanogaster*, deren Karriere mit dem amerikanischen Forscher Thomas Hunt Morgan (1866-1945) 1910 begann. Ihr erster Einsatz als Versuchsobjekt sollte den Mendelismus widerlegen. Doch die Deutung der Kreuzungsbefunde lenkten Morgan von der Streitfrage, ob es Mendels Auffassung von Genen in einem materiellen Sinn des Wortes in den Zellen gab, zu einer anderen Fragestellung. Sollte man nicht besser versuchen, die spezifischen Loci der einzelnen Gene auf einem Chromosom zu finden?

Dies geschah erfolgreich und 1922 konnte Morgan eine genetische Karte von *Drosophila* mit den

dazugehörigen Chromosomen publizieren. Morgan erhielt dafür den Nobelpreis für Medizin.

Die Laufbahn der *Drosophila* war mit diesem Nobelpreis jedoch noch nicht zu Ende. Genetiker fanden heraus, dass viele in *Drosophila* identifizierte entwicklungssteuernde Gene ähnlicher Form auch im Menschen wirksam sind.

Mit diesem Star der Genetik begannen wir in der ersten Akademiewoche unseren Genetikkurs. Die *Drosophila* ist im Labor leicht zu züchten, die Generationsdauer beträgt nur 14 Tage und die Nachkommenszahl ist groß. Im Laufe der Akademie galt es jeden Abend den Reagenzgläsern mit den Fruchtfliegenkreuzungen einen Besuch abzustatten. Ich beobachtete fasziniert die Entwicklung der neuen *Drosophila*-generation.

Aus Interesse an dem Wachstumsprozess vom Ei bis zur Fliege recherchierte ich in der Fachliteratur und fand folgendes heraus.

Nach der Verschmelzung der männlichen und weiblichen Keimzellen durchläuft der Fusionskern schnell hintereinander eine Reihe mitotischer Teilungen. An diese Mitosen schließen sich jedoch keine Zellteilungen an. Dadurch entsteht ein *Syncytium* mit vielen Zellkernen in einem gemeinsamen Cytoplasma. Die Kerne wandern an die Peripherie, dadurch entsteht das *syncytiale Blastoderm* (gr.-nlat; Keimhaut). Danach werden von der Eioberfläche her zwischen den Kernen Membranen eingezogen und dadurch Zellen gebildet. Ich fragte mich, wie es dazu kommt, dass

während der Embryonalentwicklung die eine Zelle zur Nervenzelle, die andere zur Muskelzelle differenziert. Durch die Mitose aus derselben Mutterzelle verfügen die Zellen doch grundsätzlich über den gleichen DNS-Satz. Einen Teil der darauf enthaltenen Gene werden in allen Zellen ständig exprimiert, da die Genprodukte für die Aufrechterhaltung der Zellfunktion gebraucht werden. Sie werden konstitutive Gene oder auf englisch housekeeping-gens genannt. Andere Genprodukte haben spezielle Funktionen, die nur zeitweise erforderlich sind, ihre Genexpression wird von den Zellen reguliert.

Der Gegensatz zwischen genetischer Gleichheit und leistungsmäßiger Verschiedenheit der Zellen legt nahe, dass nicht der gesamte DNS-Satz exprimiert wird.

So spezialisieren sich zum Beispiel schon in der frühen Embryonalentwicklung die Zellen eines Organismus. Dabei werden in den verschiedenen Zelltypen jeweils unterschiedliche Gene oder Gengruppen in entwicklungsgerechter Reihenfolge aktiv; alle anderen Gene blieben inaktiv. Man spricht von differentieller Genaktivierung.

Eindeutig belegen kann man diese differentielle Genaktivierung mit der Fähigkeit zur Regeneration ganzer Lebewesen aus einzelnen Zellen beim südafrikanischen Krallenfrosch. Entnimmt man Kerne aus differenzierten Darmzellen von Kaulquappen und verpflanzt sie in kernlos gemachte Eizellen des Frosches, so entstehen

daraus ganz normale Frösche. Zur Entwicklung dieser Tiere aus den Eizellen müssen wieder Gengruppen aktiv geworden sein; gleichzeitig mussten aber alle für die spezifische Funktion der Darmzellen tätigen Gene abgeschaltet werden. Das beweist einerseits, dass auch im Kern differenzierter Zellen noch alle für eine vollständige Entwicklung des Tiers notwendige Gene vorhanden sind, und andererseits, dass das Cytoplasma der Eizelle Stoffe enthält, welche die Tätigkeit der Gene reguliert.

Ganz grundsätzlich dient die Genregulation dem Zweck, Zellen in die Lage zu versetzen, ihre biologische Fähigkeit zu verändern. So reagieren eukaryotische Zellen auf ein breites Spektrum von Reizen. Auf Grund von Umweltveränderungen wandeln sie das Muster ihrer Genexpression ab. Hefe reguliert beispielsweise ihre Gene für die Nutzung verschiedener Zucker. Pflanzenzellen schalten bei Licht ihre Gene für die Photosyntheseproteine ein. In vielzelligen Lebewesen reagieren einzelne Zellen oder Zellgruppen auch auf Reize aus dem Organismus selber. Viele Hormone und andere Regulationssubstanzen werden von Zellen eines Typs produziert und sorgen in anderen für eine Veränderung der Genexpression. Auf diese Weise kann die differentielle Genaktivität von Zellgruppen für den Gesamtorganismus nützlich koordiniert werden.

Wie funktioniert nun diese Genregulation der Expression auf Ebene der DNS bei Eukaryoten, (z.B. *Drosophila melanogaster*)?

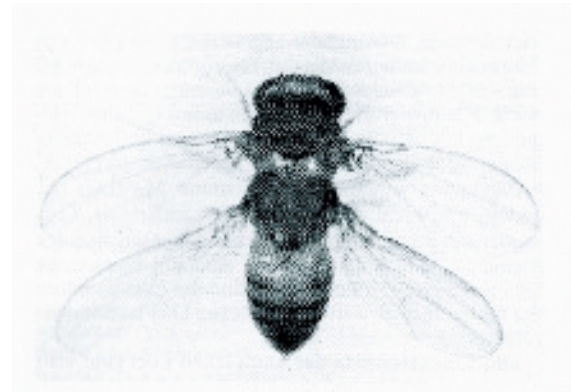
Um mir Material zur Beantwortung dieser Frage zu beschaffen, recherchierte ich im Internet und suchte mit Hilfe von Büchern Informationen.

1934 hatte T. H. Morgan zum ersten Mal auf die differentielle Genaktivität hingewiesen, als er schrieb: «Bei der Interpretation der genetischen Experimente wird meist implizit angenommen, dass alle Gene über die ganze Zeit und auf gleiche Weise wirken. Diese Annahme bietet jedoch keine Erklärung dafür, dass bestimmte Zellen im Embryo den einen Entwicklungsgang einschlagen, während andere sich in eine andere Richtung entwickeln, falls diese Unterschiede alleine durch die Gene bedingt sind. Eine Alternative wäre die Vorstellung, dass verschiedene Bakterien von Genen im Verlauf der Entwicklung aktiv werden.»

Heute weiß man, dass dies tatsächlich zutrifft. Es wurde herausgefunden, dass es eine ganze Genfamilie, die Hox-Gene, gibt. Sie werden auch homöotischen Gene genannt, die bei allen Eukaryoten im entsprechenden Bereich eine ähnliche Basensequenz aufweist, die man als *Homöobox* bezeichnet.

Jedes dieser Gene hat einen eigenen bestimmten Wirkungsbereich im Körper. Sein Genprodukt aktiviert dort in einem bestimmten Entwicklungsstadium weitere Gene, die die Ausbildung von Körpersegmenten oder Organen steuern. Mutationen dieser Gene führen z. B. dazu, dass Organe am falschen Ort entstehen. Beispielsweise können der *Drosophila* hierdurch Beine anstelle der Fühler

oder zwei Flügelpaare entstehen. Die Gene der *Homöobox* sind bei den meisten Tieren und beim Menschen nachgewiesen.



Das Foto zeigt eine Taufliege (*Drosophila melanogaster*) mit der Mutation *Bithorax* (Dreifachmutante in *abx*, *bx* und *ubx*). Abb. 1.23: Foto: Edward Lewis.

Wie es dazu kommt, dass bestimmte Gene der *Homöobox* beispielsweise während der Embryonalphase des *Drosophila*-Embryos aktiviert sind, beruht wiederum auf der Fähigkeit der Genregulation.

Sagt man, eine Genexpression ist aktiv reguliert, so bedeutet dies, dass der Vorgang der Transkription eines Gens initiiert ist. Diese Transkription einzelner Gene wird überwiegend durch Genregulatorproteine in Zellen ein- und ausgeschaltet.

Diese Proteine, zum Beispiel die Homöodomäne, das von der *Homöobox* codierte Produkt, haben die Möglichkeit sich bei eukaryotischen Zellen an DNS-Sequenzen zu binden. Sie liegen häufig Tausende

von Nucleidpaaren vom Promotor entfernt. Doch die Flexibilität der DNS macht es den Proteinen trotz der großen Entfernung durch die Bildung einer Schleife aus dazwischenliegender DNS möglich an spezifische DNS-Sequenzen zu binden.

Diese DNS-Sequenzen werden *Enhancer* (Verstärker) genannt, die die Aktivität vieler eukaryotischer Promotoren stark erhöhen. Der Promotor ist die DNS-Regulationsregion am 5' Ende eines Gens, die die Bindungsstelle für die *RNA-Polymerase* enthält. Um die Transkription zu initiieren, benötigen eukaryotische Polymerasen eine vorhergehende Sammlung von allgemeinen Transkriptionsfaktoren am Promotor. Diese Faktoren treten in einer bestimmten Reihenfolge zusammen (siehe Projekt von Phillip Bayer), wobei der erste Schritt die Bindung von *TFIID* an die *TATA-Box* ist, eine DNA-Sequenz, die man stromaufwärts von den meisten eukaryotischen *RNA-Polymerase*-Startpunkten findet.

Der geordnete Sammlungsprozeß der allgemeinen Transkriptionsfaktoren bietet mehrere Stufen, an denen die Initiation der Transkription reguliert werden kann. Viele eukaryotische Gen-Regulatorproteine funktionieren vermutlich, indem sie diesen Vorgang ermöglichen (positive Kontrolle) oder verhindern (negative Kontrolle).

Mit diesen Ausführungen konnte bis hier nur skizzenhaft auf die hohe Komplexität der Genregulation bei Eukaryoten eingegangen werden. Sie erfordert völlig veränderte Gesetzmäßigkeiten im

Vergleich zu der Regulation bei Prokaryoten-Genen. Insgesamt ist die Genregulation bei Eukaryoten so kompliziert, dass sie bei weitem noch nicht aufgeklärt werden konnte. Bei ihrer Erforschung wird man, so mutmaßen Experten, noch auf Mechanismen stoßen, die man sich vielleicht bisher noch gar nicht vorstellen kann.

Literaturliste:

Bruce Alberts, Dennis Bray, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Robert, James D. Watson, Molekulare Biologie; Übersetzung herausgegeben von Lothar Jaenicke; VCH 3. Auflage 1997

Horst Bayrhuber & Ulrich Kull, Linder Biologie (Hannover 1998)

Brown, T.A., Moderne Genetik (Heidelberg 1999)

Fischer, E.P., Das Genom (Frankfurt am Main 2002)

Fischer, E.P., Geschichte des Gens. (Frankfurt am Main 2003)

Müller und Hassel, Entwicklungsbiologie

Singer und Berg, Gene und Genome

Frankhauser, N., Kapitel 8 Chromosomen und Genregulation
subwww.unibe.ch/fs/biologie/zellbio/zellio08.htm

Helmich, U. April 2003

www.drd.de/helmich/bio/gen/reihe2/karte251.html

Ende gut – Alles gut?

Vierzehn inhaltvolle erlebnisreiche Tage Science Academy in Adelsheim haben mein Interesse an bislang unbekanntem Forschungsgebieten geweckt. 24 Stunden des Tages waren hierbei niemals ausreichend genug, um all unseren Programmpunkten so richtig auf den Grund zu gehen. Daher lautet mein innigster Wunsch, dass diesen wunderbaren Tagen in Adelsheim eine Aufbauakademie nachfolgen möge. Mein Dank gilt der perfekten Organisationsleitung und allen immer so gut gelaunten MitarbeiterInnen. Ihr Enthusiasmus für das Projekt war wirklich ansteckend!

Auf den folgenden Seiten wird das Prinzip der Meiose erklärt, welches beispielsweise bei der Entwicklung einer *Drosophila melanogaster* den Anfang des Lebens einer Fliege macht.

Die Meiose

Miriam Dylla, Sabrina Müller

In der ersten Woche wurde mehrfach erwähnt, dass bei einem gesunden Menschen in jeder Zelle 46 Chromosomen vorhanden sind. Auch in der Ureizelle und der Ursamenzelle. Wir überlegten uns, dass bei der Zygote (befruchteten Eizelle) diese zwei verschmolzen sind. Deshalb müssten in der Zygote 92 Chromosomen vorhanden sein. Es sind aber nur 46 vorhanden. Aus dem diploiden Chromosomensatz (2×23) muss also ein haploider

Chromosomensatz (1×23) geworden sein. Damit stellen sich uns folgende Fragen:

1. Wie wird aus dem diploiden ein haploider Chromosomensatz?
2. Wenn es nur noch halb so viele Chromosomen sind, was ist dann mit den anderen passiert?
3. Werden die Chromosomen nach einem bestimmten Prinzip aufgeteilt?

Wir haben uns über das Internet und Fachbücher informiert und kamen zu dem Ergebnis, dass die Antworten auf unsere Fragen alle in der Meiose zu finden sind. Um den Ablauf der Meiose zu verstehen hat uns vor allem das Programm GenScope geholfen.

Vor der Meiose teilen sich die Ureizelle und die Ursamenzelle ohne den Chromosomensatz zu halbieren. Eine dieser zwei Zellen bleibt eine Urzelle. Die andere entwickelt sich zur Vorläuferzelle. Aus der Vorläuferzelle entstehen durch die Meiose 4 Spermien bzw. 1 Eizelle.

Die Meiose besteht aus zwei Teilen:

der 1. Reifeteilung und der 2. Reifeteilung. Die 1. und die 3. Frage werden in der 1. Reifeteilung beantwortet. Diese besteht aus vier Phasen. Während der ganzen 1. Reifeteilung halbiert sich auch der Chromosomensatz:

Zuerst spiralisieren sich die Chromosome in der **Prophase I**. Anschließend finden sie sich mit ihrem homologen Partner zusammen. Das bedeutet, dass

jetzt immer ein Chromosom des Vaters und eines der Mutter parallel nebeneinander liegen. Nachdem sich diese Stellung gelockert hat, wandern die Chromosomen in der **Metaphase I** in Äquatorialebene (Abb. 1.24).

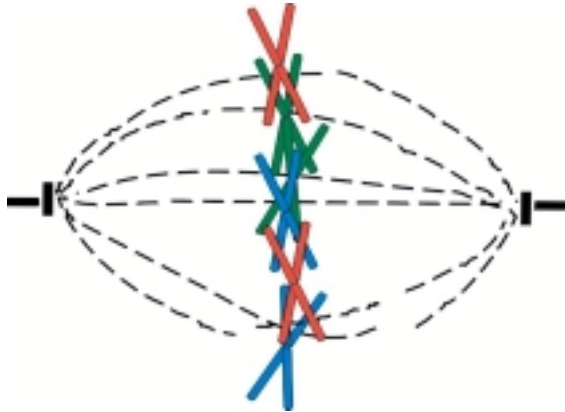


Abb. 1.24: Die Metaphase

Auch die Kernmembran hat sich jetzt aufgelöst. Es bildet sich ein Spindelapparat. Die Chromosome richten sich nach einem der Spindelpole aus.

Von dort trennen sich die homologen Chromosome in der **Anaphase I** und wandern, gezogen vom Spindelapparat, zu den entgegengesetzten Zellpolen (Abb. 1.25).

Hier wird also der Chromosomensatz geteilt. Diese Teilung funktioniert nach dem Zufallsprinzip. Damit sind also auch Frage 1 und 3 beantwortet.

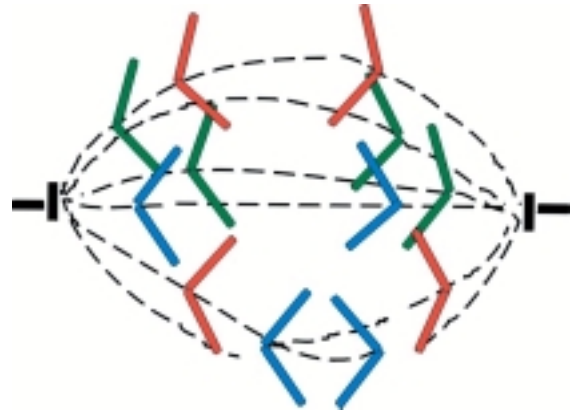


Abb. 1.25: Die Anaphase

In der **Interkinese** bilden sich die Kernmembrane aus und zwei haploide Tochterkerne sind entstanden. Damit ist die 1. Reifeteilung beendet.

Auch die zweite Reifeteilung besteht aus vier Phasen (Prophase, Metaphase, Anaphase und Telophase).

Der Ablauf ist fast der gleiche wie in der 1. Reifeteilung. Allerdings trennen sich in der Anaphase nicht die homologen Chromosome, sondern die Chromosome trennen sich in ihre zwei Chromatide auf. Damit hat sich der Chromosomensatz nicht noch einmal halbiert, sondern verdoppelt.

Aus der männlichen Vorläuferzelle haben sich vier haploide Spermien gebildet. Aus der weiblichen Vorläuferzelle hat sich nur eine Eizelle gebildet, da die anderen drei Zellen zu so genannten „Richtungskörperchen“ verkümmern. Nach einer Verschmel-

zung der Eizelle und des Spermiums hat die Zygote wieder einen kompletten Chromosomensatz.

Die Fragen haben sich alle beantwortet: Indem sich die Chromosome einmal nicht verdoppeln, sondern nur teilen, besteht nur noch ein haploider Chromosomensatz. Damit ist auch klar, was mit den anderen Chromosomen geschieht. Auch dass die Chromosomen nach dem Zufallsprinzip aufgeteilt werden haben wir erfahren. Allerdings stellt sich uns eine weitere Frage: Was bedeutet es genau, dass die anderen drei Zellen der Ureizelle zu Richtungskörperchen verkümmern? Sterben die Chromosomen ab, oder sind sie noch vorhanden?

In den zwei Wochen in Adelsheim habe ich sehr viel gelernt, aber viele fachlich Fragen sind auch noch offen geblieben. Deshalb wäre es toll diesen in einer Aufbauakademie nachzugehen.

Bei der Meiose können auch Fehlverteilungen stattfinden, was zu Erbkrankheiten führen kann.

Literaturquellen:

Werner Buselmaier, Biologie für Mediziner Berlin/ Heidelberg/ New York (Springer) 1975
Konrad Bachmann, Biologie für Mediziner Berlin/ Heidelberg/ New York (Springer) 1976

Bildquellen:

www.lions.odu.edu/.../bio108/cell_division/anaphase.htm
www.lions.odu.edu/.../bio108/cell_division/metaphase.htm

Projekt Erbkrankheiten

Tabea Kulschewski und Maike Nortmeyer

Erbkrankheiten sind den Menschen seit dem Altertum her bekannt und immer wieder gab es Maßnahmen, die Verbreitungen dieser Krankheiten einzudämmen, bis hin zu den schlimmen Rassengesetzen der Nationalsozialisten.

Wegen der erhöhten Gefahr von Erbkrankheiten sind und waren Geschwisterehen in nahezu allen Kulturen verboten.

Die Erbinformation (DNA) von Vater und Mutter bestimmen die Erbinformation für einen neuen Menschen. Nach der Geburt werden Wachstum und Entwicklung während der Kindheit und bis zum Erwachsensein durch diese genetischen Erbinformationen bestimmt.

Wir haben uns gefragt, wie Erbkrankheiten zu Stande kommen und ob man sie heilen kann. Diese Fragen haben wir mit Hilfe von Büchern und dem Internet beantwortet.

Was versteht man unter Erbkrankheiten?

Als Erbkrankheiten bezeichnet man all jene Krankheiten und Behinderungen, die durch eine Veränderung des Erbgutes hervorgerufen werden oder für die es im Erbgut schon eine Veranlagung gibt. Die Symptome treten manchmal direkt nach der Geburt oder im Laufe des Lebens auf.

Man unterteilt Erbkrankheiten in drei großen Gruppen, in die **chromosomalen**, die **monogenen** und **polygenen**.

Chromosomale:

Bei den chromosomalen Anomalien sind einzelne Chromosomen im Gegensatz zum Normalzustand nicht doppelt, sondern dreifach oder nur einfach. Es kann auch zur Veränderung der Chromosomenstrukturen kommen. Auch die X- und Y-Chromosomen (die Geschlechtschromosomen) können fehlerhaft sein, verdoppelt sein oder fehlen.

Beispiele für chromosomale Erbkrankheiten:

Trisomie 21, Farbenblindheit, Cri-du-chat-Syndrom (Katzenschrei-Syndrom), Klinefelter-Syndrom 47,XXY

Monogene:

Bei diesen Formen von Erbkrankheiten sind jeweils nur einzelne Gene (kleine Bereiche auf den Chromosomen) betroffen.

Beispiele für monogene Erbkrankheiten:

Sichelzellanämie, Phenylketonurie, Taubstummheit, Bluterkrankheit.

Polygene:

Bei dieser Art von Erbkrankheiten sind mehrere Gene beteiligt. Ist eine Erbkrankheit polygenisch, so muss diese empirisch ermittelt werden.

Beispiele für polygene Erbkrankheiten: Diabetes mellitus Typ 2, Schizophrenie, Herzfehler, Allergie

Beispiel für eine Erbkrankheit

Wir haben uns eine typische Erbkrankheit ausgesucht: **Fibrodysplasia ossificans generalisata (FOP)**

Krankheitsbild:



Abb. 1.26: Erscheinungsbild der FOP-Krankheit

Durch FOP kommt es zu einer fortschreitenden Verknöcherung des Binde- und Stützgewebes. Schubweise wuchern unkontrolliert neue Knochen. Man erkennt die Krankheit daran, dass sie sich durch Beulen (s. Abb. 1.26) am Rückgrad andeutet. Die Verknöcherung beginnt am Rückgrad, weil sich im Mutterleib dieses als erstes bildet. Die Verknöcherung schreitet wie die normale Knochenbildung voran.

Wenn ein betroffener Patient sich verletzt, heilt die Wunde nicht mit Hautgewebe, sondern die Wunde heilt mit Knochen. Daher können auch keine Blut- oder Gewebeproben entnommen werden.

Verhinderung:

Wie alle anderen Erbkrankheiten kann FOP nicht geheilt werden. Man kann nur die Symptome lindern. Zur Zeit gibt es keine Vorbeugungsmaßnahmen für FOP. Patienten sollten Verletzungen vermeiden, da diese die Entstehung neuer Knochen befördern. Verhindern kann man das Wachstum der Knochen nicht.

Vererbung:

In den meisten Fällen ist FOP eine Neubildung oder ein „Unfall der Natur“. Daher ist die Wahrscheinlichkeit, dass Geschwister oder Familienmitglieder, die nicht FOP haben, ein FOP krankes Kind haben werden, nicht größer, als bei jeder anderen Person der Bevölkerung. Dies ist eine Wahrscheinlichkeit von 1:2000000.

Eltern, die nicht FOP haben, können davon ausgehen, dass die Wahrscheinlichkeit eines zweiten Kindes mit FOP sehr gering ist. Jedoch haben Forscher eine Familie kennen gelernt, in der 2 völlig gesunde Eltern 2 erkrankte Kinder bekamen. Ein FOP-Patient gibt seine Krankheit mit 50%-iger Wahrscheinlichkeit an sein Kind weiter.

Therapieversuche:

Einige Wissenschaftler hoffen, dass sie den Knochenbildungshemmer Noggin eines Tages als Medikament einsetzen können. Dann könnten Chirurgen vielleicht doch die Knochenwucherungen entfernen und Noggin würde anschließend verhindern, dass sich an dieser Stelle, an der die Knochen entfernt wurden, neue Knochen bilden.

Abschließend folgt nun die letzte Dokumentation von Philipp über Genexpression.

Quellen:

Literatur:

Stryer

Internet:

<http://www.medicine->

[worldwide.de/krankheiten/erbkrankheiten/](http://www.medicine-worldwide.de/krankheiten/erbkrankheiten/)

www.uni-kiel.de/Botanik/Kempken/VorlesT12

[http://www.netdokter.at/krankheiten/Fakta/](http://www.netdokter.at/krankheiten/Fakta/erbkrankheiten.shtml)

[erbkrankheiten.shtml](http://www.netdokter.at/krankheiten/Fakta/erbkrankheiten.shtml)

Bilder:

www.pathguy.com/lectures/fop.jpg

Die 2 Wochen in der Science Academy Baden-Württemberg 2003 waren eine sehr interessante und lehrreiche Zeit für mich.

Ich hatte die Möglichkeit Versuche in einem Labor zu machen und konnte in der 2. Woche meinen eigenen Fragen nachgehen. Zusätzlich habe ich viel über Genetik gelernt.

Auch die Atmosphäre und das Arbeitsklima waren sehr angenehm und viel besser als in der Schule. Ich habe auch viele neue Freunde kennen gelernt. Weil ich aber trotz dieser 2 Wochen immer noch Fragen habe und gerne die Themen des Kurses vertiefen würde, würde ich sehr gerne an einer Aufbauakademie teilnehmen.

Ich danke den Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen, die sich immer die Zeit genommen uns Fragen zu

erklären und so die Akademie zu einer unvergesslichen Zeit gemacht haben.

Tabea

Die Science Academy war eine tolle Zeit für mich. Die Arbeitsatmosphäre war viel angenehmer und das Lernen war deutlich effektiver als in der Schule, da alle die zwei Wochen voll ausnutzen wollten. Ich verstand mich auf der Science Academy sehr gut mit meinen Kursteilnehmern und habe auch über meinen Kurs hinaus viele gute Freunde gefunden. Auch die Atmosphäre zu den Kursleitern war sehr locker.

Ich hoffe sehr, dass eine Aufbauakademie zustande kommt, da unser Kursthema (Gene) noch lange nicht abgearbeitet ist und es noch viele Fragen gibt, die mich interessieren.

Danke an alle, die dafür gesorgt haben, dass die Science-Academy so super wurde, wie sie war.

Maike

Allgemeine Transkriptionsfaktoren in Eukaryotenzellen

Philipp Bayer

Der menschliche Körper besteht aus rund 100 Billionen ($10^{14} = 100.000.000.000.000$) Zellen. Alle diese Zellen sind durch mehrfache Teilung aus einer einzigen befruchteten Eizelle entstanden. Sie

verfügen daher über die gleiche genetische Grundinformation. Dennoch existieren im menschlichen Organismus etwa 250 verschiedene Zelltypen mit grundlegend unterschiedlichen Funktionen und Aussehen. Wie kann das möglich sein? Genau mit dieser Frage beschäftigte sich der Titel unseres Kurses: „Was macht müde Gene munter?“ Da diese Frage für mich am Ende der ersten Woche nicht geklärt schien, beschloss ich, mich bereits in der ersten Woche, mehr darüber herauszufinden. Ein zweites Thema, das mich brennend interessierte und immer noch interessiert ist die Funktion von Proteinen in unserem Körper. In diese beiden Themengebiete fallen genau die genregulierenden Proteine, die **Allgemeinen Transkriptionsfaktoren**.

Genregulation bei Eukaryoten

Schon sehr früh in der Entwicklung wird festgelegt, dass eine Zelle zur Leber-, eine andere aber zu einer Gehirnzelle wird. Das Aussehen und vor allem die Funktion dieser Zellen unterscheiden sich enorm voneinander. Die Zellen zeigen also eine differenzielle Genaktivität: Bestimmte Gene werden zu festgelegten Zeitpunkten in der richtigen Reihenfolge an- oder abgeschaltet. Das An- und Abschalten kann durch äußere Signale erfolgen: So ergrünen Pflanzen nur im Licht. Aber auch Signale direkt von innerhalb des Organismus wie z.B. Hormone beeinflussen entscheidend die Genaktivität.

Die Regulation der Gene kann auf drei Ebenen ablaufen: Zum einen auf der Ebene der DNA, zum anderen auf Ebene der RNA und schließlich auch

auf Ebene der Proteine. Hier wird näher auf die Genregulation auf Ebene der DNA eingegangen.

Das Genom eines Eukaryoten, wie dem Menschen ist um einiges komplexer als das Genom eines Prokaryoten. Das menschliche Genom enthält fast 1000-mal so viel DNA als das von *E. coli*. Durch die Menge der Gene wird aber auch deren Kontrolle schwieriger. Wie aber haben die Eukaryoten es geschafft die gewaltige Aufgabe der Genregulation zu meistern?

Wichtig dabei ist, dass die RNA-Polymerase, das RNA-synthetisierende Protein, die Transkription allein starten kann. Sie ist dabei auf die Bildung eines Komplexes, einer Ansammlung bestimmter Proteine, angewiesen. Diese Proteine nennt man **Allgemeine Transkriptionsfaktoren**.

Allgemeine Transkriptionsfaktoren und Beginn der Transkription

Der Prozess der Ansammlung bietet viele Stufen, auf denen die Initiationsgeschwindigkeit der Transkription durch die schnellere oder langsamere Ansammlung der genregulierenden Proteine beeinflusst werden kann.

Die Komplexbildung beginnt mit der Bindung des TATA-bindenden Proteins (TBP=TATA Binding Protein) an die TATA-Box. Die TATA-Box ist eine kurze, doppelhelicale Sequenz, die überwiegend aus den Nucleotiden Adenin und Thymin gebildet ist. Sie liegt für gewöhnlich 25 Nucleotiden-Paare

stromaufwärts des Transkriptionsstartpunktes innerhalb des dem Gen zugehörigen Regulationsabschnittes, dem Promotor. TBP ist eine Untereinheit des aus vielen Untereinheiten bestehenden Transkriptionsfaktors IID (TFIID), und ist für das Erkennen der TATA-Box verantwortlich. Mit seiner Bindung leitet TFIID den Komplexbildungsprozess ein; danach binden die übrigen Transkriptionsfaktoren sowie die RNA-Polymerase. Nach der Bindung an den Promotor muss die Polymerase aus dem Komplex der Allgemeinen Transkriptionsfaktoren entlassen werden, um die Transkription zu beginnen.

Dabei spielt der Transkriptionsfaktor IIH eine wichtige Rolle. TFIIH phosphoryliert die Polymerase. Von wenigstens einigen Promotoren glaubt man, dass die Phosphorylierung die Polymerase freisetzt und somit erlaubt, dass die Transkription beginnt.

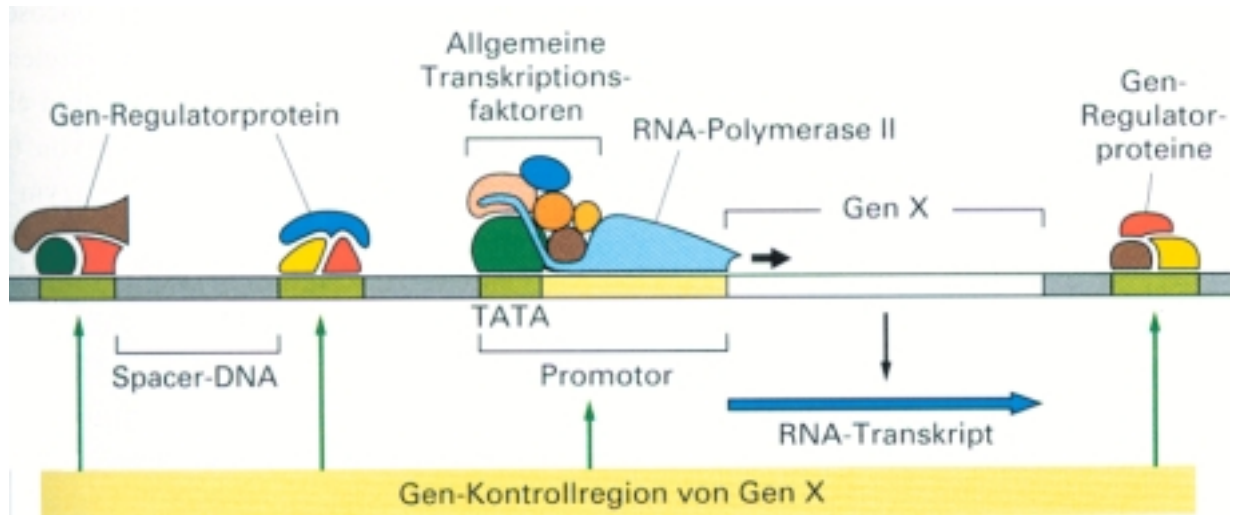


Abb. 1.27: Darstellung der Genregulierenden Sequenzen auf der DNA; mit Spacer-DNA sind platzhaltende Abschnitte zwischen den codierenden Sequenzen gemeint (Abb.: „Molekularbiologie der Zelle“)

Verstärker-Elemente (Enhancer)

1979 entdeckte man zur Überraschung vieler Biologen, dass DNA-Sequenzen, die Tausende von Nucleotidenpaaren entfernt von einem eukaryotischen Promotor liegen, die Transkription von diesem Promotor aktivieren können. Man weiß heute, dass diese **Verstärker-Elemente (engl.: enhancer)** als spezifische Bindungsstellen für Gen-Regulatorproteine dienen. Sie können die Transkription aktivieren oder *verstärken*. Das Gegenstück zum Enhancer bildet der Silencer. Im Gegensatz zum Enhancer *vermindert* er die Genaktivität. Diese beiden Phänomene treten, wenn auch nur selten, auch bei Prokaryoten auf. Darüber, wie die Proteine auf diese Entfernung wirken, wurden viele Modelle entwickelt. Das Einfachste scheint allerdings das Richtige zu sein. Danach bildet die zwischen Verstärker und Promotor liegende DNA eine Schleife, woraufhin die an das Verstärker-Protein bindenden Proteine mit einem der Allgemeinen Transkriptionsfaktoren auf dem Promotor in Wechselwirkung treten können.

Diese Vielfalt an Regulationsmethoden ermöglicht schließlich dem eukaryotischen Organismus die eigene Genaktivität in diesem Ausmaß zu kontrollieren. Aber besitzen Eukaryoten noch mehr Möglichkeiten, ihre Genexpression zu regulieren? Wenn ja, welche sind das? Und wie lösen Prokaryoten die Genregulation?

Ich hoffe mir die Antworten auf diese Fragen in Zukunft, evt. im life-science-lab, beantworten zu können.

Quellenangaben:

Lubert Stryer, 1995, Biochemie, Spektrum Akademischer Verlag, 4.Auflage

Bruce Alberts, Dennis Bray, Julian Lewis, Martin, Raff, Keith Roberts & James D. Watson, 1995, Molekularbiologie der Zelle, VCH Verlagsgesellschaft mbH, 3. Auflage

World-Wide-Web



Hendrickje Windisch

Sie wohnt in Konstanz, ist 16 Jahre alt und geht in die 10. Klasse des Ellenrieder Gymnasiums in Konstanz. In der 9. Klasse hat sie den naturwissenschaftlichen Zug gewählt. Hendrickje hat eine Zwillingsschwester (nicht eineiig) namens Saskia. Sie hat am 15.8.1987 Geburtstag.

Ihre Hobbys sind Klavier spielen, Marathon laufen, im Konstanzer Stadttheater (Wilhelm Tell) Theater spielen, Ski fahren, Spanisch lernen und die Pharmazie AG des Heidelberger Life Science Lab. Im Jahre 2001 war Hendrickje drei Monate als Austauschschülerin in Frankreich.

In der Zukunft würde sie nach dem Abitur gerne ein soziales Jahr irgendwo in Südamerika machen und später in der französischen Schweiz in Lausanne internationales Recht zu studieren. Sie würde gerne Diplomatin werden. Ihre Lieblingsfächer sind Französisch und Chemie.

Sie kam durch ihren Mathe- und Chemielehrer zu der Akademie.

Sabrina Müller

Ist 14 Jahre alt und hat am 13.5.89 Geburtstag. Sie wohnt in Leidringen-Rosenfeld und besucht das Progymnasium in Rosenfeld in der 9. Klasse.

Ihre Hobbys sind tanzen, lesen und schwimmen. Außerdem nimmt sie an einer Astronomie-AG teil und ist an Kunst interessiert. Ihre Mathelehrerin stellte vor der Klasse die Science-Academy vor.

Sabrina zeigte sich interessiert und regelte zusammen mit ihrer Lehrerin die Bewerbung. Auf der Academy hat es ihr sehr gefallen. Sie hat tolle Erfahrungen gesammelt und viele Freundschaften geknüpft.

Miriam Dylla

Ist 15 Jahre alt und hat am 27.6.1988 Geburtstag. Sie wohnt in Herbrechtingen und geht in die 9. Klasse. Sie wählte den sprachlichen Zug und lernt nun Englisch; Latein; Französisch.

Ihre Hobbys sind Ballett, Querflöte und Klavier. Sie kam zur Science-Academy, da sie ihr Mathe-, bzw. Klassenlehrer auf diese Academy aufmerksam gemacht hatte und sie sofort die Bewerbungsunterlagen interessiert entgegen nahm. Am Ende der Academy war sie sehr begeistert. Ihr gefiel dort die tolle Atmosphäre. Außerdem lernte sie viele nette Leute kennen und knüpfte engere Freundschaften.

Mirjam Niklasch

Mirjam wurde am 21. August 15 und ist in der 10. Klasse (G8-Zug) in einem naturwissenschaftlichen Gymnasium in Heilbronn.

In ihrer Freizeit spielt sie Geige und Klavier, ist in ihrer Kirchengemeinde als Kinderkirchhelferin tätig und liest sehr gerne. In der Schule ist sie seit mehreren Jahren in der Aquarien-AG, da sie Biologie sehr interessiert. Die Vorstellung des Heidelberger Life-Science Labs an ihrer Schule durch Dr. Thomas Schutz und Dr. Katrin Platzer machte sie auch auf diese Akademie aufmerksam. Im Zusammenhang mit der Bewerbung für diese Sommerakademie hat sie sich auch für das Heidelberger Life-Science Lab beworben. Dort nimmt sie sowohl an der Pharmazie-AG als auch an Mathewochenenden teil. Von der Sommerakademie

hat sie nur positive Eindrücke mit nach Hause genommen und würde an einer solchen Akademie sofort wieder teilnehmen (wie z.B. an der Deutschen Schülerakademie oder an der geplanten Aufbauakademie).

Maike Nortmeyer

Sie wohnt in Mannheim, ist 15 Jahre alt und geht in die 10. Klasse des Peter Petersen Gymnasium in Mannheim. In der neunten Klasse hat sie den naturwissenschaftlichen Zug gewählt. Maike hat eine kleine Schwester, Astrid, und 3 Hasen. Sie hat am 29.12. 1987 Geburtstag.

Ihre Hobbys sind Flöten, Klavier, Jugend Forscht, Theater spielen in der Freilichtbühne Mannheim und in der Kirche. Und die Pharmazie AG des Heidelberger Life Science Lab. Ihre Lieblingsfächer in der Schule sind Natur und Technik und Biologie. In der Zukunft würde sie gerne etwas in Richtung Medizin oder Biologie studieren.

Zur der Akademie kam sie durch die Juroren beim Jugend Forscht Regionalwettbewerb.

Tabea Kulschewski

Sie wohnt in Besigheim-Ottmarsheim, ist 14 Jahre alt und geht in die 9. Klasse des Christoph-Schrempf Gymnasiums in Besigheim. In der neunten Klasse hat sie den sprachlichen Zug gewählt und lernt nun als Sprachen Englisch, Latein und Italienisch.

Tabea hat einen großen Bruder, Tobias. Sie hat am 18.6.1989 Geburtstag.

Ihre Hobbys sind Klavier und Orgel spielen, im Chor singen, in der Kinderkirche als Betreuerin helfen, ins Kino gehen und die Pharmazie AG des Heidelberger Life Science Lab. Ihre Lieblingsfächer in der Schule sind Musik, Italienisch, Englisch, Latein und Physik.

In der Zukunft würde sie gerne ein Jahr ins Ausland und später Musik oder Musikjournalismus studieren. Tabea kam durch ihren Klassenlehrer (Mathe und Physik) zu der Akademie.

Carsten Ehret

Carsten ist ein sehr gebildeter, 15 jähriger Herr, hat am 20. Februar Geburtstag und dominierte mit hervorragenden naturwissenschaftlichen Kenntnissen den Genetikkurs. Falls es mal Fragen zum Thema Restriktionsenzyme gab, war Carsten der Ansprechpartner Nr. 1.

Carsten spielt gerne Klavier und Trompete und spielte beim Academy-Konzert mit beiden Instrumenten wunderbar gut.

Sein Erscheinungsbild am Konzert war ziemlich...“unvollständig“...er spielte ohne Schuhe...barfuss. Das war Carsten aber egal...Er kann ohne Schuhe besser spielen. Carsten hört auch in seiner Freizeit gerne klassische Musik und liest außerdem gerne.

Sein Lieblingsschriftsteller ist Christian von Dittfurth und seine Lieblingspflanze ist nebenbei der Kaktus. Er ist Mitglied beim Heidelberger Life Science Lab und geht in die Neurologie- und Pharmazie AG. Er kam durch seinen Mathe- und Chemielehrer, sowie durch seinen Physiklehrer zur Akademie und, wenn es eine Aufbauakademie geben würde, wäre Carsten sofort dabei.

In Zukunft hat Carsten noch vor, irgendwas in Richtung Biologie und Chemie zu studieren.

Christoph Grathwol

Ein echter Schwarzwaldzub. Er kommt aus Unterkirnach und ist sehr mit seiner Heimatstadt verbunden. Während der Akademie erzählte er uns sehr viel von seinem Ort und seinen Bewohnern und von seinen Busfahrern Aschterix, Ingo und Brille. In seiner Freizeit spielt er Geige und E-Gitarre. Auf dem Academy-Konzert glänzte er durch seinen Auftritt.

Außerdem snowboardet er, was auch nahe liegt, da er schließlich aus dem Schwarzwald kommt. Zur Akademie kam er durch seinen Chemie-Lehrer. Dieses, oder ein ähnliches Fach möchte er später auch, wahrscheinlich in Heidelberg, wo seine Oma wohnt, einmal studieren.

Nach der Science-Academy ist er im Heidelberger Life-Science-Lab Mitglied der Pharmazie-AG. Ach ja, er ist am 20.5.1988 geboren. Ansonsten gibt es

eigentlich nicht mehr viel zu sagen, außer dass er ein wirklich guter Kumpel sein kann.

Max Maurer

Ist 15 und kommt aus dem zwar schönen, aber doch sehr verschlafenen Baden-Baden. Er besucht dort die 10. Klasse des Richard-Wagner-Gymnasiums.

Obwohl neben Latein, vor allem Chemie und Biologie zu seinen Lieblingsfächern zählen, wählte er im letzten Jahr den sprachlichen Zug. Seine Freizeit verbringt er am liebsten in einem Segelflugzeug hoch über der Kurstadt, doch gehören auch Fotografieren, Klavierspielen oder regelmäßige Kinobesuche zu seinen Hobbies. Nach seinem Abitur strebt er ein Chemie- und Medizinstudium an. Auf die Akademie aufmerksam gemacht worden ist er von seiner Mathematiklehrerin mit den Worten : „Versuchs doch einfach mal!“

Philipp Bayer

Er wohnt in Karlsruhe, ist 15 Jahre und geht in die 10. Klasse des Bismarckgymnasiums in Karlsruhe. Philipp hat den sprachlichen Zug gewählt mit den Sprachen Latein, Englisch und Französisch. Er hat einen kleinen Bruder, der Hendrik heißt und 11 Jahre alt ist. Philipp hat am 25.12.1988 Geburtstag. Seine Lieblingsfilme sind intelligente Actionfilme und „Unter Wasser-“ und „Regenwalddokumentationen“

Seine Hobbies: Biochemie AG des Heidelberger Life Science Lab, Basketball, Musik hören, Gitarre spielen und seiner Mutter Fragen stellen, die sie garantiert nicht beantworten kann.

Später will Philipp in der Welt herum reisen und so viel wie möglich erleben. Philipp kam durch seinen Biologie- und Physiklehrer zu der Akademie.

Michael Rabenstein

Mein Name ist Michael Rabenstein. Ich wurde am 07.08.1987 in Waldshut geboren. Mittlerweile wohne ich in Grenzach welches in der Nähe von Lörrach liegt. Ich gehe in der Heimschule St. Landolin in Ettenheim auf die Realschule. Meine Hobbies sind: Schwimmen, Leichtathletik, Klettern und ich sammle Pokémon-Sammelkarten.

Ich habe vor, nach dem Realschulabschluss auf ein Naturwissenschaftliches Gymnasium zu gehen und hinterher Biologie im Fach Genetik zu studieren. Ich habe außerdem vor einen Nobelpreis zu gewinnen ;o))

Epilog

Max Maurer

„Am Anfang steht das Staunen. Plötzlich fällt einem etwas auf“

Dieses Zitat des deutschen Verhaltensforscher und Zoologen Dr. Wolfgang Wickler hätte ebenso als Leitmotiv der beiden Akademiewochen in Kurs 1 stehen können. Ein völlig neuer Horizont eröffnete sich uns, während wir durch Binokulare Kreuzungsstämme der *Drosophila* bestimmten und über mögliche Folgen spekulierten. Unter der Betreuung der drei Kursleiter Lucas Krupp, Tobias Stuwe und Dr. Thomas Schutz traten zwölf Nachwuchswissenschaftler aus ganz Baden-Württemberg ihre mögliche Forschungskarriere an. Motiviert und wissenshungrig stürzten sich die Teilnehmer in eine Einführung in die Genetik, überzeugt davon, der Molekularbiologie auch die letzten Geheimnisse zu entlocken.

Obwohl das Landesschulzentrum für Umwelterziehung auf den ersten Blick ein wenig unpassend für gentechnologische Experimente schien, konnten die Teilnehmer dort ihre ersten Erfahrungen mit dem wissenschaftlichen Arbeiten im Labor sammeln. In entspannter Arbeitsatmosphäre experimentierten die Jungforscher, noch ganz grün hinter den Ohren (was jedoch nicht nachweislich auf fehlgeschlagene Versuche mit GFP zurückzuführen war) mit lebenden und anschließend auch teilweise leuchtenden Präparaten und machten sich so mit den grundlegenden Arbeitsmethoden eines Forschers vertraut. Gemeinsam verschaffte sich die Gruppe so Einblicke in die Gentechnologie und die

Biochemie, Wissenschaftszweige die erst zu Beginn ihrer Entdeckungen stehen.

Vom molekularen Aufbau der Zelle bis hin zur Vervielfältigung des menschlichen β -GlobinGen durch PCR erlernte die Gruppe die Grundsätze der Genetik nach der altbekannten Lernmethode „Learning bei doing“ Schmunzelnd beobachtete man, wie sich die Teilnehmer, kaum hatten sie eine unerwartete Entdeckung gemacht, in die wildesten Hypothesen stellten, denen erst die Kursleiter Einhalt gebieten konnten

„Da man Ernst zunehmende Forschung daran erkennt, dass plötzlich zwei Probleme existieren wo es vorher nur eines gegeben hatte“ (Thorsten Bude) beschäftigten sich die Teilnehmer anschließend in Einzelarbeit mit Fragen, die ihrer Ansicht nach durch die Versuche der ersten Woche nicht vollständig beantwortet werden konnten. Unterstützt von den drei Kursleitern, die jeder Zeit mit Rat und Tat bei Seite standen, setzten sich die jungen Biologen mit Fachliteratur aller Art auseinander und präsentierten ihre neugewonnen Erkenntnisse den übrigen Teilnehmern. Gemeinsam erarbeitete sich die Gruppe so ein breites Spektrum an biologischem Wissen.

Die Gruppe selbst wuchs in diesen beiden Wochen selbst zu einem klein Forscherteam zusammen, das sich gegenseitig weiterhalf, sobald an einer Stelle ein Problem auftrat. Auf diese Weise blickten die Teilnehmer tief in die wissenschaftliche Arbeit – sowohl Theorie als auch Praxis – eines Forschers.

Getrieben von Forschergeist und Wissensdurst betrat die Gruppen die Schwelle in ein völlig neues Terrain, nämlich das der Molekularbiologie und Biochemie.

Wir möchten uns in aller Form beim Deutschen-Krebsforschungszentrum bedanken, ohne dessen Initiative diese zwei Wochen wohl nie hätten statt finden können. Auch der Landesstiftung Baden-Württemberg sei an dieser Stelle vielfach gedankt, ohne deren finanzielle Unterstützung unsere Reise durch den Mikrokosmos Mensch nicht möglich gewesen wäre.