1. **Fertigen Sie die Skizze einer Plasmamembran an und nennen Sie die einzelnen Bausteine.**

Cholesterin, Ganglioside, Phospholipide, periphere und integrale Proteine, Ganglioside in korrekter Zeichnung (je Baustein 1 Punkt)

2. **Eine Leberzelle (Hepatozyt) besitzt ca. 1000 Mitochondrien. Bei einem Neugeborenem wird nachgewiesen, daß genetisch bedingt in den Hepatozyten nur 300 Mitochondrien zu identifizieren sind. Legen Sie möglichst detailliert dar, welche möglichen Folgen zu erwarten sind.**

Beeinträchtigung von ATP-Synthese, Na/K-ATPase, Harnstoff (je 1 Punkt), Citratcyklus, Fettsäureabbau, Ketonkörper, Gluconeogenese (je 0,5 Punkte)

3. Welche Aussagen zum Golgi-Apparat sind richtig?

(1) Er ist aus einzelnen Zisternen aufgebaut

(2) Er ist wesentlich an dem "Übersetzen" der mRNA in entsprechende Aminosäuresequenz beteiligt

(3) Er hat eine wichtige Funktion bei der Biosynthese von Glykoproteinen

(4) In Golgi-Vesikeln kann circuläre DNA nachgewiesen werden

(5) Golgi-Vesikel können mit der Plasmamembran fusionieren

Richtig ist nur: (A) 2, 4 (B) 1, 5 (C) 2, 4, 5 (D) 1, 3, 5 (E) 1, 2, 3, 4, 5

4. Zeichnen Sie die Strukturformel des ATP und benennen Sie die einzelnen Bausteine.

Benennug der drei Komponenten, je Baustein 1 Punkt
Korrekte Formel 2 Punkte

5. Welche Zuordnung ist <u>falsch</u> ?

(A) Kern (Nukleus) ..... RNA-Synthese
(B) Mitochondrium ..... besitzt DNA
(C) Endoplasmatisches Retikulum ..... Entgiftungsreaktionen
(D) Lysosomen ..... hydrolytischer Abbau

Alles richtig!
Frage ging nicht in die Wertung ein, da eine Antwort (die falsche!) fehlt.

6. Aus welchen Hauptbestandteilen besteht das Zytoskelett und welche Aufgaben haben die Bestandteile?

A. Mikrotubuli (∅ 25 nm) aus alpha- und beta-Tubulin, zur Bewegung von Organellen (1 Punkt)
B. Actinfilamente (∅ 7 nm) aus beta- und gamma-Actin zur Zellmotilität (1 Punkt)
C. Intermediärfilamente: (je 0,5 Punkte)
Vimentinfilamente aus Vimentin zur Stabilität von Endothel, Fettgewebe, Mesenchym
Neurofilamente aus saurem fibrillären Gliaprotein zur Stabilität von Axonen und Gliazellen
Keratinfilamente aus saurem, neutralem und basischem Cytokeratin zur Stabilität von Epithelien
Kernlamina aus Lamine zur Stabilität desZellkerns
Desminfilamente Desmin zur Stabilität von Muskelzellen

Mit Zeichnung: 0,5 Punkte

7. Skizzieren und beschreiben Sie eine Synapse

Für eine solche Zeichnung: 4 Pnnkte
1 Punkt gibt es für den Satz: An der Synapse werden elektrische Signale mittels Neurotransmitter von Zelle zu Zelle übertragen.

8. Beschreiben sie stichpunktartig den Prozeß der Replikation in eukaryoten Zellen; nennen sie dabei die einzelnen Schritte, die auf beiden DNA-Strängen ablaufen, die wichtigsten an diesem Prozeß beteigten Enzyme und geben sie Lese- und Syntheserichtung an.

- Aufsuchen des Replikationsstarts (Origin), lokale Entwindung der DNA, Synthese von tRNA-Primern am jeweiligen 5´ Ende, Synthese des Komplementärstranges (Leading strand: kontinuierlich, lagging-strand: als Okazaki-Fragmente), Proofreading und Entfernung der Primer, Verbindung der Einzel-DNA-Fragmente (3 Punkte)

- Einzelstrangbindungsproteine (verhindern erneute Zusammenlagerung der Einzelstränge), Helikasen und Topoisomerasen, DNA Polymerase III, Ligasen, DNA-Polymerase I (1 Punkt)

- Ablesen: 3´-5´, Synthese: 5´-3´ (1 Punkt)

9. Beschreiben sie stichpunktartig den Prozeß der Trankription; nennen sie dabei die einzelnen Schritte und die beteiligten Enzyme, verschiedene funktionelle Abschnitte eines Gens und mögliche RNA-Endprodukte.

- Initiation, Elongation und Termination: Bindung von RNA-Polymerasen I, II oder III und Transkriptionsfaktoren an die Promotor-Region, Trennung des DNA-Doppelstranges, Basenpaarung von Nukelosid-Triphosphaten am komplementären Strang, Verknüpfung der NTPs, Verlängerung der von 5' nach 3' wachsenden Kette, Abspaltung der hnRNA, Beenden der Kettenverlängerung, Dissoziation der Polymerase von der DNA (3Punkte)
- Funktionelle Abschnitte eines Gens: 5'-nicht kodierende Region mit Promotor und Transkriptionsstart, kodierende Sequenz mit Exons und Introns, 3' nicht kodierende Region mit Polyadenylierungs-Konsensussequenz und Terminationssequenz (1 Punkt)
- Endprodukte: rRNA, tRNA, snRNA, hnRNA -> mRNA (1 Punkt)

10. Sie möchten drei zelluläre Strukturen mit Hilfe einer Zentrifugation trennen. Aufgrund theoretischer Überlegungen sind Ihnen folgende Eigenschaften bekannt (ρ = Dichte [g/ml], ∅ = Durchmesser [µm]):

Struktur X	**ρ = 1.1**	**∅ = 3–12**
Struktur Y	**ρ = 1.3**	**∅ = 5–15**
Struktur Z	**ρ = 1.6**	**∅ = 3–20**

a) Welche Zentrifugationstechnik wenden Sie an?

Isopyknische Zentrifugation (Dichtegradienten-) (1 Punkt)

b) Erläutern Sie das Trennprinzip der in a) erfragten Zentrifugationsmethode unter Zuhilfenahme der Svedberg-Gleichung $v = \frac{d^2(\rho_p - \rho_m)g}{18\eta}$ (d = Partikeldurchmesser, ρ = Dichte, η = Viskosität)!

Die Zentrifugation erfolgt über einen Dichtegradienten. (0.5 Punkte) Die Differenz $\rho_p - \rho_m$ (Dichte des Teilchens minus Dichte des Mediums) bestimmt ob die Sedimentationsgeschwindigkeit v positiv oder negativ ist, also ob die Partikel sedimentieren oder aufsteigen. (0.5 Punkte) Erreicht ein Teilchen die Dichte des Mediums, die seiner eigenen Dichte entspricht, wird die Differenz und damit auch die Sedimentationsgeschwindigkeit null. (0.5 Punkte) Auf diese Weise verharrt jedes Teilchen nach der Gleichgewichtseinstellung am Ort seiner Dichte und wird so von Teilchen anderer Dichte getrennt. (0.5 Punkte)

c) Nach dem Ernten der einzelnen Fraktionen führen Sie eine Proteinbestimmung mit Hilfe einer Farbreaktion durch, bei der die Reduktion von Cu^{2+}-Ionen eine Rolle spielt. Nennen sie **zwei** Färbemethoden, für die diese Beschreibung zutrifft!

Biuret, Lowry, Bicinchoninsäure (=BCA) (je 0.5 Punkte, max. 1 Punkt; wenn falsche dabei max. 0.5 Punkte)

d) Nach weiteren Reinigungsschritten haben Sie eine verdünnte Lösung mit nur noch wenigen Proteinen vorliegen. Nennen Sie **zwei** Methoden, um die Proteine aufzukonzentrieren!

Fällung, Ultrafiltration, Dialyse , Lyophilisierung (je 0.5 Punkte, max. 1 Punkt; wenn falsche dabei max. 0.5 Punkte)

11. Sie möchten drei Proteine mit Hilfe chromatographischer Verfahren trennen. Aufgrund theoretischer Überlegungen sind Ihnen folgende Eigenschaften bekannt (pI = isoelektrischer Punkt):

Protein X	**pI = 5.5**	**hydrophil**	**71 kDa**
Protein Y	**pI = 5.5**	**hydrophob**	**70 kDa**
Protein Z	**pI = 7.0**	**hydrophil**	**69 kDa**

e) Welche beiden chromatographischen Methoden der Säulen-Flüssigkeitschromatographie wenden Sie an, wenn Protein Y bei beiden Methoden an die Säule binden soll?

Anionenaustauscher und HIC (2 x 0.5 Punkte)

f) Mit welcher der beiden Methoden beginnen Sie und warum?

Anionenaustauscher weil Elution mit Hochsalz direkt für HIC-Auftrag verwendet werden kann (im umgekehrten Fall wäre zusätzlich Dialyse notwendig) (1 Punkt)

g) Für welche der beiden Methoden ist ein bestimmter pH-Wert ausschlaggebend für eine erfolgreiche Trennung? Welcher pH-Wert muß gewählt werden?

Anionenaustauscher; pH 6.5 (0.5 + 1 Punkt)

h) Die molekularen Massen der drei Proteine sind zu gering, um sie mit der form- und größenabhängigen Methode der Gelfiltration zu trennen. Erläutern Sie das Trennprinzip der Gelfiltration!

Kügelchen mit einem porenartigen molekularen Netzwerk, in das kleinere Proteine hineindiffundieren können, größere nicht. (0.5 Punkte) Daher ist für Proteine je kleiner sie sind, das nutzbare Diffusionsvolumen um so größer. (0.5 Punkte) Je größer das Molekül, um so eher kommt es aus der Säule. (0.5 Punkte)

12. Sie möchten drei Proteine mit Hilfe elektrophoretischer Verfahren trennen. Aufgrund theoretischer Überlegungen sind Ihnen folgende Eigenschaften bekannt (pI = isoelektrischer Punkt):

Protein X	**pI = 5.5**	**Homodimer**	**70 kDa**	**(Masse des Dimers)**
Protein Y	**pI = 6.0**	**Monomer**	**100 kDa**	
Protein Z	**pI = 7.0**	**Monomer**	**35 kDa**	

Das Homodimer ist über Disulfidbrücken miteinander verknüpft.

a) Sie möchten die Proteine unter <u>reduktiven</u> Bedingungen mit Hilfe **<u>einer</u>** eindimensionalen Elektrophorese trennen. Welches Verfahren wenden Sie an?

Isoelektrische Fokussierung (0.5 Punkte)

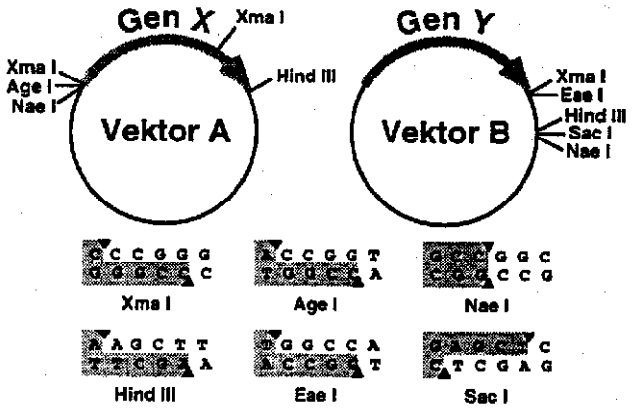
b) Erläutern Sie das Trennprinzip der unter a) anzuwendenden Methode!

Aufbau eines pH-Gradienten im Gel (1 Punkt). Wanderung der Proteine aufgrund ihrer Ladung bis zum Ort, an dem ihr isoelektrischer Punkt dem herrschenden pH-Wert entspricht (1 Punkt). Dort Neutralisierung aller Ladungen und somit Verharren des Proteins (Endpunktmethode) (1 Punkte).

c) Von welchen Eigenschaften des Proteins ist die elektrophoretische Mobilität der Proteine bei der SDS-freien Zonenelektrophorese abhängig?

Ladung (*oder* isoelektr. Pkt.), Größe, Form (*oder* Struktur *statt* Größe und Form) (3 x 0.5 Punkte, für falsche –0.5 Punkte)

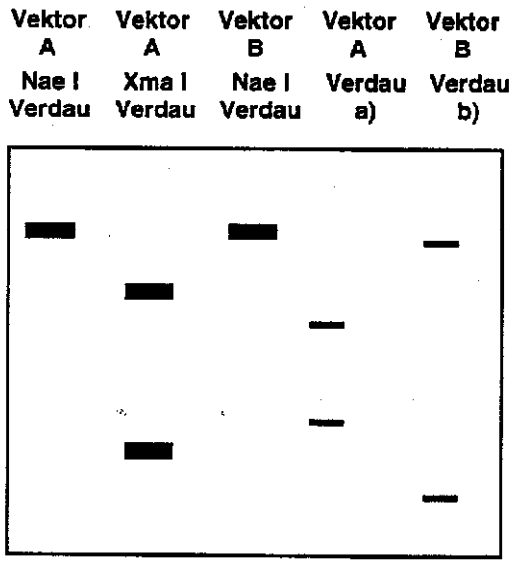
13. Sie möchten ein Fusionsgen herstellen. Dazu soll zunächst das vollständige Gen X aus dem Vektor A mit Restriktionsenzymen herausgeschnitten und der Vektor B hinter dem Gen Y geöffnet werden. Anschließend sollen die Fragmente elektrophoretisch aufgetrennt und aus dem Gel eluiert werden. Schließlich sollen das Gen X und der geöffnete Vektor B mit gleicher Orientierung der Gene ligiert werden. Alle angegebenen Restriktionsenzyme befinden sich *in frame*.



a) Mit welchem / welchen Restriktionsenzym(en) schneiden Sie das Gen X aus dem Vektor A heraus?
Age I und Hind III (2 x 0.5 Punkte, max. 0.5 Pkt. wenn falsche dabei)

b) Mit welchem / welchen Restriktionsenzym(en) öffnen Sie den Vektor B?
Xma I und Hind III (2 x 0.5 Punkte, max. 0.5 Pkt. wenn falsche dabei))

c) Für die elektrophoretische Trennung verwenden Sie ein Agarosegel. Neben den unter a) und b) verdauten Vektoren tragen Sie als Kontrolle auch Nae I-linearisierte Vektoren und einen mit Xma I verdauten Vektor A auf. Skizzieren Sie das von Ihnen erwartete Ergebnis im Agarosegel! Die Kontrollen sind bereits eingezeichnet.



(4 x 0.5 Punkte)

d) Nennen Sie einen Farbstoff, mit dem man die DNA im Agarosegel sichtbar machen kann!
Ethidiumbromid (*oder* YOYO *oder* TOTO) (1 Punkt)