

## A. Beispiele Aufgaben zur Literatur-Recherche

- 1.) 1985 wurde der Medizin-Nobelpreis für Untersuchungen über den Metabolismus von Cholesterol verliehen. In welcher Publikation wiesen die Preisträger nach, dass bei Patienten mit familiärer Hypercholesterolemie LDL wegen eines defekten LDL-Rezeptors die HMG-CoA-Reduktase nicht hemmen kann?

**Lösung:** Google: Nobelpreis 1985; PubMed: Brown MS and Goldstein JL; *Brown MS, Goldstein JL (1974) Familial hypercholesterolemia: defective binding of lipoproteins to cultured fibroblasts associated with impaired regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. Proc Natl Acad Sci USA 71, 788-792*

- 2.) Wie lautet das Zitat der Publikation von Köhler und Milstein, für den sie den Nobelpreis für die Erstbeschreibung der Herstellung monoklonaler Antikörper bekamen?

**Lösung:** PubMed: Kohler and Milstein; *Köhler G, Milstein C (1975) Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 256, 495-497*

- 3.) Luc Montagnier gilt als Entdecker des HIV. In welcher Publikation hat er erstmals die Isolierung von HIV aus einem Patienten beschrieben?

**Lösung:** PubMed: Montagnier L and AIDS; *Chermann JC, Barre-Sinoussi F, Dauguet C, Brun-Vezinet F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L (1983) Isolation of a new retrovirus in a patient at risk for acquired immunodeficiency virus syndrome. Antibiot Chemother 32, 48-53*

## B. Beispiele Aufgaben zu Proteinsequenzen

- 1.) Morbus Gaucher ist eine vererbte Fettspeicher-Erkrankung. Bei einer besonders schweren Form dieser Erkrankung ist in der  $\beta$ -Glucocerebrosidase, welche für die hydrolytische Spaltung von Glycosylceramid in Glucose und Ceramid verantwortlich ist, die Aminosäure Leucin an der Position 483 aufgrund einer Mutation durch Prolin ersetzt. Welches sind die 5 Aminosäuren vor und nach der Position 483 in der  $\beta$ -Glucocerebrosidase?

**Lösung:** PubMed (Search Protein): glucocerebrosidase and homo sapiens; BAA02545, AC63056, AAC51820, AAA35880: sqkndldaval = *Ser-Gln-Lys-Asn-Asp-Leu-Asp-Ala-Val-Ala-Leu*

2.) Normalerweise produziert die Lunge einen dünnflüssigen Schleim, durch den die Atemwege u.a. von Bakterien gereinigt werden. Bei Mukoviszidose-Patienten ist dieser Schleim zähflüssig und kann nicht mehr für ausreichende Reinigung sorgen. Dies führt häufig zu Lungenentzündungen und zum frühen Tod. Das bei der Mukoviszidose betroffene Genprodukt (CFTR= Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) besteht aus 1480 Aminosäuren und bildet einen Teil des Chloridkanals. In etwa 70% der Patienten mit Mukoviszidose findet man eine Deletion der Aminosäure an der Position 508 des CFTR-Proteins. Um welche fehlende Aminosäure handelt es sich und welche sind die 5 folgenden Aminosäuren im CFTR?

**Lösung:** PubMed (Search protein): CFTR and homo sapiens; P13569, NP 000483: fgvsyd = *Phe-Gly-Val-Ser-Tyr-Asp*

3.) Das Protein p53 ist ein Tumor Suppressor Protein, welches in normalen gesunden Zellen die ungezügelte Zellteilung verhindert. In vielen menschlichen Tumoren (z.B. 70% aller Darmtumoren, 50% der Lungentumore, 40% der Brustkrebsfälle) ist das p53 Gen mutiert, was zu einem funktionslosen p53 Protein führen kann. Bei Patienten mit Leberkrebs ist häufig die Aminosäure an der Position 249 mutiert. Welche Aminosäure ist normalerweise an dieser Stelle und welche sind die 5 folgenden Aminosäuren im p53?

**Lösung:** PubMed (Search protein): tumor suppressor p53 and homo sapiens; NP 000537, P04637, AAR10356, AAD28628,: rpilti = *Arg-Pro-Ile-Leu-Thr-Ile*

## C. Beispiele Aufgaben zu Primer-Sequenzen

1.) Bei der Chorea Huntington Erkrankung (Veitstanz) führt der Untergang von Nervenzellen im Gehirn zu schweren körperlichen Behinderungen und seelischen Störungen, zum geistigen Zerfall und schließlich zum Tod. Die Ursache der Huntington Erkrankung ist eine Veränderung im Huntingtin-Gen. Bei diesen Mutationen handelt es sich um Verlängerungen einer Sequenz aus Wiederholungen des Nukleotidtripletts CAG, welches die Aminosäure Glutamin codiert. Bei Gesunden wiederholt sich das CAG-Codon 10 bis 30 mal, bei einer Verlängerung von über 37 kommt es zum Ausbruch der Krankheit, dazwischen liegt eine Grauzone. Je mehr Repeats vorliegen, desto früher ist mit dem Ausbruch der Erkrankung zu rechnen und desto ungünstiger ist die Prognose. Suchen Sie mittels der mRNA-Sequenz eine spezifische Primersequenz (20 bp) für das Huntingtin-Gen und geben Sie für die gefundenen Primer die Größe der amplifizierten DNA an.

**Lösung:** PubMed (Search Gene): huntingtin and homo sapiens: HD; mRNA: NM 002111 (13495 bp); *left primer: ctttttgaggcaaaaagcag, Produkt-Größe: 445 bp*

2.) Duchenne's Muskeldystrophie ist als X-chromosomal vererbte Krankheit eine der häufigsten monogen bedingten Erkrankungen bei Männern (ca. 1:3500). Hauptmerkmal ist ein Muskelschwund, der an den unteren Extremitäten beginnt und mit einer dramatischen Erhöhung der Serum-Creatinphosphokinase verknüpft ist. Die Patienten fallen bereits im frühen Kindesalter durch einen unsicheren Gang, häufiges Stolpern und die Unfähigkeit zu rennen auf. Bereits um das 10. Lebensjahr benötigen sie einen Rollstuhl. Etwa ein Drittel der Patienten zeigt auch eine geistige Retardierung. Die Lebenserwartung ist deutlich begrenzt. Durch ärztliche Behandlung können die körperlichen Beschwerden gemildert und das Fortschreiten der Muskelschwäche verzögert werden. Ursache der Erkrankung ist eine Mutation im Protein Dystrophin, welches oft auch Utrophin genannt wird. Bei den meisten Patienten (ca 60%) liegt die Deletion eines oder mehrerer Exons vor. Suchen Sie mittels der mRNA-Sequenz eine spezifische Primersequenz (20 bp) für das nicht-mutierte Utrophin-Gen und geben Sie für die gefundenen Primer die Größe der amplifizierten DNA an.

**Lösung:** PubMed (Search Gene): utrophin and homo sapiens: UTRN; mRNA: NM 007124 (10302 bp); *left primer: aaggaacgtggtccacaag, Produkt-Größe: 413 bp*

3.) Die klassische Phenylketonurie (PKU) ist eine autosomal-rezessiv vererbte Störung des Aminosäure-Stoffwechsels (Inzidenz in Deutschland: ca. 1:6000). Unbehandelte, an einer PKU erkrankte Neugeborene fallen bereits in den ersten Lebensmonaten durch Wachstumsstörung, Erbrechen, statomotorische Entwicklungsverzögerung, charakteristischen Geruch (Phenylketone), ekzemartige Hautveränderungen und geistige Retardierung auf. Die genetische Ursache besteht in einem teilweisen oder vollständigen Aktivitätsverlust der Phenylalanin-4-Hydroxylase (PAH), die für die Umwandlung von Phenylalanin in Tyrosin verantwortlich ist. Meistens sind Mutationen im PAH-Gen Ursache einer PKU. Suchen Sie mittels der mRNA-Sequenz eine spezifische Primersequenz (20 bp) für das PAH-Gen und geben Sie für die gefundenen Primer die Größe der amplifizierten DNA an.

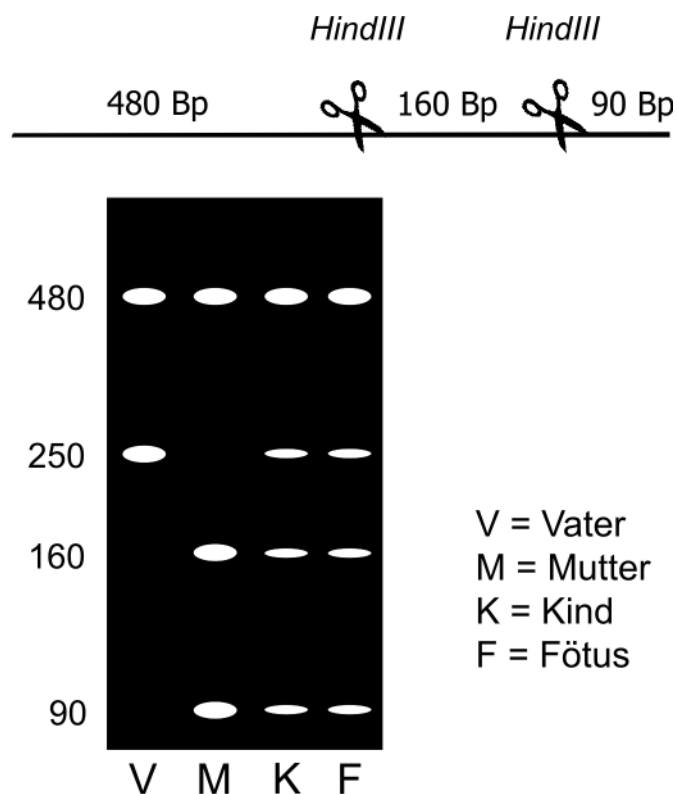
**Lösung:** PubMed (Search Gene): phenylalanine hydroxylase and homo sapiens: PAH; mRNA: NM 000277 (2680 bp); *left primer: cttgggcaggaaactctctg, Produkt-Größe: 420 bp*

## D. Pränatale Diagnose Hämophilie A

Das Fehlen bzw. der funktionelle Mangel an Gerinnungsfaktor VIII, welcher vom X-Chromosom codiert wird, verursacht die als Hämophilie A bezeichnete Bluterkrankheit. Sie tritt mit einer Inzidenz von ca. 1:10000 beim männlichen Geschlecht auf und ist damit die häufigste Blutgerinnungsstörung des Menschen. Die Hämophilie A manifestiert sich klinisch nur bei Männern, heterozygote Frauen bleiben aufgrund ihres zweiten intakten X-Chromosoms symptomlos. Eine häufig gefundene Mutation führt zum Verlust einer Schnittstelle für das Restriktionsenzym *HindIII* (siehe Schema).

Zur pränatalen Diagnose wurden die 730 Basenpaare (Bp) langen DNA-Fragmente des Faktor VIII-Gens, welche diese Mutationsstelle enthalten, mittels PCR amplifiziert und mit *HindIII* inkubiert. Die Produkte wurden anschließend in einem Gel aufgetrennt und gefärbt.

Sie sehen die DNA-Proben einer betroffenen Familie. Erklären Sie den Befund „homozygote bzw. heterozygote Träger der Mutation“. Ist der Fötus Träger der Mutation? Welches Geschlecht haben Kind bzw. Fötus?

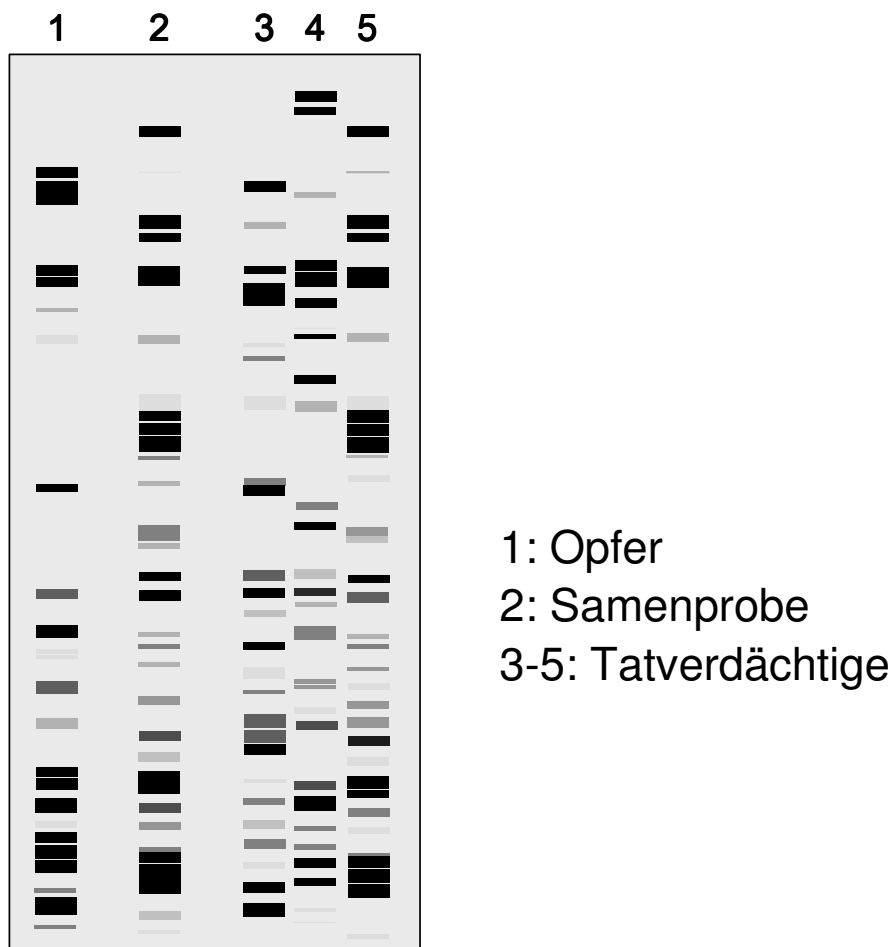


**Lösung:** Der Vater ist Träger der Mutation, die Mutter hat diese Mutation nicht, Kind und Fötus sind beide heterozygote Träger der Mutation, beide sind weiblich

## E. Täter-Identifizierung mittels genetischem Fingerabdruck

Um Identitäten bzw. Verwandtschaftsbeziehungen von Personen festzustellen, wurde das Short-Tandem-Repeats-Polymorphismus (STRP)-Verfahren entwickelt. Das Prinzip beruht darauf, dass unterschiedliche Individuen an bestimmten Stellen im Genom (Loci) unterschiedlich viele tandemartig wiederholte Mikrosatelliten (Wiederholungen von Tri- und Tetranukleotiden, z.B. GATAGATAGATA...) besitzen. Da Menschen einen hohen Mikrosatelliten-Polymorphismus aufweisen, reichen 10 bis 15 ungekoppelte hochpolymorphe Genloci aus, um eindeutige Entscheidungen zu fällen. Dazu werden bestimmte DNA-Abschnitte, welche Mikrosatelliten enthalten, mittels PCR amplifiziert, mit Restriktionsenzymen geschnitten, in einem Gel aufgetrennt und gefärbt.

Nach einer Vergewaltigung wurde mittels Vaginalabstrich eine Samenprobe gewonnen und daraus ein genetischer Fingerabdruck erstellt. Die DNA-Fingerabdrücke der Abbildung stammen vom Opfer (Probe 1), von der Samenprobe aus dem Vaginalabstrich des Opfers (Probe 2) sowie von drei Verdächtigen (Proben 3-5). Welcher der Verdächtigen ist mit hoher Wahrscheinlichkeit der Täter?



**Lösung:** Der DNA-Fingerprint der Probe 5 stammt vom Täter