

Hinweise für den Prüfling

Bearbeitungszeit (insgesamt): 300 Minuten

Auswahlverfahren

Wählen Sie aus den Aufgabengruppen A und B jeweils einen der beiden vorliegenden Vorschläge zur Bearbeitung aus. Die nicht ausgewählten Vorschläge werden 60 Minuten nach Beginn der Bearbeitungszeit von der Aufsicht führenden Lehrkraft eingesammelt.

Erlaubte Hilfsmittel

1. ein Wörterbuch der deutschen Rechtschreibung
2. ein eingeführter Taschenrechner (Bei grafikfähigen Rechnern und Computeralgebrasystemen ist ein Reset durchzuführen.)
3. eine Liste der fachspezifischen Operatoren

Sonstige Hinweise

keine

In jedem Fall vom Prüfling auszufüllen

Name: _____

Vorname: _____

Prüferin/Prüfer: _____

Datum: _____

Genetik und Gentechnik

Genome-Editing in der Pflanzenzucht

Aufgabe

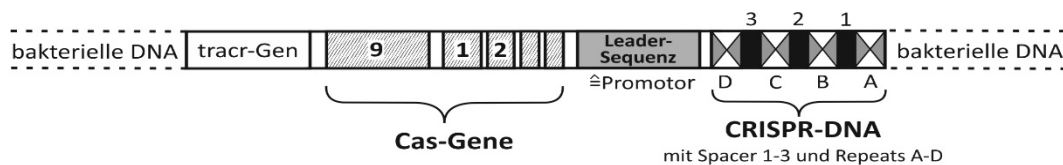
- 1 Beschreiben Sie das Prinzip der Vermehrung eines DNA-Virus.
(6 BE)
- 2 Beschreiben und erläutern Sie die einzelnen Phasen des Wirkmechanismus des prokaryotischen Abwehrsystems CRISPR/Cas9. (Material 1)
(20 BE)
- 3 Erklären Sie, wodurch verhindert wird, dass in der Interferenzphase (Abbildung 1.2, Phase C) auch das bakterielle Genom selbst zerstört wird. (Material 1)
(6 BE)
- 4 Erklären Sie anhand der Materialien 1 und 2.2, wie der CRISPR/Cas9-Komplex (Abbildung 1.3) aufgebaut sein muss, sodass er als gentechnisches Werkzeug Sequenzen auch in anderer DNA gezielt schneiden kann. (Material 1 und 2)
(6 BE)
- 5 Beurteilen Sie anhand des dargestellten Beispiels das Verfahren des Genome-Editing im Vergleich zur Mutagenesezüchtung. (Material 2)
(12 BE)

Material 1**Abwehrmechanismus von Bakterienzellen gegenüber Phageninfektionen**

Viele Lebewesen sind den Angriffen von Parasiten ausgesetzt. Im einfachsten Fall handelt es sich dabei um Viren, die Bakterien befallen (Bakteriophagen). Die Wirte sind solchen Angreifern jedoch nicht schutzlos ausgeliefert, sondern haben im Laufe der Evolution mitunter hochwirksame Gegenmaßnahmen zu ihrer Verteidigung entwickelt. So verfügen bereits Bakterien über ein zelluläres Abwehrsystem, das sogenannte CRISPR/Cas9-System.

Der CRISPR-Bereich in bakterieller DNA wurde bereits in den 80er Jahren aufgrund seiner auffälligen Sequenzen entdeckt (Abbildung 1.1): Zwischen *Repeats* (kurzen Sequenz-Wiederholungen) liegen sogenannte *Spacer* (Abstandshalter). Diese *Spacer* enthalten bemerkenswerterweise DNA-Sequenzen, wie sie in Phagen vorkommen, und ihre Anzahl steht offensichtlich mit der Häufigkeit überstandener viraler Attacken in Zusammenhang. Sie stellen daher eine Art Archiv parasitärer Phagen-DNA im Wirtsgenom dar. Das abgebildete Beispiel (Abbildung 1.2) zeigt die Infektion durch einen vierten Phagentyp, sodass am Ende der Phase A vier verschiedene Spacer vorliegen.

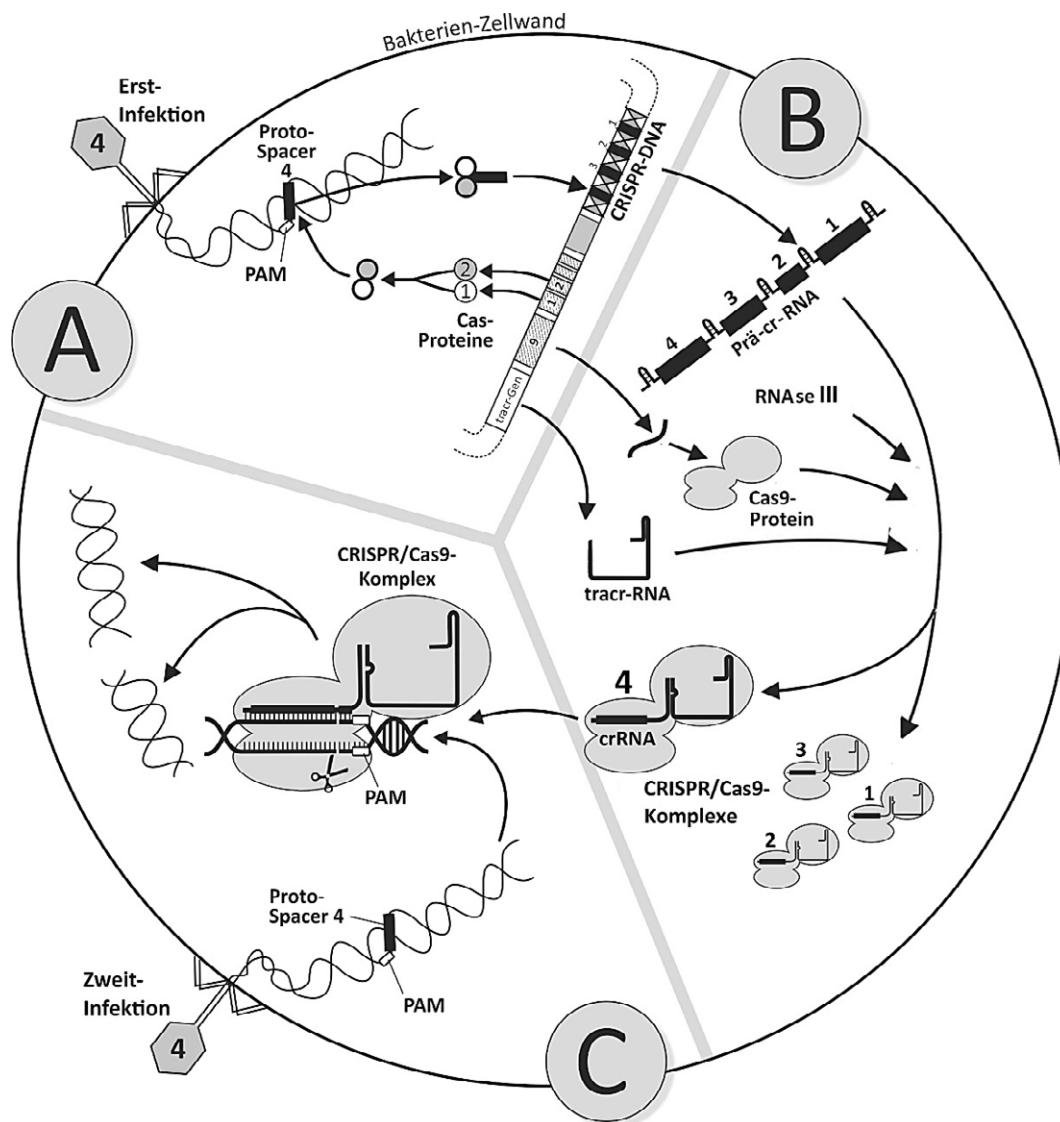
In unmittelbarer Nähe der CRISPR-Sequenzen liegen weitere DNA-Bereiche, die für den Abwehrmechanismus von entscheidender Bedeutung sind, darunter mehrere Cas-Gene, die in Cas-Proteine übersetzt werden. Diese Proteine sind u.a. für die Erkennung fremder DNA verantwortlich oder können als Endonukleasen DNA-Stränge schneiden. In der viralen DNA wurde außerdem vor dem sogenannten Protospacer immer ein charakteristisches Basen-Triplett gefunden, das als PAM bezeichnet wird.

Abbildung 1.1**Bakterielles CRISPR/Cas9-DNA-System (vor Infektion mit Phagentyp 4)**

Fortsetzung Material 1 siehe nächste Seiten

Abbildung 1.2

Details der drei Phasen der prokaryotischen Abwehrreaktion



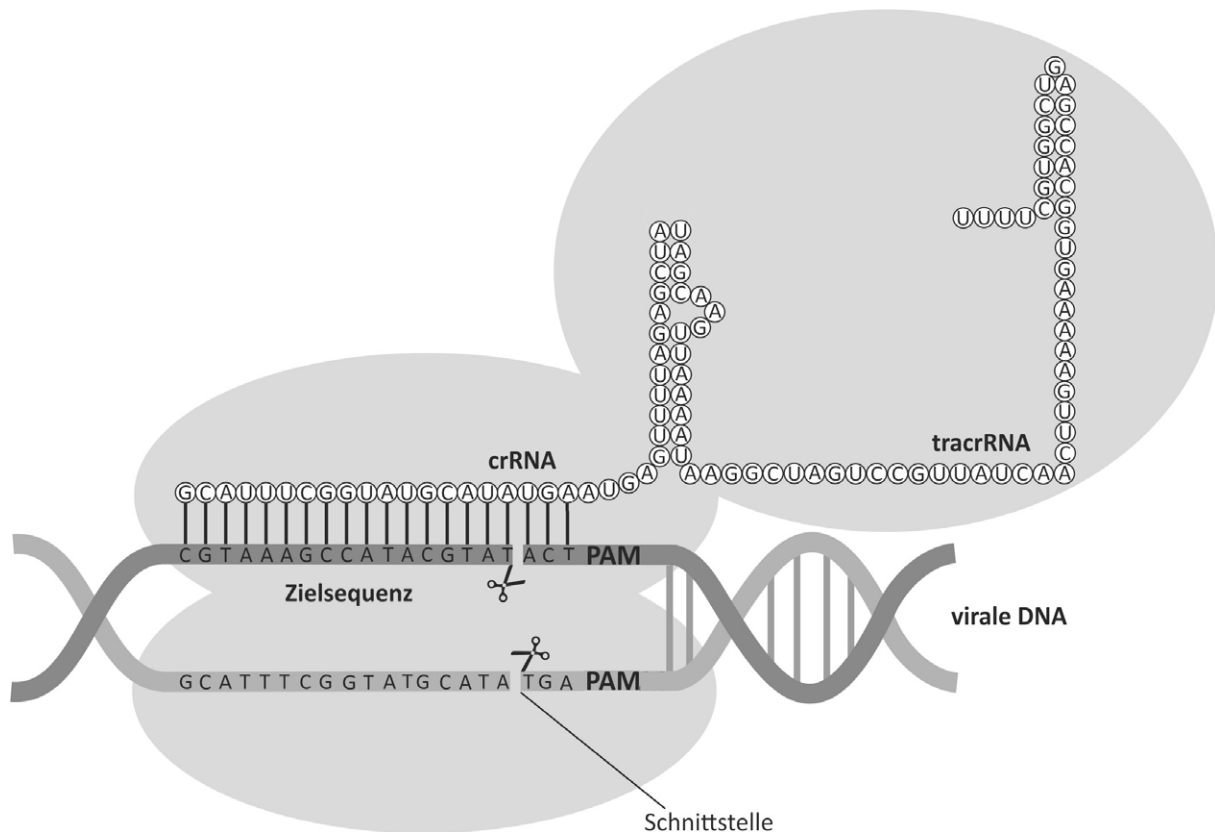
Erläuterungen:

- A Immunisierungsphase:** Nach der Phageninfektion wird in den CRISPR-DNA-Bereich ein neuer Spacer eingefügt.
- B Expressions- und Prozessierungsphase:** Bildung eines funktionsfähigen CRISPR-Cas9-Komplexes.
- C Interferenzphase:** Die eingedrungene Phagen-DNA wird zerstört.

Fortsetzung Material 1 siehe nächste Seite

Abbildung 1.3

Detailansicht des bakteriellen CRISPR/Cas9-Komplexes



Material 2

Züchtung von Gurken auf Virus-Resistenz

2.1 Mutagenesezüchtung

Die klassische Züchtung beruht in der Regel darauf, dass aus natürlich vorkommenden Varianten einer Pflanzensorte A diejenigen Individuen mit der gewünschten Eigenschaft ausgewählt werden (hier z.B. Pflanzen mit Virus-Resistenz, die aber nur kleine Früchte tragen) und durch mehrfach wiederholtes kontrolliertes Kreuzen versucht wird, die gewünschte Eigenschaft auf eine bestehende Kulturpflanze B (hier z.B. eine Pflanze mit besonders großen und schmackhaften Früchten, aber ohne Virus-Resistenz) zu übertragen und diese weiter zu kultivieren.

Um allgemein die Mutationsrate und damit gleichzeitig die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, dass die gewünschte Genvariation auftritt, werden die Pflanzen der Sorte A außerdem radioaktiver Strahlung oder Mutationen auslösenden Chemikalien ausgesetzt (Mutagenese).

Bei der Kreuzung der Sorten A und B wird aber nicht nur das gewünschte Gen der Sorte A auf Sorte B übertragen, sondern zusätzlich weitere DNA-Bereiche. Durch weiteres Kreuzen dieser Hybriden (Mischformen) mit den gewünschten Eigenschaften untereinander verringert sich typischerweise über Generationen nach und nach der DNA-Anteil der Sorte A für unerwünschte Eigenschaften. Allerdings ist der verbleibende DNA-Bereich noch deutlich größer als das für die gewünschte Eigenschaft verantwortliche Gen und kann auch unerwünschte weitere Gene enthalten.

2.2 Genome-Editing mit dem CRISPR/CAS9-System

2012 fanden die Wissenschaftlerinnen Charpentier und Doudna heraus, dass im CRISPR/Cas9-Komplex die crRNA durch eine beliebige andere RNA-Sequenz ersetzt und direkt mit der tracr-RNA zu einem einzigen Molekül verbunden werden kann, was als Leit-RNA bezeichnet wird. Ein solcher veränderter CRISPR/Cas9-Komplex entwickelt dann in jedem beliebigen Zelltyp, auch in Eukaryoten, eine entsprechende Nuklease-Aktivität, sofern die Zielsequenz in der Nähe eines PAM-Tripletts liegt. Wenn die Zelle diesen Doppelstrangsnitt repariert, kommt es häufig zu zufälligen Veränderungen in der Basenabfolge, wodurch ein dort vorhandenes Gen funktionslos werden kann („knock out“). Auf diese Weise können daher gezielt Gene außer Funktion gesetzt werden. Obwohl diese Methode sehr spezifisch ist, schneidet die Endonuklease Cas9 gelegentlich aber auch an anderen Stellen.

Genome-Editing am Beispiel der Entwicklung einer virusresistenten Gurkensorte

Gurkensorte

mit erwünschten Fruchtigenschaften,
aber anfällig
gegenüber Viren

