

# ÖEB-Modulabschlussklausur 31.03.2012

## Frage 1 (Tenberge)

### Evolution und Biodiversität der Pflanzen: Vorlesung

Bitte charakterisieren Sie die Gruppe der Nadelbäume (Nadelblättrige Nacktsamer), indem Sie folgende Teilfragen möglichst kurz beantworten:

a) Bitte geben Sie die wissenschaftliche Systematik dieser Pflanzengruppe an: (1/10)

Regnum (Reich, Domäne)	
Subregnum (Unterreich)	
Abteilung	
Unterabteilung	
Klasse	

b) Die Nadelbäume folgen in ihrer Entwicklung einem Generationswechsel. (3,5/10)

Dieser heißt:		Homologe Struktur der Moose ? ↓
Dem Sporophyten entspricht:		
Dem Gametophyten entspricht:	1) 2)	1) 2)

c) Nennen Sie die maßgeblichen Verbreitungseinheiten der genannten Gruppen. (1,5/10)

Moose	
Farne	
Nadelbäume	

d) Welche Prozesse oder Neugestaltungen stehen in direktem (kausalem) Zusammenhang mit der Entstehung der Verbreitungseinheit der nadelblättrigen Nacktsamer? (2/10)

1	
2	
3	

- e) Beurteilen Sie den Verlust der Autonomie des weiblichen Gametophyten, [was einen haplobiontischen Generationswechsel bedingt – „ähnlich den Moosen, nur mit vertauschten Generationen“-] für die Evolution der Gruppe. (Welche Vorteile entstehen?) (2/10)

■	
■	
■	

**Antwortbeispiele:**

Bitte charakterisieren Sie die Gruppe der Nadelbäume (Nadelblättrige Nacktsamer), indem Sie folgende Teilfragen möglichst kurz beantworten:

- a) Bitte geben Sie die wissenschaftliche Systematik dieser Pflanzengruppe an: (1/10)

Regnum (Reich, Domäne)	Eucarya (Eukaryoten)	
Subregnum (Unterreich)	Chlorobionta	
Abteilung	Streptophyta	
Unterabteilung	Spermatophytina (Samenpflanzen)	
Klasse	Coniferopsida	

- b) Die Nadelbäume folgen in ihrer Entwicklung einem Generationswechsel. (3,5/10)

Dieser heißt:	heterophasischer (antithetischer) GW	Homologe Struktur der Moose? ↓
Dem Sporophyten entspricht:	der beblätterte Nadelbaum	Sporogon
Dem Gametophyten entspricht:	1) reifes mehrzelliges Pollenkorn 2) Megaprothallium im Embryosack	1) männliche Moospflanze 2) weibliche Moospflanze

- c) Nennen Sie die maßgeblichen Verbreitungseinheiten der genannten Gruppen. (1,5/10)

Moose	Sporen	
Farne	Sporen	

Nadelbäume	Samen	
------------	-------	--

d) Welche Prozesse oder Neugestaltungen stehen in direktem (kausalem) Zusammenhang mit der Entstehung der Verbreitungseinheit der nadelblättrigen Nacktsamer? (2/10)

1	weiblicher-Gametophyt verlässt Megaspore (Endosporie) und Megasporangium nicht mehr	
2	Siphonogamie: Pollenschlauchbefruchtung im Sporophyten	
3	Bestäubung: Übertragung austrocknungsresistenter Pollenkörner auf Samenanlagen	
4	Die Entwicklung von Integumenten (→ Samenschale) und Nährgeweben für den Embryo	

e) Beurteilen Sie den Verlust der Autonomie des weiblichen Gametophyten, [was einen haplobiontischen Generationswechsel bedingt – „ähnlich den Moosen, nur mit vertauschten Generationen“-] für die Evolution der Gruppe. (Welche Vorteile entstehen?) (2/10)

- Die Endosporie schafft die Voraussetzung zur Samenbildung.
- Der empfindlichere Gametophyt wird im Sporophyten geschützt und von diesem ernährt.
- Der empfindliche Befruchtungsprozess wird in das Innere des Sporophyten verlagert.
- Die Entwicklung wird zunehmend unabhängig von tropfbarem Wasser.
- Insgesamt ergibt sich eine verbesserte Anpassung an das Landleben.

### Frage 2 (Tudzynski)

#### **Evolution und Biodiversität der Pflanzen: Übung**

- A. Skizzieren und erläutern Sie den Schalenaufbau einer pennaten Diatomee.
- B. Beschreiben und skizzieren Sie den Fortbewegungsmodus dieser Algen.

Antwort:

- A. Skizze „Käseschachtel“ mit Bezeichnungen (Epi-/Hypotheka; Epi-/Hypopleura, Raphe; End-/Zentralknoten)
- B. Schleimauscheidung (Glaskettenprinzip, Raphe!)

### Frage 3 (Kurtz)

#### **Evolution und Biodiversität der Tiere: Vorlesung**

Beschreiben Sie die Evolution des Kiefers und der Gehörknöchelchen der Landwirbeltiere, ausgehend von der Situation bei den "Fischen".

## Antwortbeispiel:

Fische besitzen ein primäres Kiefergelenk, welches aus dem 1. Kiemenbogen (Mandibularbogen oder Kieferbogen, besteht aus Quadratum und Articulare) hervorging. Aus dem Hyomandibulare des 2. Kiemenbogens (Hyoidbogen oder Zungenbeinbogen) geht die Columella (Stapes, Steigbügel) als einziges Gehörknöchelchen der Amphibien, "Reptilien" und Vögel hervor. Säugetiere beziehen den Kieferbogen mit ins Gehör ein, und besitzen daher 2 weitere Gehörknöchelchen: Amboss (evolvierte aus Quadratum) und Hammer (evolvierte aus Articulare). Ein sekundäres Kiefergelenk entsteht neu aus Squamosum und Dentale.

## Evolution und Biodiversität der Tiere: Übung

### Frage 4 (Kurtz)

Körperhöhlen sind wichtig zum Verständnis der Evolution und der Baupläne von Tieren. Beantworten Sie folgende Fragen:

- (1) Ist der Gastralraum eine Leibeshöhle im engeren Sinne? (1 Punkt)
- (2) Ist das Blastocoel eine Leibeshöhle? Falls ja: eine primäre oder sekundäre Leibeshöhle? (2 Punkt)
- (3) Ist das Coelom eine Leibeshöhle? Falls ja: eine primäre oder sekundäre Leibeshöhle? (2 Punkt)
- (4) Die unten genannten Tiere wurden in den Übungen behandelt. Benennen Sie bitte zunächst jeweils, zu welchen Gruppen diese Tiere gehören (also z.B. Annelida, etc.). Beschreiben Sie dann die Körperhöhlen-Verhältnisse der genannten Tiere unter folgenden Aspekten: Gibt es eine Körperhöhle, und falls ja, handelt es sich um die primäre oder sekundäre Leibeshöhle? (je 1 Punkt)  
(4.1) Süßwasserpolyp *Hydra spec.* (4.2) Spulwurm *Ascaris suum*, (4.3) Regenwurm *Lumbricus terrestris*, (4.4) Schabe *Periplaneta americana*. (4.5) Maus *Mus musculus*

## Antwortbeispiel:

- (1) Nein; der Gastralraum ist keine Leibeshöhle i.e.S. sondern eigentlich „außen“
- (2) Ja; primäre LH
- (3) Ja; sekundäre LH
- (4) 4.1 Süßwasserpolyp *Hydra spec.* (Cnidaria): Der Raum zwischen Epidermis und Gastrodermis stellt die primäre Leibeshöhle (LH) dar. Der Gastralraum ist keine Leibeshöhle i.e.S. sondern eigentlich „außen“ (2 Punkte).  
4.2 Spulwurm *Ascaris suum* (Nematoda): Die formbestimmende primäre LH ist als flüssigkeitsgefülltes Pseudocoel ausgebildet (2 Punkte).  
4.3 Regenwurm *Lumbricus terrestris* (Annelida): Besitzen eine sekundäre LH (Coelom). Reste der prim. LH finden sich als Lumen der Blutgefäße. Coelothelien (als Mesenterien und Dissepimente) sind die Begrenzungen der segmental angeordneten Coelomräume (2 Punkte).  
4.4 Schabe *Periplaneta americana* (Arthropoda): Besitzen ein sog. Mixocoel

(Haemocoel), d.h. primäre und sek. LH sind zusammengeschlossen und das Blutgefäßsystem ist somit ein offenes (2 Punkte).

4.5 Maus *Mus musculus* (Mammalia): Die sek. LH ist weitestgehend mit Organen ausgefüllt, die von Coelothelien in Position gehalten werden (2 Punkte).

### Frage 5 (Fetzner)

#### **Mikrobiologie I: Vorlesung**

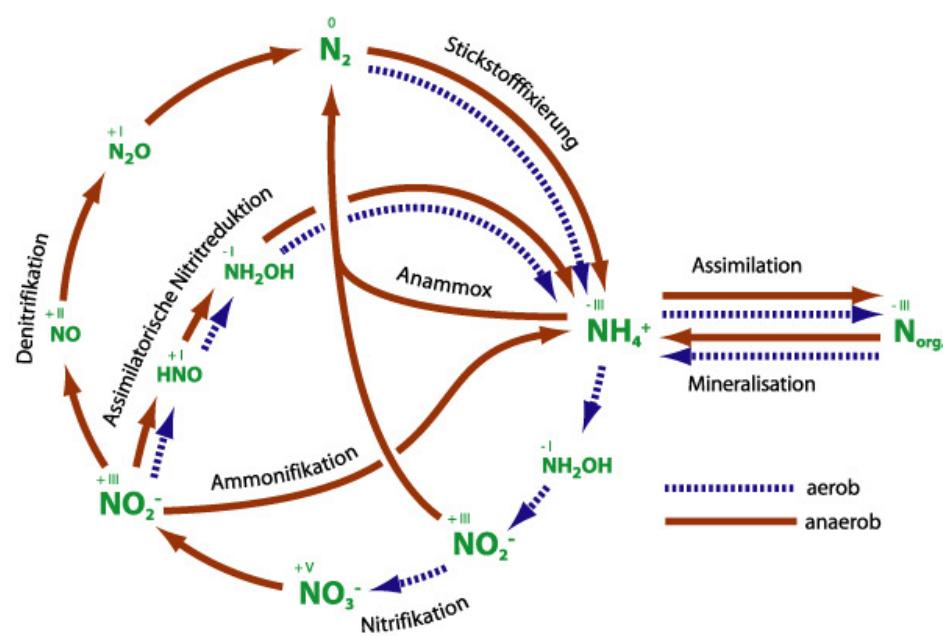
Zeichnen Sie das Schema des biologischen Stickstoff-Kreislaufs unter Einbeziehung sowohl dissimilatorischer als auch assimilatorischer Reaktionen.

Geben Sie dabei die relevanten anorganischen Verbindungen als Summenformel an und bezeichnen Sie die relevanten Prozesse durch Beschriftung der Reaktionspfeile.

Geben Sie an, welche anorganische Verbindung direkt zum Einbau von Stickstoff in organische Akzeptormoleküle dient.

Welche Reaktionen finden aerob statt, welche anaerob, welche Reaktionen finden sich sowohl bei aeroben als auch bei anaeroben Mikroorganismen?

**Antwort:**



## Bewertung:

Je 1 P für die richtigen Summenformeln und Bezeichnungen zu:

- Stickstofffixierung
- Nitrifikation
- Denitrifikation
- Assimilatorische Nitrat- und Nitrit-Reduktion
- Ammonifikation
- Anaerobe Ammonium-Oxidation (Anammox)
- Assimilation von Ammonium in organ. N.

je 0,5 P für Zuordnung:

- Nitrifikation aerob
- Denitrifikation anaerob
- Ammonifikation anaerob
- Anammox anaerob
- Stickstofffixierung aerob und anaerob
- auch alle anderen assimilatorischen Prozesse aerob und anaerob

## Frage 6 (Oppermann)

### Mikrobiologie I: Übung

Im Praktikum erfolgte eine Anreicherung von Mikroorganismen, in dem das in Tabelle 1 angegebene Nährmedium verwendet wurde. Die Kultur wurde **im Dunkeln oxisch** bebrütet.

**Tabelle 1 Nährmedium**

Mannit	10	g
<chem>KH2PO4</chem>	1	g
<chem>MgSO4 * 7 H2O</chem>	0,5	g
NaCl	0,5	g
<chem>CaCl2 * 2 H2O</chem>	0,05	g
Spurenelementelösung	1	mL
<chem>H2O</chem>	1,0	L

**A)** Welche Mikroorganismen wurden angereichert (bitte ankreuzen, nur *ein Kreuz*)?

- Acetobacter* sp.       *Anaerobacter* sp.       *Azotobacter* sp.       *Nitrobacter* sp.  
 *Nitrosomonas* sp.       *Escherichia coli*       *Paracoccus denitrificans*       Hefe

**B)** Nennen Sie die Verbindungen des Mediums, die als Quellen dienen für Kohlenstoff und Schwefel der Biomasse!

Kohlenstoffquelle	Schwefelquelle

**C)** Welche Reaktion des Stickstoffkreislaufs wird von den Mikroorganismen durchgeführt?

**D)** Wie ist das Verhältnis der Mikroorganismen zum Luftsauerstoff (bitte *ankreuzen*)?

- aerob       anaerob       fakultativ anaerob       aerotolerant

**E)** Welche Ernährungsweise zeigten die Mikroorganismen in der Anreicherungskultur (bitte *unzutreffendes streichen*)?

Chemo	Photo	organo	litho	hetero	auto	-trophe
-------	-------	--------	-------	--------	------	---------

F) Wie viel Energie können die Organismen nach Tabelle 2 pro mol Elektronendonator bei ihrer Atmung nutzen (bei der Rechnung darf gerundet werden)? (Faraday-Konstante, gerundet = 100 kJ/V)

Tabelle 2 zu Frage F und G	
Redoxpaar (red./ox.)	Redoxpotentiale [ $E_0'$ (V)]
CO/CO <sub>2</sub>	-0,54
H <sub>2</sub> /H <sup>+</sup>	-0,41
NADH/NAD <sup>+</sup>	-0,32
H <sub>2</sub> S/S	-0,25
FADH <sub>2</sub> /FAD	-0,08
Succinat/Fumarat	-0,03
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	+0,40
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	+0,50
H <sub>2</sub> O/O <sub>2</sub>	+0,82

Ergebnis zu Frage F:   kJ

G) Entnehmen Sie der Tabelle 2 den Elektronendonator und den Elektronenakzeptor der Atmungskette, die in den Mikroorganismen stattfindet. Vom jeweiligen Redoxpaar nur eine Verbindung angeben!

Elektronendonator: Elektronenakzeptor:

### mit Antwortbeispielen:

Im Praktikum erfolgte eine Anreicherung von Mikroorganismen, in dem das in Tabelle 1 angegebene Nährmedium verwendet wurde. Die Kultur wurde **im Dunkeln oxisch** bebrütet.

Tabelle 1 Nährmedium

Mannit	10	g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1	g
MgSO <sub>4</sub> × 7 H <sub>2</sub> O	0,5	g
NaCl	0,5	g
CaCl <sub>2</sub> × 2 H <sub>2</sub> O	0,05	g
Spurenelementelösung	1	mL
H <sub>2</sub> O	1,0	L

A) Welche Mikroorganismen wurden angereichert (bitte ankreuzen, nur ein Kreuz)?

- Acetobacter* sp.     *Anaerobacter* sp.     *Azotobacter* sp.     *Nitrobacter* sp.  
 *Nitrosomonas* sp.     *Escherichia coli*     *Paracoccus denitrificans*     Hefe

B) Nennen Sie die Verbindungen des Mediums, die als Quellen dienen für Kohlenstoff und Schwefel der Biomasse!

Kohlenstoffquelle Mannit Schwefelquelle MgSO<sub>4</sub>

C) Welche Reaktion des Stickstoffkreislaufs wird von den Mikroorganismen durchgeführt?

Stickstofffixierung

D) Wie ist das Verhältnis der Mikroorganismen zum Luftsauerstoff (bitte ankreuzen)?

- aerob     anaerob     fakultativ anaerob     aerotolerant

E) Welche Ernährungsweise zeigten die Mikroorganismen in der Anreicherungskultur (bitte *unzutreffendes streichen*)?

Chemo Photo organo litho hetero auto -trophe

F) Wie viel Energie können die Organismen nach Tabelle 2 pro mol Elektronendonator bei ihrer Atmung nutzen (bei der Rechnung darf gerundet werden)? (Faraday-Konstante, gerundet = 100 kJ/V)

Tabelle 2 zu Frage F und G	
Redoxpaar (red./ox.)	Redoxpotentiale [ $E'_0$ (V)]
CO/CO <sub>2</sub>	-0,54
H <sub>2</sub> /H <sup>+</sup>	-0,41
NADH/NAD <sup>+</sup>	-0,32
H <sub>2</sub> S/S	-0,25
FADH <sub>2</sub> /FAD	-0,08
Succinat/Fumarat	-0,03
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	+0,40
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	+0,50
H <sub>2</sub> O/O <sub>2</sub>	+0,82

Ergebnis zu Frage F:

230 kJ

G) Entnehmen Sie der Tabelle 2 den Elektronendonator und den Elektronenakzeptor der Atmungskette, die in den Mikroorganismen stattfindet. Vom jeweiligen Redoxpaar nur eine Verbindung angeben!

Elektronendonator:	NADH	Elektronenakzeptor:	O <sub>2</sub>
--------------------	------	---------------------	----------------

### Frage 7 (Sachser):

#### Verhaltensbiologie: Vorlesung

Erläutern Sie den Begriff der Domestikation und beschreiben Sie die Auswirkungen auf Stresshormone und Verhalten.

#### Lösungsvorschlag:

Charakteristisch für die Domestikation oder Haustierwerdung ist das Züchten von Tieren in Menschenobhut. Damit kommt es zum Ersatz der natürlichen Selektion durch eine künstliche Zuchtwahl (artifizielle Selektion), die unter Umständen in eine völlig andere Richtung zielen kann. Tierarten, die diesem veränderten Selektionsdruck ausgesetzt sind, unterscheiden sich in der Regel durch eine Reihe von Merkmalen von ihrer wild-lebenden Stammform (Domestikationsmerkmal) und werden als domestiziert bezeichnet (zum Beispiel alle Haustiere).

Typische Domestikationsmerkmale sind eine verstärkte Variabilität bzgl. Körpergröße, Körpergestalt und Färbung. Häufig kommt es zu einer Abnahme des Hirngewichtes, was aber nicht mit Defiziten in den kognitiven Leistungen einhergehen muss. Im Verhalten werden in der Regel eine verminderte Aggressivität, eine Zunahme des Werbe- und Sexualverhaltens (Hypersexualisierung), eine verstärkte Vokalisation und eine verminderte Aufmerksamkeit gegenüber Außenreizen gefunden. Mit ihren hormonellen Stressreaktionen - beispielsweise der Ausschüttung von Adrenalin und Noradrenalin - reagieren Wildtiere wesentlich stärker auf Umweltreize als ihre domestizierten Artgenossen.

Die domestikationsbedingten Veränderungen in Physiologie und Verhalten können keinesfalls als degenerierte Merkmale angesehen werden; vielmehr erleichtern sie es den Haustieren, sich an die vom Menschen geschaffenen Haltungsbedingungen anzupassen.

### Frage 8 (Kurtz)

#### Evolutions- und Populationsgenetik: Vorlesung

Gehen Sie aus von einer großen Population diploider Organismen und einem Genort mit den Allelen a und A. Nehmen Sie an, ein vorteilhaftes Allel a sei zunächst selten und besitze eine Anfangshäufigkeit von 1 %.

- (1) Nehmen Sie zunächst an, die Population sei im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (also, vernachlässigen Sie zunächst die Selektion) und berechnen Sie demzufolge die Häufigkeiten der möglichen Genotypen. (3 Punkte)
- (2) Unter dem Einfluss von Selektion wird die Frequenz des vorteilhaften Allels a in der Population über die folgenden Generationen zunehmen. Steigt die Frequenz des Allels a anfangs rascher an, wenn es rezessiv, oder wenn es dominant ist? Begründung? (2 P.)
- (3) Was passiert im weiteren Verlauf unter dem Einfluss der Selektion: Wird das Allel a schließlich rascher fixiert, wenn es rezessiv, oder wenn es dominant ist? Begründung? (2 P.)
- (4) Nehmen Sie nun an, die Population sei klein. Was spielt dann eine Rolle? Was kann jetzt am Anfang, und später, geschehen (mit Begründungen)? (3 P.)

**Antwortbeispiel:**

- (1) aa:  $p^2 = 0.01^2 = 0.0001$   
 $aA: 2pq = 2 \cdot 0.01 \cdot 0.99 = 0.0198$   
 $AA = 0.99^2 = 0.9801$  (oder:  $1 - 0.0001 - 0.0198 = 0.9801$ )  
(3 Punkte)
- (2) Es steigt zunächst rascher an, wenn es dominant ist (1 Punkt), da dann auch die anfangs sehr viel häufigeren heterozygoten Träger einen Selektionsvorteil besitzen (1 Punkt).
- (3) Es wird rascher fixiert, wenn es rezessiv ist (1 Punkt). Begründung: Wenn das Allel a häufig wird, ist das nachteilige Allel A selten. Es liegt dann v.a. in heterozygoten Trägern vor. Auf diese wirkt die Selektion nur dann, wenn a rezessiv ist (1 Punkt).
- (4) In einer kleinen Population spielt neben der Selektion auch Gendrift eine Rolle (1 Punkt). Die Folge ist, dass das Allel a (obwohl vorteilhaft) in den meisten Fällen verloren geht, noch bevor es an Häufigkeit zunehmen kann (1 Punkt). Wenn es aber häufig geworden ist, so wird es schneller fixiert, da das nun seltene Allel A eher durch Gendrift verschwindet (1 P.).

### Frage 9 (Meyer)

#### **Grundzüge der Ökologie: Vorlesung**

#### **Frage zu Bereich Verhaltensökologie (Kurtz): (max. 5 Punkte)**

Evolution begünstigt alles, was die Gene eines Individuums in die nächste Generation bringt. Dennoch beobachtet man im Tierreich oft kooperatives Verhalten (Altruismus).

- (1) Nennen Sie zwei mögliche Erklärungen dafür.
- (2) Was besagt in diesem Zusammenhang "Hamilton's Regel"? Geben Sie die Formel an, erklären Sie die Grundaussage und die Variablen in der Formel.

## Fragen zum Bereich Ökologie der Pflanzen (Müller)

(max. 5 Punkte; jede richtigerweise NICHT angekreuzte oder richtigerweise angekreuzte Frage = 0.5 Punkte)

Richtige Aussagen bitte ankreuzen:

- Hartlaubvegetation ist ein typisches Element der laubabwerfenden Wälder
- Die Capensis zählt zu den endemitenreichsten Florenreichen
- Eucalyptus und Phyllodien-Akazien charakterisieren die Capensis
- Die Dauer der Vegetationsperiode ist kein entscheidender Faktor für die Zusammensetzung alpiner Vegetation
- In alpiner Vegetation temperater Breiten spielen die Cyperaceae kaum eine Rolle
- Zwergstrauchheiden sind ein prägendes Element alpiner Vegetation
- Die Neotropis zählt zu den Florenreichen mit der größten Biodiversität
- Die größten Bäume der Erde sind Arten der Gattung Nothofagus und kommen oberhalb von 1500 m.s.m. als auffälliges Element kalifornischer Bergwälder vor
- Geophyten und Winterannuelle sind charakteristisch für die Mediterraneis
- Die Bestandsstruktur feucht-tropischer Tieflandwälder unterscheidet sich von laubabwerfenden Wäldern der humiden mittleren Breiten zB durch oft reichhaltigen Epiphytenbewuchs

### Musterlösung:

#### (1) (2 Punkte)

1. Möglichkeit: Verwandtenselektion (“kin selection”): Kooperierende Individuen haben gemeinsame Gene aufgrund ihrer Abstammung, so dass ein Gen für Helperverhalten in der Population erhalten bleiben kann.
2. Möglichkeit: Reziprozität: Helfern wird im Gegenzug geholfen (kann direkt oder indirekt sein).

#### (2) (3 Punkte)

Hamilton's Regel beschreibt die Bedingung, unter der man aufgrund von Verwandtschaft Helperverhalten erwarten kann:

$$r \times b > c$$

r = Verwandtschaftskoeffizient

b = Nutzen

c = Kosten

### Antworten zu Bereich Ökologie und Biodiversität der Pflanzen:

- Hartlaubvegetation ist ein typisches Element der laubabwerfenden Wälder
- Die Capensis zählt zu den endemitenreichsten Florenreichen
- Eucalyptus und Phyllodien-Akazien charakterisieren die Capensis
- Die Dauer der Vegetationsperiode ist kein entscheidender Faktor für die Zusammensetzung alpiner Vegetation
- In alpiner Vegetation temperater Breiten spielen die Cyperaceae kaum eine Rolle
- Zwergstrauchheiden sind ein prägendes Element alpiner Vegetation
- Die Neotropis zählt zu den Florenreichen mit der größten Biodiversität

- O Die größten Bäume der Erde sind Arten der Gattung *Nothofagus* und kommen oberhalb von 1500 m.s.m. als auffälliges Element kalifornischer Bergwälder vor
- x Geophyten und Winterannuelle sind charakteristisch für die Mediterraneis
- x Die Bestandsstruktur feucht-tropischer Tieflandwälder unterscheidet sich von laubabwerfenden Wäldern der humiden mittleren Breiten zB durch oft reichhaltigen Epiphytenbewuchs

### **Frage 10 (Kudla)**

#### **Bioinformatik: Vorlesung und Übung**

Sie wollen mit Hilfe des Yeast-two-hybrid Systems untersuchen, ob der Rezeptor RCAR3 mit einer Familie von Kalzium-abhängigen Proteinkinasen interagiert. Dazu sollen sie die vollständige kodierende Region des prozessierten Transkripts des Gens RCAR3 aus *Arabidopsis thaliana* als PCR Produkt unter Nutzung der Enzyme BamHI und Sall in den Yeast-two-hybrid Vektor pGAD.GH klonieren. Danach sollen Sie den Erfolg der Klonierung durch Restriktionsverdau überprüfen. Das gesuchte DNA-Fragment ist 600 bp groß, ihr Vektor hat eine Größe von 8000 bp. Als Ausgangsmaterial besitzen sie einige Pflänzchen von *Arabidopsis thaliana* und ausreichend gereinigte Vektor-DNA. Alle benötigten Chemikalien und Enzyme sind im Labor vorhanden.

- a) Was müssen Sie als erstes isolieren? (nur die Methode nennen)
- b) Was müssen Sie mit der isolierten Substanz machen? (Methode und verwendetes Enzym nennen)
- c) Mittels PCR amplifizieren Sie nun das gewünschte Gen. Welche Eigenschaft muss die verwendete Polymerase haben, damit ein korrektes PCR Produkt entsteht?
- d) Nach der PCR verdauen Sie das PCR Produkt und den Zielvektor mit den beiden Restriktionsenzymen. Wodurch wird gewährleistet, dass die Enzyme nur an den vorgesehenen Stellen schneiden?
- e) Welche drei Elemente muss der Vektor auf jeden Fall haben, damit Sie ihn für die Klonierungen verwenden können?
- f) Nachdem Sie mit Ihrem Fragment eine Ligation in den Vektor, die Transformation in *E. coli* und die Plasmidisolation aus *E. coli* durchgeführt haben, müssen Sie überprüfen, ob das Fragment tatsächlich im Vektor ist und die passende Größe hat. Welche zwei Methoden verwenden Sie?
- g) Für die Yeast-two-hybrid Analyse haben Sie ihr Fragment jetzt also erfolgreich in den Vektor mit der Aktivierungsdomäne des GAL4 Promotors (pGAD.GH) kloniert. Mit welchem Teil des GAL4 Promotors müssen die zu testenden Proteinkinasen fusioniert sein, damit Ihr Yeast-two-hybrid Experiment funktioniert?

**Antworten:**

- a) RNA 1P
- b) cDNA Synthese 1P, reverse Transkriptase 1P
- c) „proof reading“ oder 3'Exonukleaseaktivität 1P
- d) durch spezifische Erkennungssequenzen der Enzyme 1P
- e) origin of replication 1P, Antibiotikaresistenz 1P, multiple cloning site (Polylinker) 1P
- f) Restriktionsverdau 0,5P und Gelelektrophorese 0,5P
- g) DNA-Bindedomäne des GAL4-Promotors (GAL4-BD) 1P