

Gentechnik (GENT)

Leitfragen für den Lehr- und Prüfungsstoff

Die Fragen decken das Prüfungsgebiet nicht ab!!!

Sie sind unterschiedlich ausführlich zu beantworten. Überschneidungen sind möglich.

1. Im Folgenden sind die wesentlichen Ziele der Gentechnik genannt. Erläutern Sie jeweils kurz, was darunter zu verstehen ist:
 - a) Genomanalyse
 - b) *in vitro*-Rekombination
 - c) Genveränderung (inkl. Gentherapie)
 - d) Gensynthese
2. Erläutern Sie jeweils kurz die folgenden Begriffe:
 - a) Adapter, b) Blunt ends, c) cDNA, d) Contig e) DNA-Hybridisierung, f) DNA-Molekulargewichtsmarker, g) DNA-Sonde bzw. Gensonde, h) Expressionskassette, i) Homopolymer-schwänze, j) *in situ*-Hybridisierung, k) Insertionsvektor, l) Klebrige Enden, m) Klonierung, n) Kolonie-Hybridisierung, o) Ligation, p) Linker, q) Mikrosatellit, r) Nick-Translation, s) Polymorphe DNA-Marker, t) Primer, u) Repetitive DNA, v) Replikationsstartpunkt, w) RFLP, x) Southern Blot, y) Transgen, z) VNTR.
3. Was wissen Sie über die Methoden der DNA-Isolierung?
4. Wie lassen sich Ausbeute und Reinheit isolierter DNA messen?
5.
 - a) Was sind Restriktionsenzyme?
 - b) Charakterisieren Sie die Restriktionsenzyme des Typs II.
 - c) Wie wirken sie?
 - d) Nennen Sie Anwendungsbeispiele.
6. Nennen Sie fünf Enzyme oder Enzymgruppen, die neben den Restriktionsendonukleasen eine Bedeutung in der Gentechnik haben, sowie deren jeweilige Funktion.
7.
 - a) Was wird unter cDNA verstanden?
 - b) Stellen Sie eine Methode der cDNA-Synthese vor.
8.
 - a) Welches grundsätzliche Prinzip wird bei der Elektrophorese hinsichtlich der Analyse von DNA verfolgt?
 - b) Charakterisieren Sie die wichtigsten dabei verwendeten Gele.
 - c) Was bedeutet, bei EtBr handelt es sich um einen interkalierenden Farbstoff?
9. Erläutern Sie, wofür und in welcher Weise Gensonden eingesetzt werden.
10. Beschreiben Sie die Verfahren a) „Nick-Translation“ und b) „*in vitro*-Transkription“, die zur Markierung von DNA-Sonden natürlicher Herkunft dienen.

11. Schildern Sie den prinzipiellen Ablauf der Southern-Blot-Technik.
12. a) Wozu dient in der Gentechnik die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)?
b) Wie läuft sie im Prinzip ab?
c) Nennen Sie Anwendungsbeispiele.
13. a) Welche Funktionen haben die so genannten Primer in der Polymerase-Kettenreaktion?
b) Wie „groß“ sollten Primer sein, die für die Amplifikation humaner DNA eingesetzt werden? Begründen Sie Ihre Antwort.
c) Welchen Einfluss hat die Annealing-Temperatur auf den Ausgang der PCR?
14. Skizzieren Sie den methodischen Ansatz der Maxam-Gilbert-Sequenzierung.
15. Skizzieren Sie den methodischen Ansatz der enzymatischen DNA-Sequenzierung („Kettenabbruchmethode“ nach Sanger und Coulson)
16. a) Welches ist die Funktion der Didesoxynukleotide bei der Kettenabbruchsequenzierung?
b) Wie werden die Produkte der Kettenabbruchsequenzierung während der Elektrophorese nachgewiesen?
17. Skizzieren Sie den methodischen Ansatz der Pyrosequenzierung.
18. Bei der Analyse und Bearbeitung von DNA gibt es für verschiedene Verfahren Optimalbereiche hinsichtlich der Länge (Anzahl Nukleotide bzw. Basenpaare) der DNA-Moleküle. Geben Sie für folgende Verfahren die für optimale Ergebnisse jeweils empfohlene Höchstlänge an:
a) Agarosegelelektrophorese, b) Polyacrylamidgelelektrophorese, c) DNA-Sequenzierung, d) Künstliche DNA-Synthese, e) (Konventionelle) PCR.
19. Charakterisieren Sie den prinzipiellen Ablauf einer DNA-Klonierung.
20. a) Was versteht man unter einer Wirtszelle?
b) Nennen Sie drei Wirtszellen, die in der Gentechnik verbreitet Anwendung finden.
21. Nennen und erläutern Sie kurz die Techniken zur Einschleusung von DNA in prokaryotische Zellen.
22. a) Was versteht man unter einem Klonierungsvektor?
b) Aus welchen Gründen werden bei der DNA-Klonierung Vektoren eingesetzt?
c) Welche wichtigen Eigenschaften muss ein Vektor aufweisen?
23. a) Charakterisieren Sie den Aufbau eines Plasmid-Vektors.
b) Nennen und charakterisieren Sie kurz zwei weitere Vektoren, die für die Einschleusung von DNA in Prokaryoten verbreitet Anwendung finden.
24. Erläutern Sie das Prinzip der Marker-Inaktivierung bei der DNA-Klonierung.
25. Was wissen Sie über das „Blau-Weiß-Screening“?

26. Welches Problem entsteht durch so genannte „Satellitenkolonien“ im Zuge von Klonierungsverfahren nach längerer Inkubation im Anschluss an die DNA-Transformation?
27. Charakterisieren Sie Klonierungsvektoren, die auf dem Bakteriophagen M13 basieren.
28. a) Charakterisieren Sie Insertionsvektoren, die auf dem λ -Phagen basieren.
b) Charakterisieren Sie Substitutionsvektoren, die auf dem λ -Phagen basieren.
29. a) Was sind genomische Bibliotheken und welche Anforderungen sollen sie erfüllen?
b) Warum sind Vektoren, die größere DNA-Fragmente aufnehmen können, für die Herstellung einer Klonbibliothek vorteilhaft?
b) Nennen Sie zwei Beispiele derartiger Vektoren.
30. Beschreiben Sie die gängigen Verfahren zur Erzeugung „künstlicher“ klebriger Enden an DNA-Fragmenten.
31. Erläutern Sie die Prinzipien der gentechnischen Herstellung eines Medikamentes am Beispiel von Interferon.
32. Erläutern Sie die Prinzipien der gentechnischen Herstellung eines Medikamentes am Beispiel von Insulin.
33. Erläutern Sie die Prinzipien der gentechnischen Herstellung eines Medikamentes am Beispiel von Erythropoietin.
34. Welche Anforderungen sollen Tierische Zelllinien erfüllen, damit sie für die Erzeugung rekombinanter Proteine geeignet sind?
35. Welche Hoffnungen werden mit der Gentechnik bei der Herstellung von Impfstoffen verbunden?
36. a) Was versteht man unter somatischer Gentherapie?
b) Nennen Sie die grundsätzlichen Strategien, die bei der somatischen Gentherapie verfolgt werden und erläutern Sie jede mit wenigen Sätzen.
37. Was versteht man unter Keimbahntherapie?
38. Was sind die Unterschiede des retroviralen und adenoviralen Vektorensystems bei der Gentherapie?
39. Nennen Sie kurz die Vor- und Nachteile folgender Gentransfersysteme:
 - a) Adenovirus als Vektor
 - b) Retrovirus als Vektor
 - c) Rezeptor-Vermittlung
 - d) Liposomen-Methode
 - e) Mikroinjektion.
40. Erläutern Sie das Prinzip der Antisense Technik.

41. a) Was versteht man unter RNA-Interferenz?
b) Welche Einsatzmöglichkeit bietet die RNA-Interferenz der Gentherapie?
42. Was wird unter dem Prinzip des Gene Targetings mittels homologer Rekombination verstanden?
43. Welches sind die wichtigen Elemente der Genomanalyse? Bitte erläutern Sie kurz, was jeweils darunter verstanden wird.
44. Charakterisieren Sie kurz die Techniken der „*in situ*-Hybridisierung“ sowie der „Somatischen Zellhybridisierung“. Welches generelle Ziel wird mit diesen Techniken verfolgt?
45. Was versteht man in der Gentechnik unter den folgenden DNA-Karten, und welchen prinzipiellen Ansatz zu ihrer Erstellung verfolgt man jeweils:
 - a) Genetische Karte,
 - b) Physikalische Karte?
46. Nennen und charakterisieren Sie kurz verschiedene Techniken der Genkartierung.
47. Erläutern Sie den Ansatz der Kopplungsanalyse bei der Erstellung von Genkarten.
48. a) Warum wird für die Rückkreuzungen im Rahmen einer Kopplungsanalyse eine doppelt Homozygote verwendet?
b) Warum sind die homozygoten Allele für die getestete Eigenschaft bevorzugt rezessiv?
49. Erläutern Sie den Zusammenhang von Kopplungsbeziehungen von Genorten und der Rekombinationsrate von Gameten (Keimzellen).
50. Erläutern Sie die Einheit centi-Morgan. Wie wird sie gemessen?
51. a) Was sind genetische Marker und wozu dienen sie?
b) Nennen und erläutern Sie ein Beispiel für einen genetischen Marker.
52. Was versteht man unter RFLPs (Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismen)?
53. a) Was versteht man unter VNTRs (variable Number of Tandem Repeats)?
b) Nennen Sie ein Beispiel für die Nutzung von VNTRs.
c) Was ist der Unterschied zu den so genannten Short Tandem Repeats?
54. Was versteht man unter SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms)?
55. Was wissen Sie über die Kartierung mit Sequence tagged Sites?
56. Was ist unter „Reverser Genetik“ zu verstehen? Wie wird bei diesem Ansatz vorgegangen?
57. a) Beschreiben Sie die „Shotgun“-Methode der Genomsequenzierung.
b) Welche Probleme können bei dieser Methode auftreten?
58. Wozu dient das clone fingerprinting und welche verfahrenstechnischen Ansätze kennen Sie dabei?

59. Erläutern Sie die Technik der indirekten Erbfehlerdiagnose anhand eines Beispiels.
60. Was wird unter DNA-Fingerprinting verstanden?
61. Nennen Sie die Einsatzgebiete, für die gentechnische Verfahren bei Nutztieren zukünftig interessant sein könnten. Begründen Sie jeweils kurz, warum.
62. Nennen Sie drei Einsatzgebiete der Gentechnologie, die für die landwirtschaftliche Tierhaltung heute bereits Bedeutung haben.
63. Welche Vorteile bietet eine genomische Selektion in der Tierzucht?
64. a) Was versteht man unter Gentransfer bei Nutztieren?
b) Welche Ziele sollen damit erreicht werden?
65. Stichwort Genfarming: Was spricht für die Produktion von Fremdproteinen in der Milchdrüse von Haussäugetieren?
66. Welches sind die Arbeitsschritte bei der Erstellung transgener Säugetiere mittels Mikroinjektion?
67. Welche Ziele werden bei der gentechnischen Veränderung von Nutzpflanzen verfolgt?
68. a) Welche Möglichkeiten des Gentransfers in pflanzliche Zellen kennen Sie?
b) Skizzieren Sie kurz jede dieser Möglichkeiten.
69. a) Welchen Ansätze bietet die Gentechnik zur Nutzung von *Bacillus thuringiensis* für den Pflanzenbau?
b) Was wissen Sie über das *Agrobacterium tumefaciens*?
70. a) Was ist Elektroporation?
b) Was ist ein Protoplast, und wozu wird er benötigt?
71. a) Was versteht man unter der Totipotenz einer Pflanzenzelle?
b) Warum ist die Totipotenz beim Gentransfer in Pflanzen so wichtig?