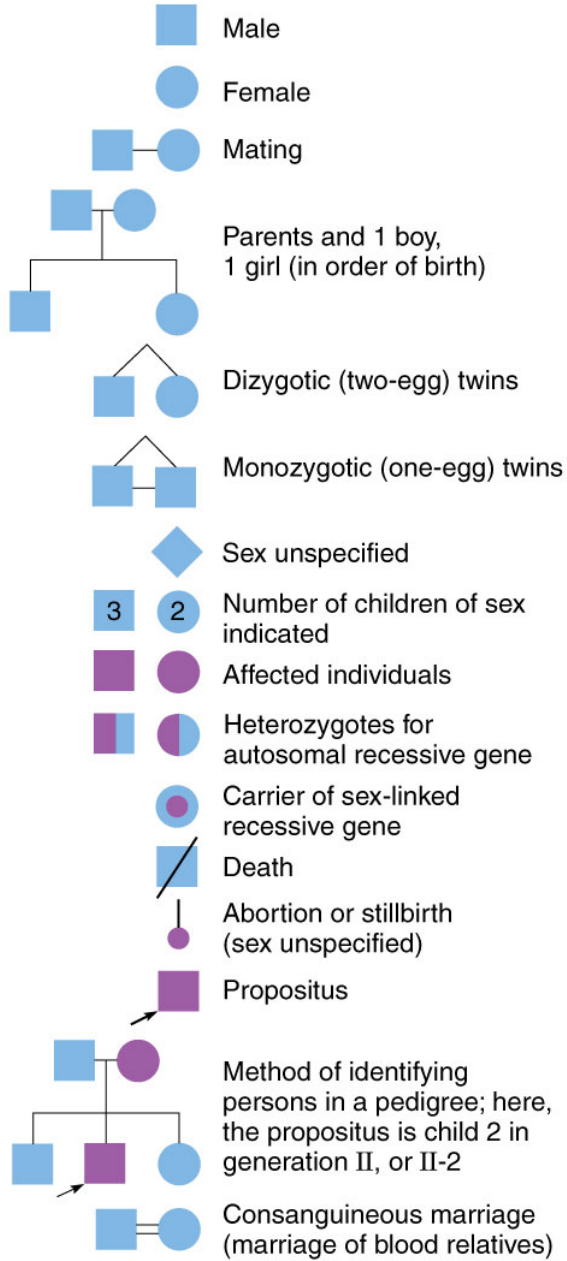


Mendelische Erbgänge in der Humangenetik: verwendete Symbole



Dominant-Rezessiv: die Ursachen

Albinismus: ein typischer rezessiver Erbgang

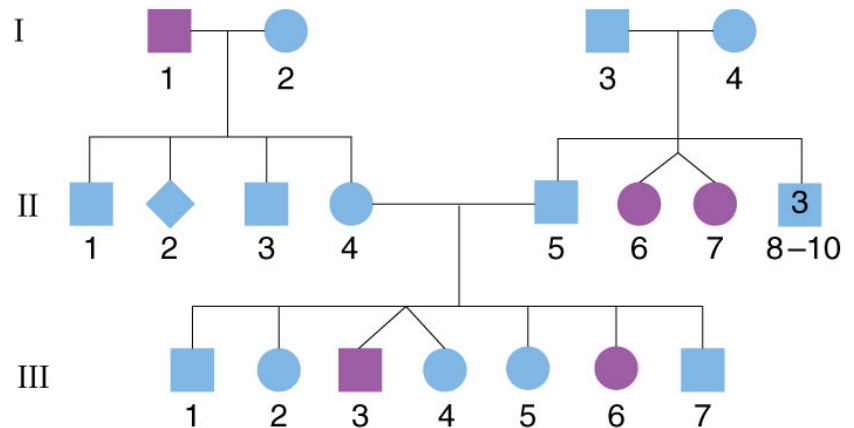
a) Individuals with albinism:
musicians Johnny (left) and Edgar Winter (right)



Loss of function: Verliert ein Genprodukt aufgrund einer Mutation seine Funktion, so ist es sehr wahrscheinlich, dass sich die Mutation gegenüber der noch vorhandenen, intakten zweiten Genkopie nicht auswirkt. Die Mutation ist also **rezessiv**.

b) Pedigree for the autosomal recessive trait of albinism

Generation:



Achondroplasia: Eine dominante Mutation im FGFR3 (fibroblast growth factor receptor 3). Eine derartige dominante Mutation wird auch als **gain of function** bezeichnet (wenn eine neue Genfunktion entsteht).

Hier verliert das Genprodukt aufgrund einer Mutation seine Funktion nicht, sondern wird konstitutiv aktiv (angeschaltet).

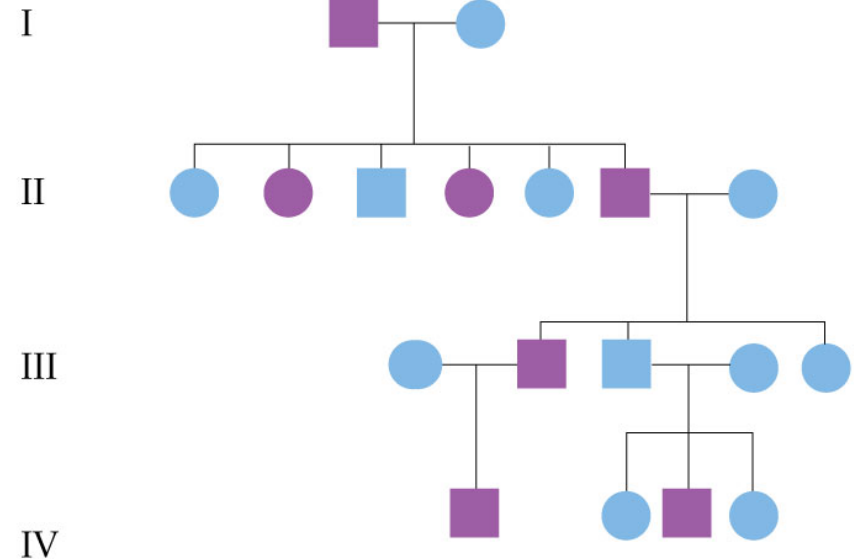
a) Individual with achondroplasia



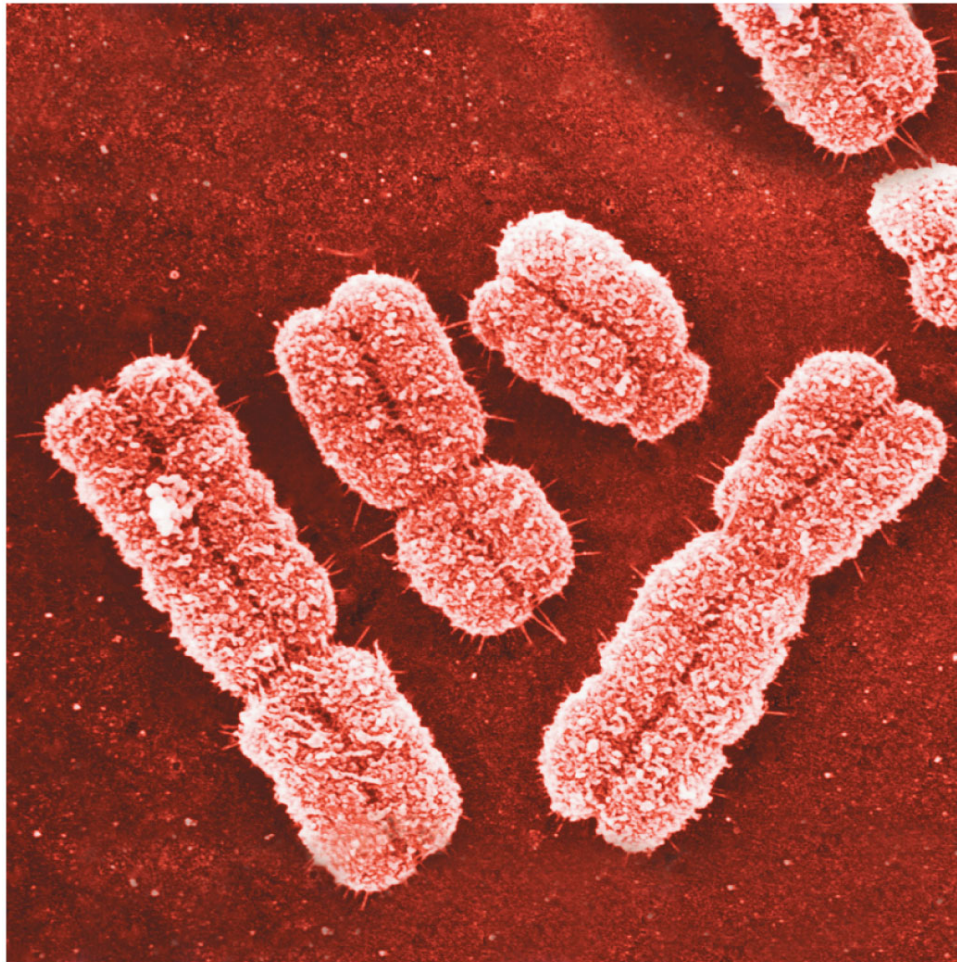
© 2010 Pearson Education, Inc.

b) Pedigree for the autosomal dominant trait of achondroplasia

Generation:



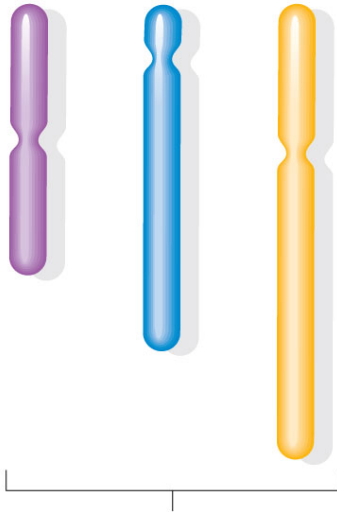
Chromosomale Grundlage der Vererbung



Die meisten tierischen Organismen sind Diploid (besitzen zwei Chromosomensätze, je einen von jedem Elternteil). Keimzellen (Ei- und Samenzellen) sind haploid. Niedere Organismen können oft als Haploide oder Diploide Organismen leben.

Haploid (N)

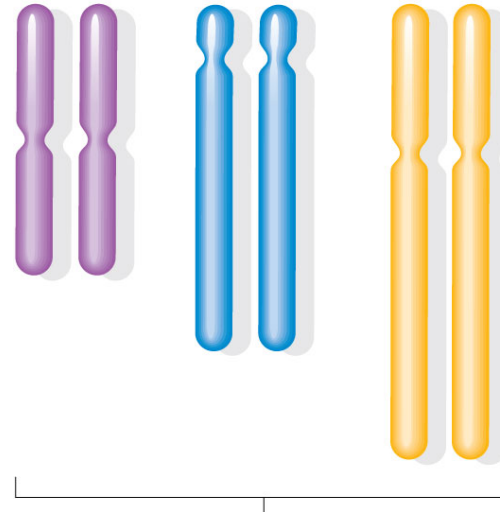
One copy of a genome distributed among chromosomes



Three nonhomologous chromosomes

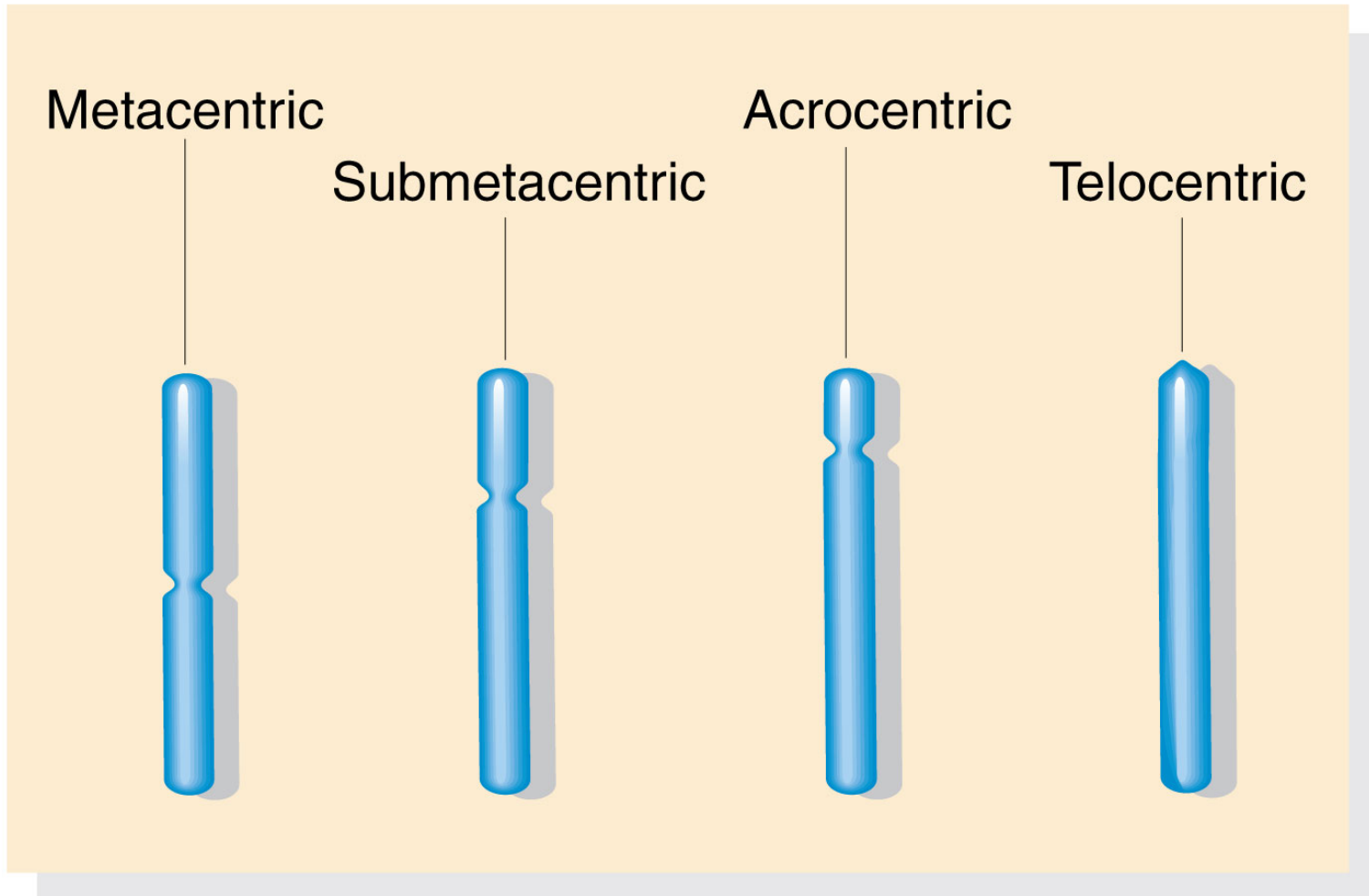
Diploid (2N)

Two copies of a genome distributed among chromosomes



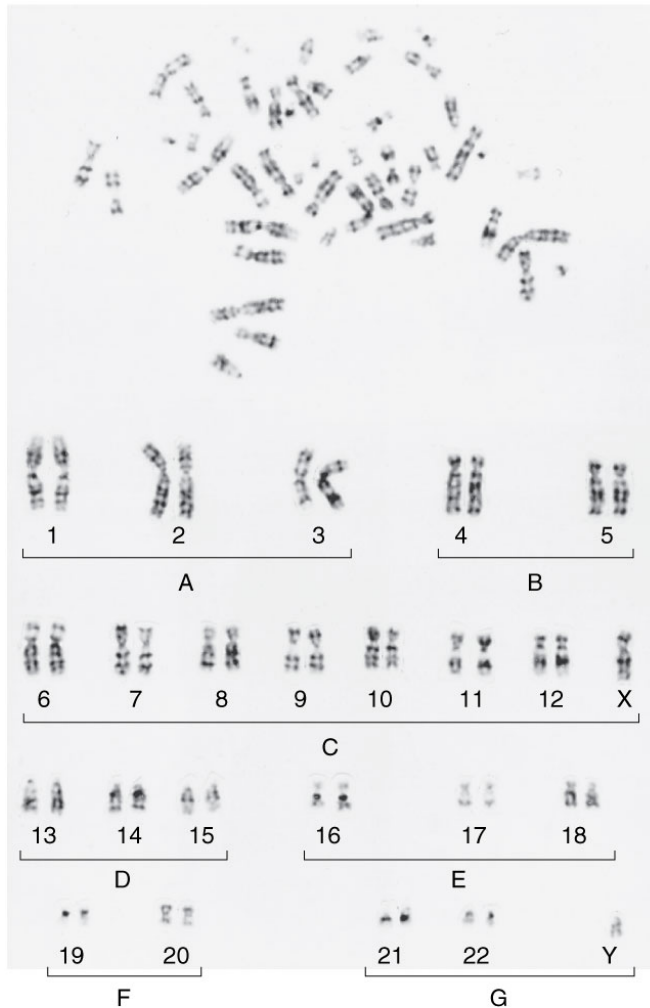
Three pairs of homologous chromosomes

Die Position des Zentromeres (Spindelansatzpunkt) bestimmt den Typ des Chromosoms

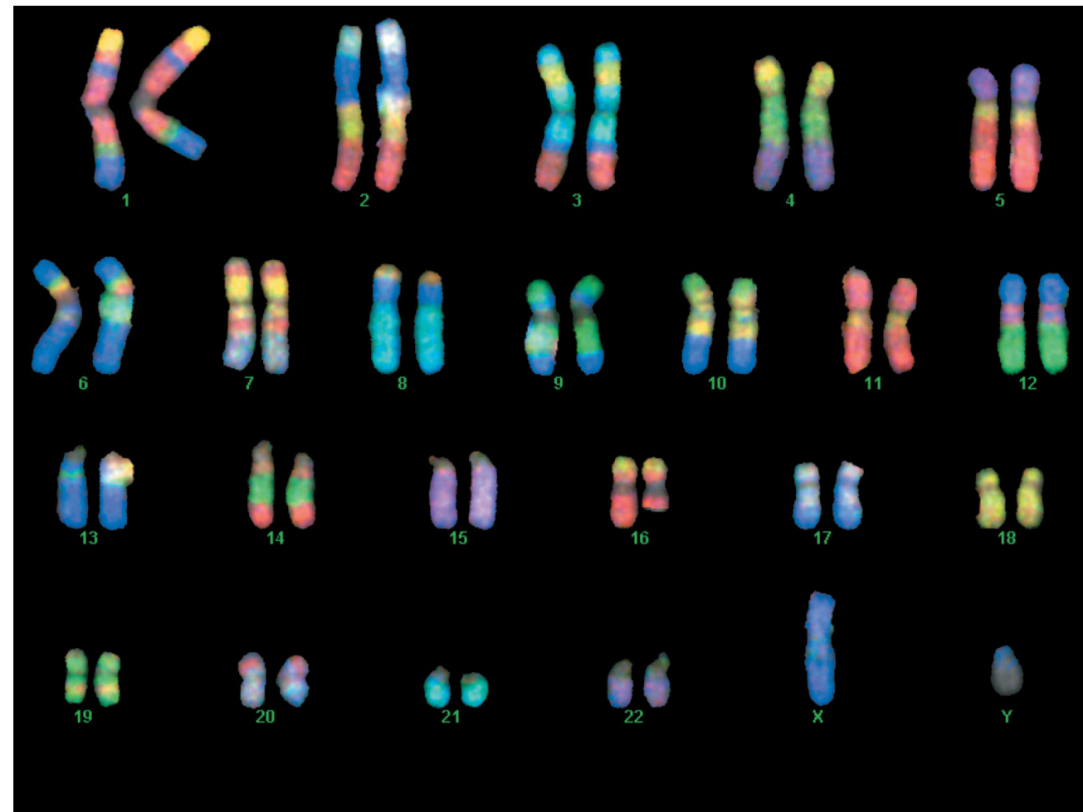


Chromosome banding (Färbung von Säurebehandelten Chromosomen), Fluoreszenzfärbung, oder Fluorescent in situ Hybridization (FISH) wird zum Erstellen eines Karyotyps verwendet.

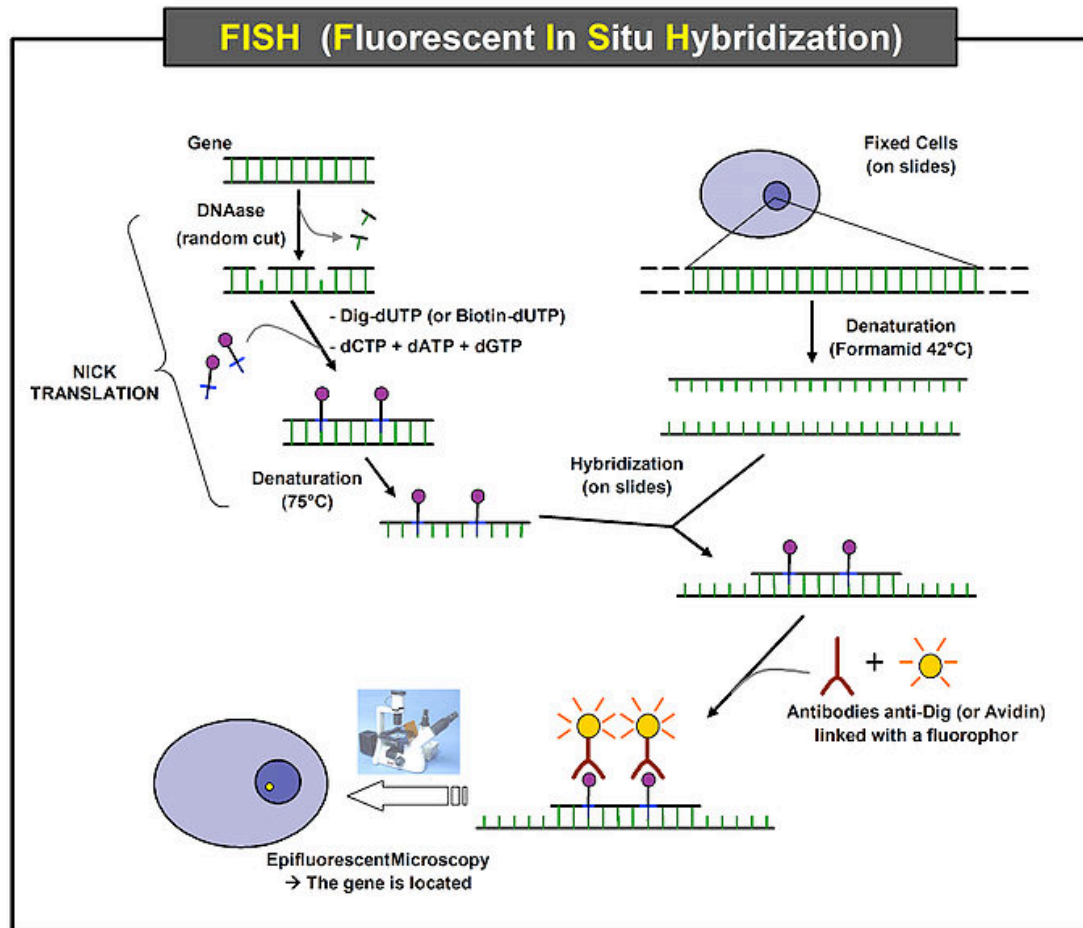
a) G banding in a karyotype of a male



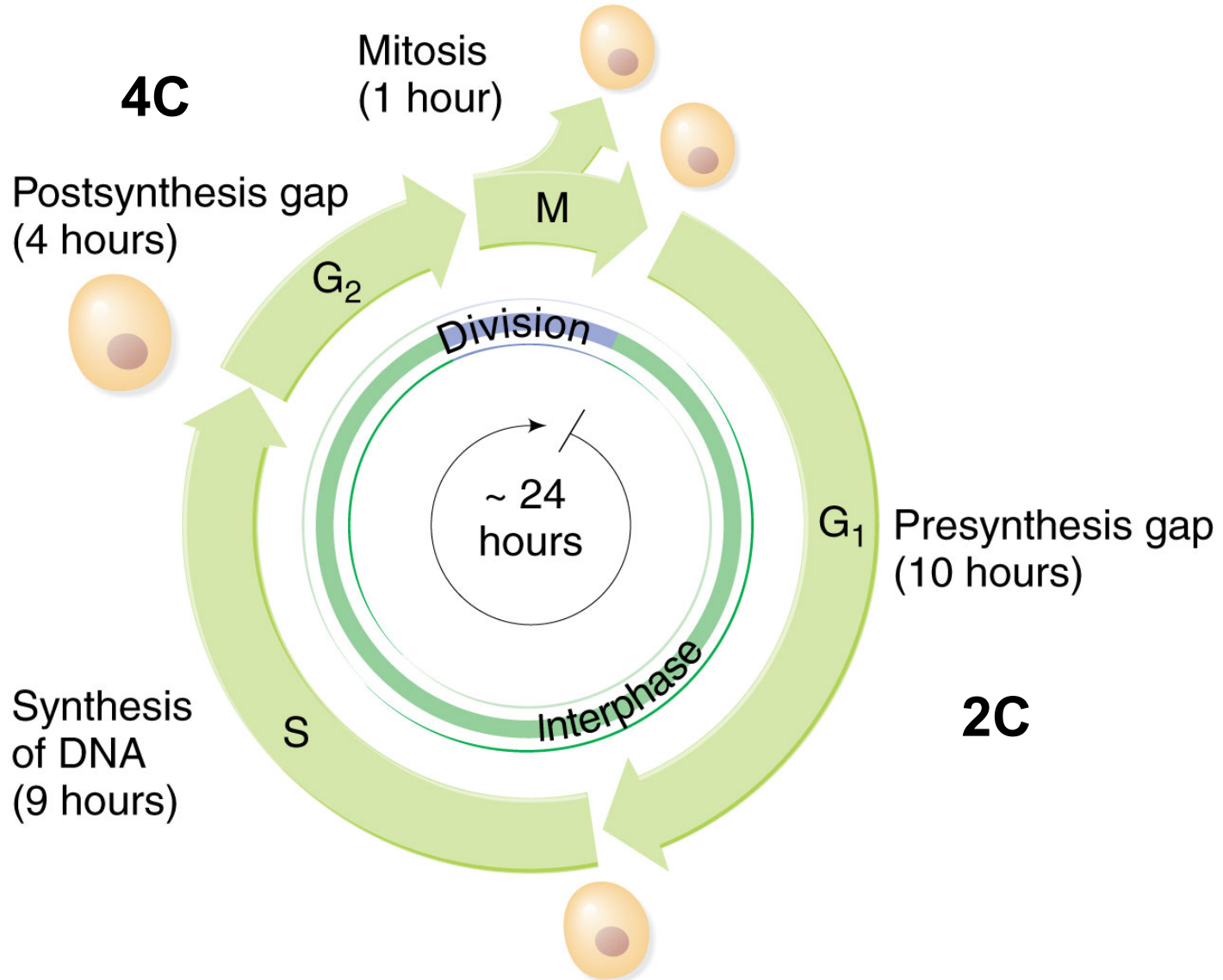
b) Chromosome painting in a male karyotype



FISH erlaubt die Detektion einzelner Chromosomenabschnitte, auch in Interphasekernen



Im Zellzyklus wird die DNA in der S Phase verdoppelt, in der M Phase (Mitose) wieder auf die zwei Tochterzellen aufgeteilt



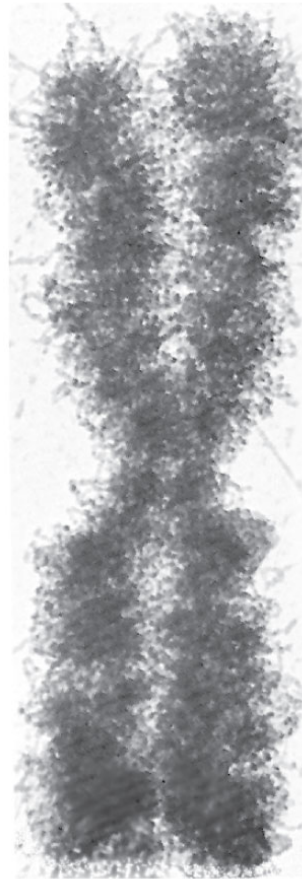
C value versus N

Als **N** wird der **Haploide Chromosomensatz** bezeichnet:
Mensch $1N = 23$, $2N = 46$

Mit **C Wert** wird der **DNA Gehalt** einer **haploiden G1 Zelle** bezeichnet. Eine Diploide Zelle in G1 hat demnach einen 2C Wert, während eine Zelle in G2 (nach der S Phase und vor der Mitose) einen 4C Gehalt hat

Chromosomen welche in G1 aus einer Chromatide bestehen, werden in der S Phase dupliziert sodass diese aus **2 Chromatiden** betehen, welchen amd Zentromer zusammengehalten sind

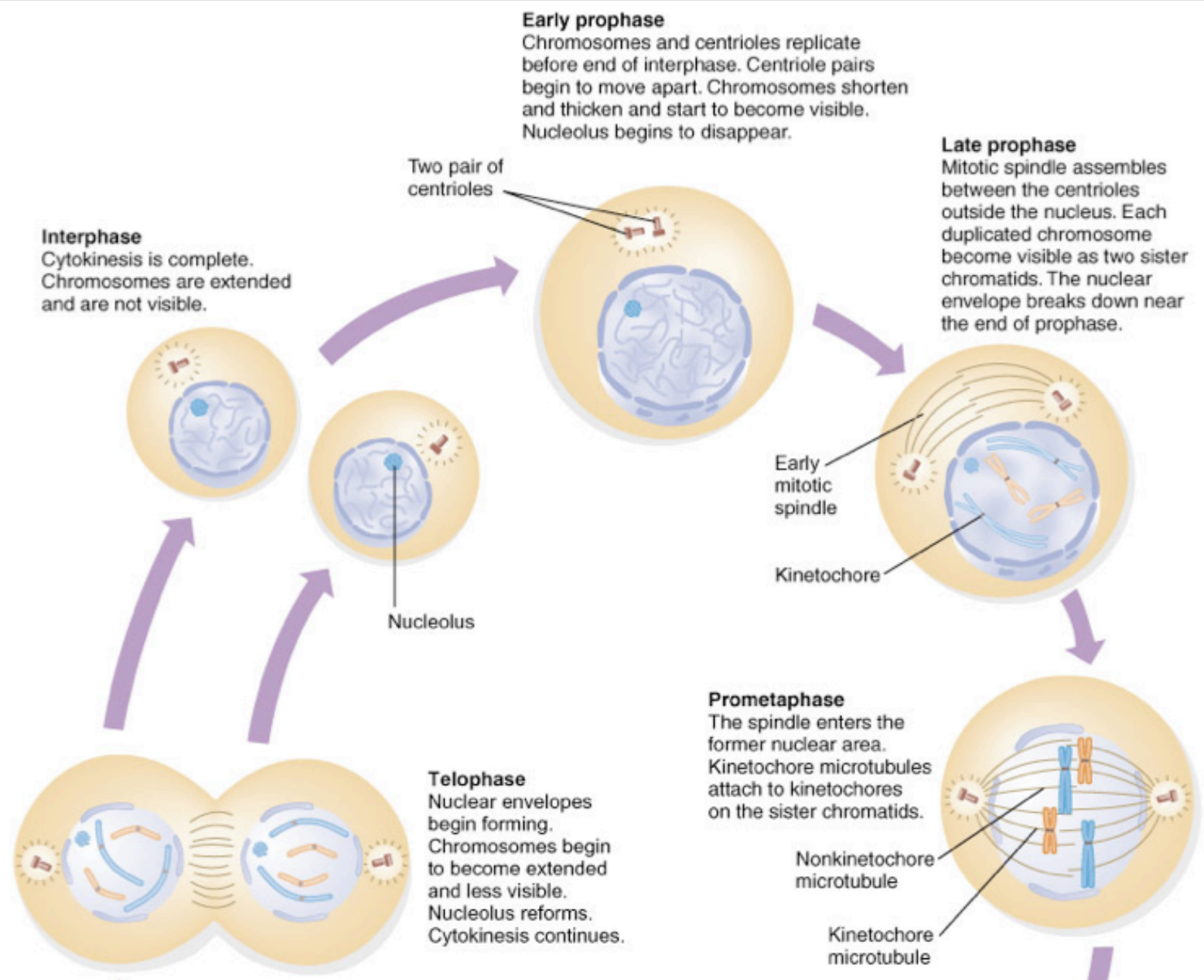
a) Metaphase chromosome
(transmission electron
micrograph)

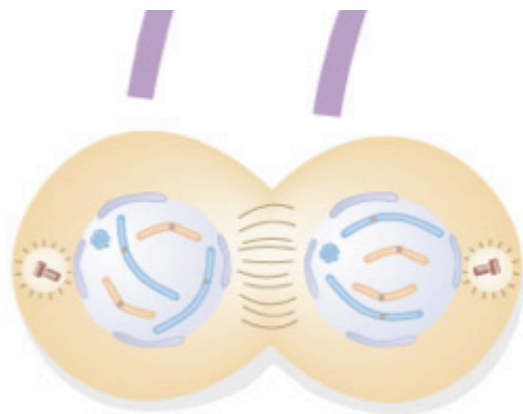


b) Metaphase chromosome
(scanning electron
micrograph)



In der Mitose werden homologe Chromatiden voneinander getrennt und auf zwei Tochterzellen aufgeteilt

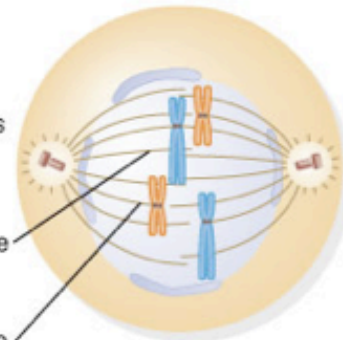




Telophase
 Nuclear envelopes begin forming. Chromosomes begin to become extended and less visible. Nucleolus reforms. Cytokinesis continues.

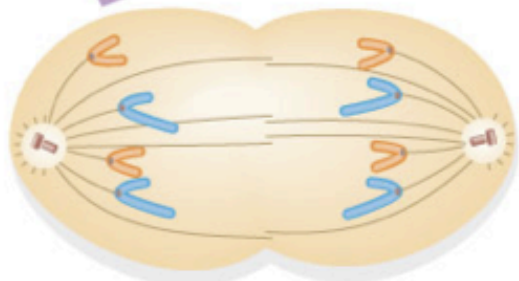
Prometaphase

The spindle enters the former nuclear area. Kinetochore microtubules attach to kinetochores on the sister chromatids.

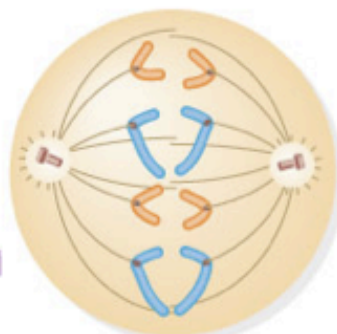


Nonkinetochore microtubule

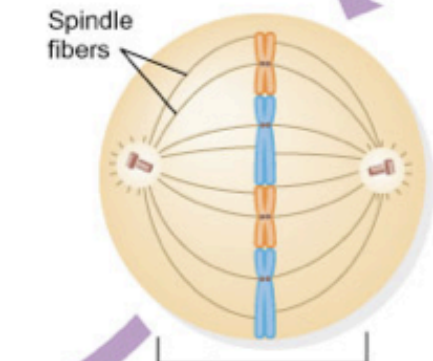
Kinetochore microtubule



Late anaphase
 The two sets of daughter chromosomes approach the poles. Cytokinesis (cell division) usually begins.



Early anaphase
 The two centromeres of each pair of sister chromatids separated and the resulting daughter chromosomes begin migration to opposite poles.



Spindle fibers

Spindle

Metaphase
 Kinetochore microtubules orient duplicated chromosomes on the metaphase plate.

Prophase: Centriolen verdoppeln sich, die Chromosomen Kondensieren, die Kernhülle beginnt sich aufzulösen

Prometaphase: Der Spindelapparat tritt mit den Zentromeren der Schwesterchromatiden in Kontakt

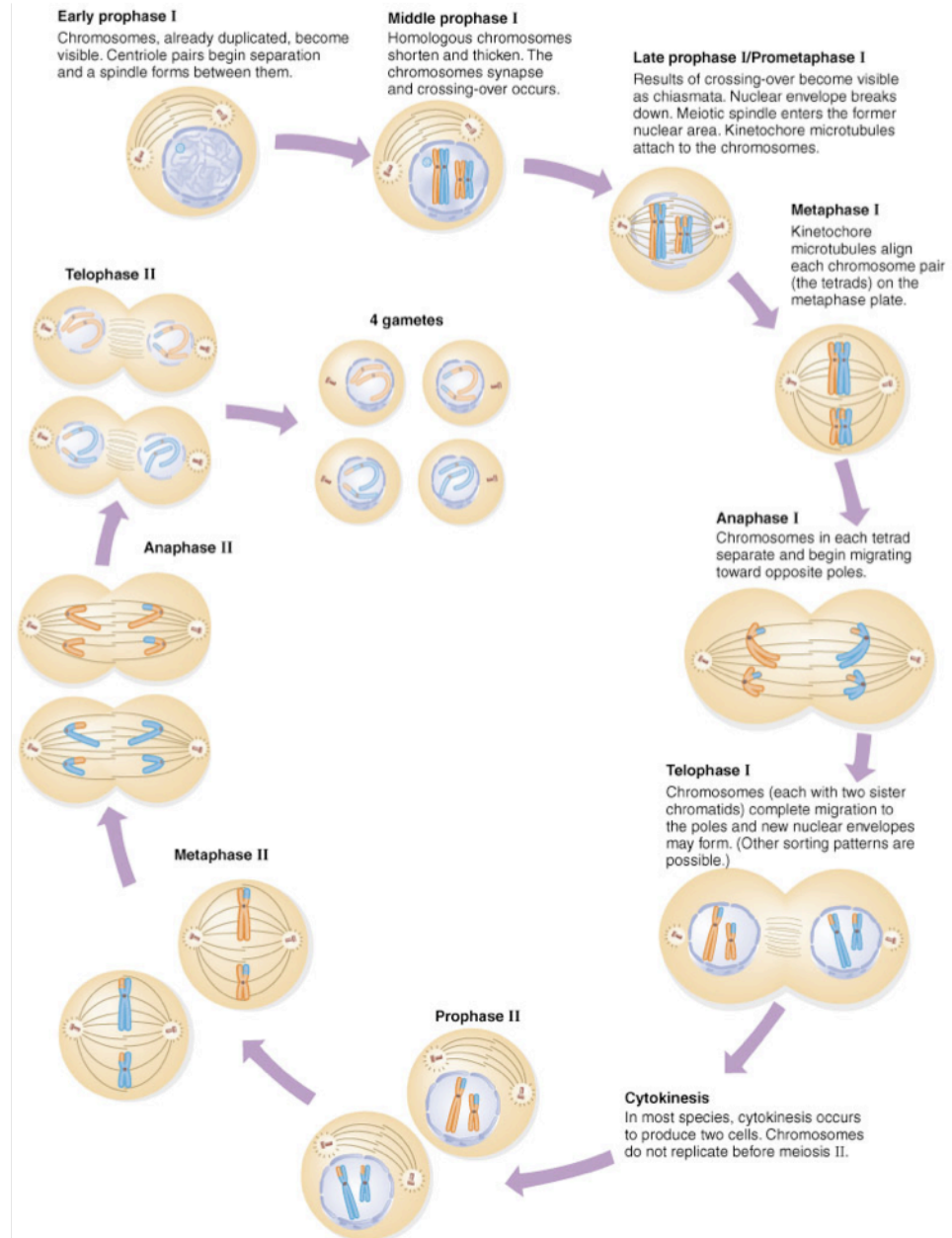
Metaphase: Die Chromosomen ordnen sich in der Metaphaseplatte an, alle Kinetochore sind mit Spindeln versehen.

Anaphase: die Chromatiden trennen sich und werden an die gegenüber-liegenden Pole gezogen.

Telophase: Die Chromosomen dekondensieren, eine Kernhülle bildet sich wieder aus.

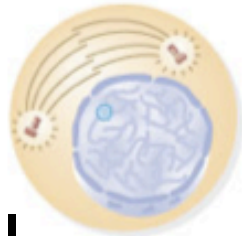
Diakinese: Eine neue Zellmembran wird zwischen den Tochterzellen gebildet.

Die **Meiose** ist eine spezialisierte Zellteilung welcher zur Reduktion des diploiden Chromosomensatzes auf einen Haploiden dient. Rekombination zwischen homologen Chromosomen führt zur Neukombination von paternalen und maternalen Genen. Die *Meiose besteht aus zwei aufeinanderfolgenden Teilungen.*



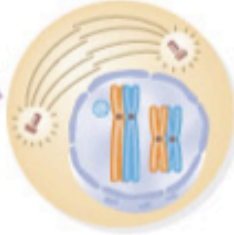
Early prophase I

Chromosomes, already duplicated, become visible. Centriole pairs begin separation and a spindle forms between them.



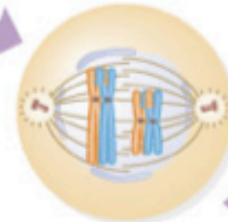
Middle prophase I

Homologous chromosomes shorten and thicken. The chromosomes synapse and crossing-over occurs.



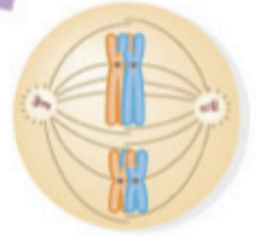
Late prophase I/Prometaphase I

Results of crossing-over become visible as chiasmata. Nuclear envelope breaks down. Meiotic spindle enters the former nuclear area. Kinetochore microtubules attach to the chromosomes.



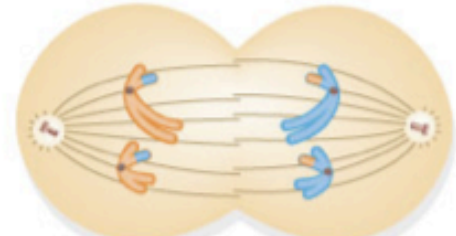
Metaphase I

Kinetochore microtubules align each chromosome pair (the tetrads) on the metaphase plate.



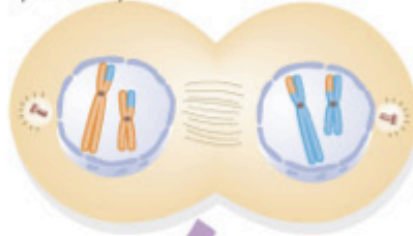
Anaphase I

Chromosomes in each tetrad separate and begin migrating toward opposite poles.



Telophase I

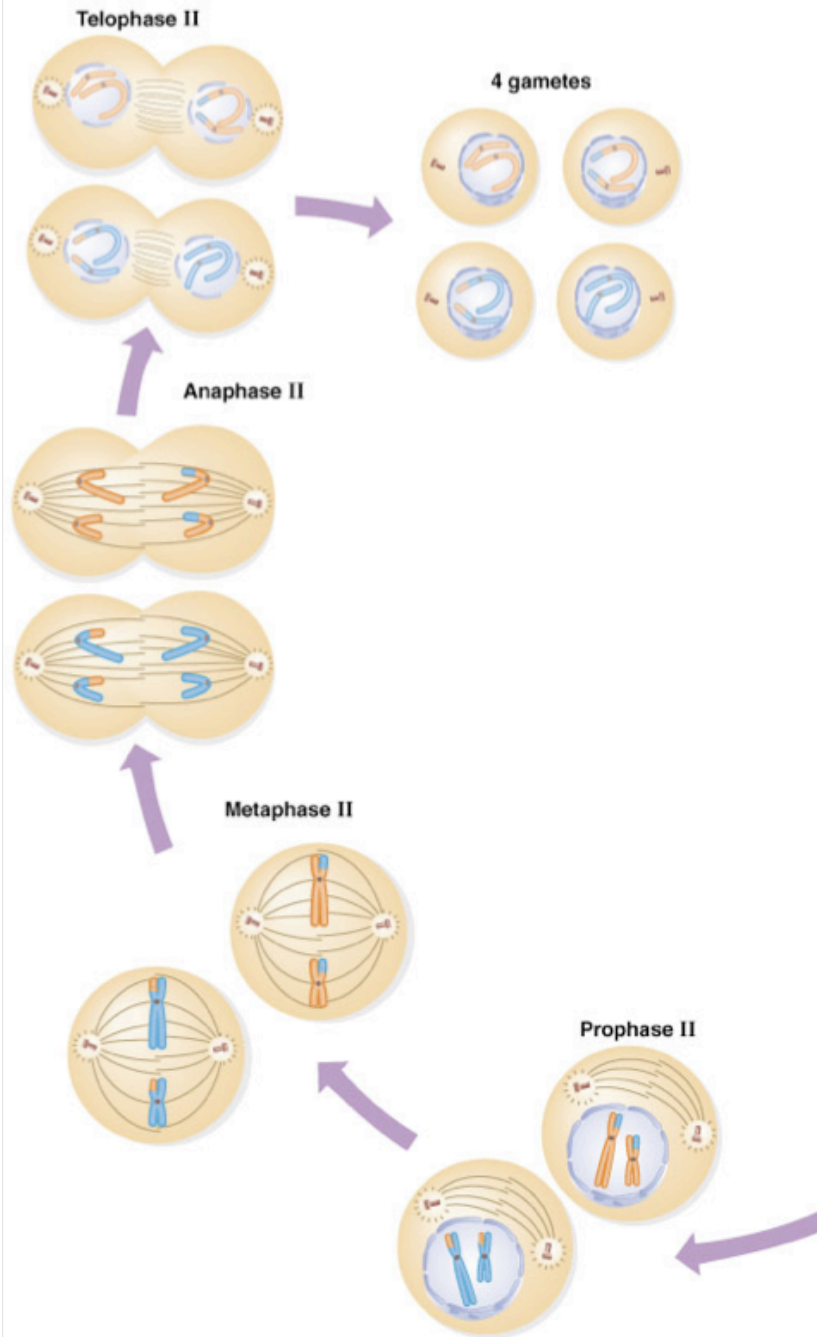
Chromosomes (each with two sister chromatids) complete migration to the poles and new nuclear envelopes may form. (Other sorting patterns are possible.)



Cytokinesis

In most species, cytokinesis occurs to produce two cells. Chromosomes do not replicate before meiosis II.

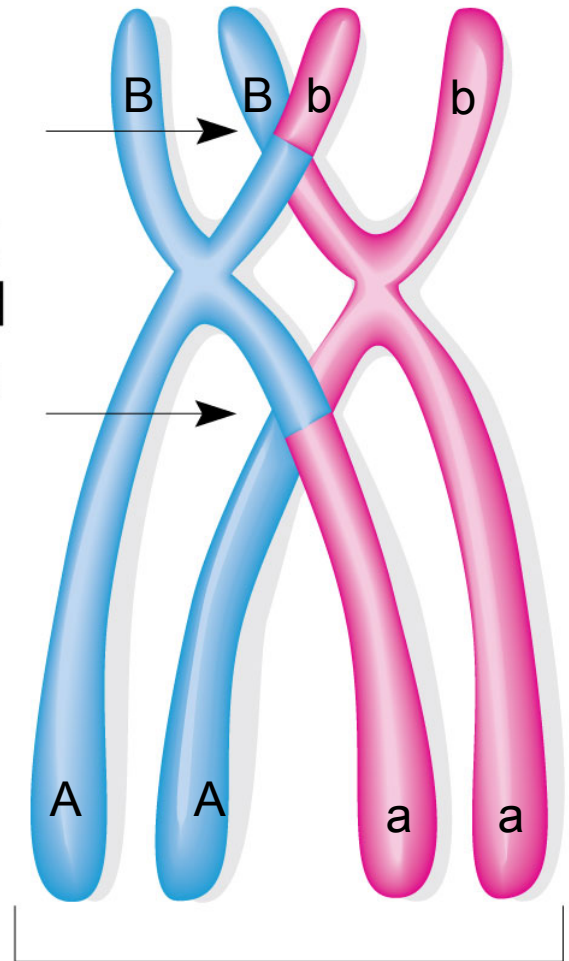
Während **Meiose I** kommt es zur *Rekombination* zwischen den Chromatiden der homologen Chromosomen. Rekombinierte *homologe Chromosomen* werden anschliessend *getrennt*.



Während **Meiose 2** werden die *homologen Chromatiden* voneinander *getrennt* um so 4 Geschlechtszellen (Gameten) zu erzeugen.

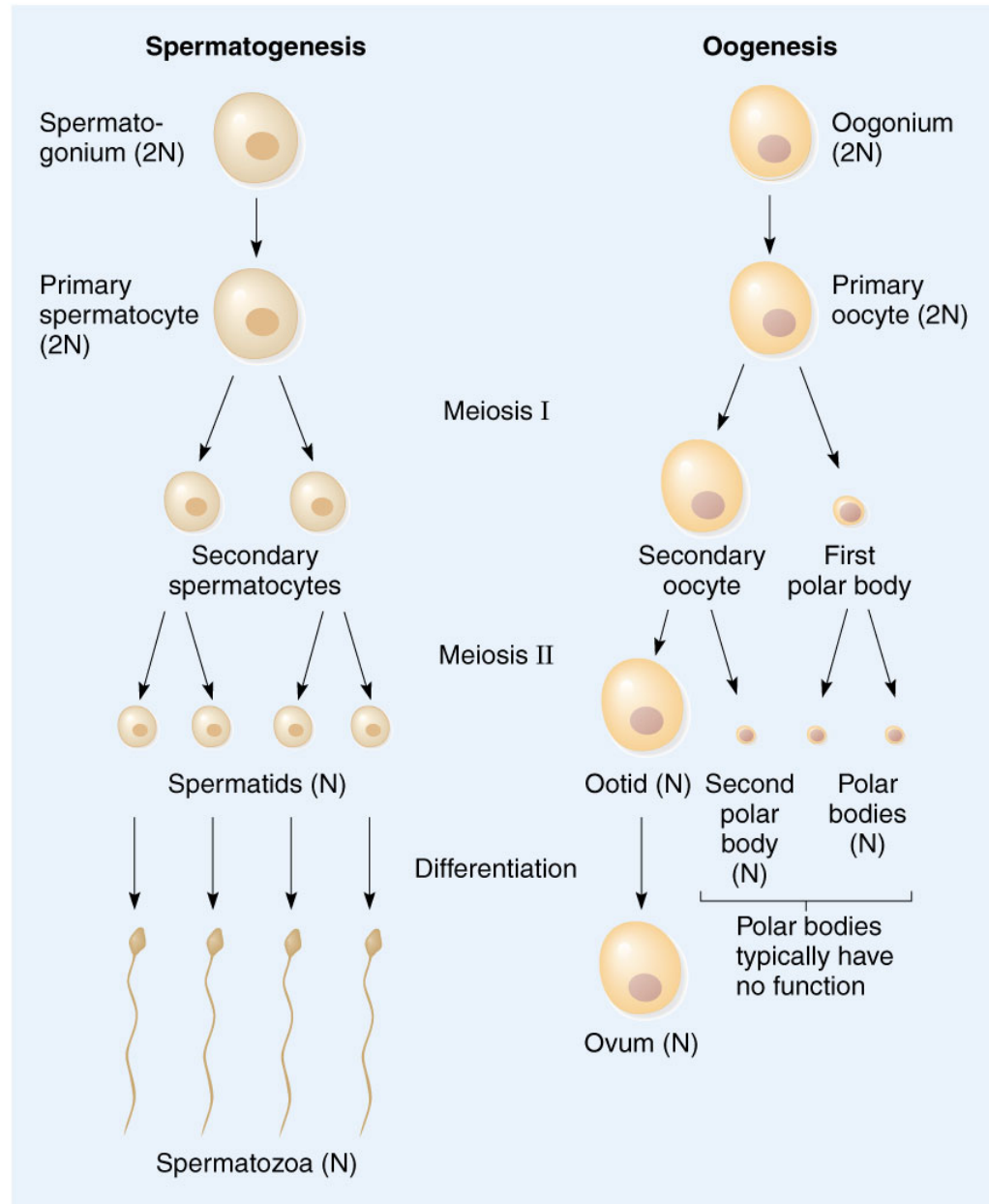
Merkmale, welche am gleichen Chromosom liegen, werden **gekoppelt** vererbt. Durch Rekombination können diese voneinander getrennt werden.

Sites of crossing over and chiasma



Homologous pair of chromosomes with two chromatids per chromosome

In tierischen Systemen entstehen *4 männliche* Gameten als Produkt der Meiose. In der Regel entsteht jedoch nur *eine weibliche Gamete* (Eizelle) während die drei anderen Teilungsprodukte als **Polkörperchen** in der Eizelle sichtbar bleiben.

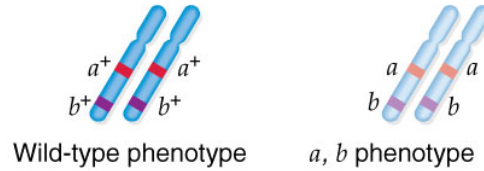


Gene am gleichen Chromosom werden oft miteinander vererbt, da sie gekoppelt sind.

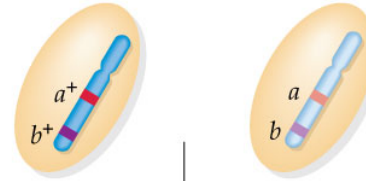
Rekombination kann gekoppelte Gene neu kombinieren. Die Rekombinationshäufigkeit steigt mit der Entfernung am Chromosom.

Linked autosomal genes with recessive mutant alleles

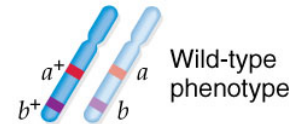
Parents:
homologous
chromosomes



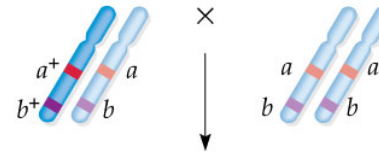
Gametes



F₁ generation

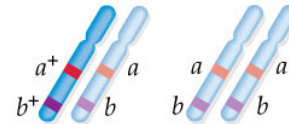


Testcross



Progeny
analyzed for
recombinant
progeny

Parental nonrecombinant progeny

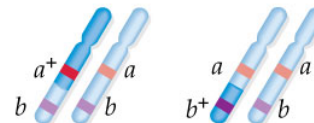


Phenotypes

a+ b+
(wild-type)

a b

Recombinant progeny

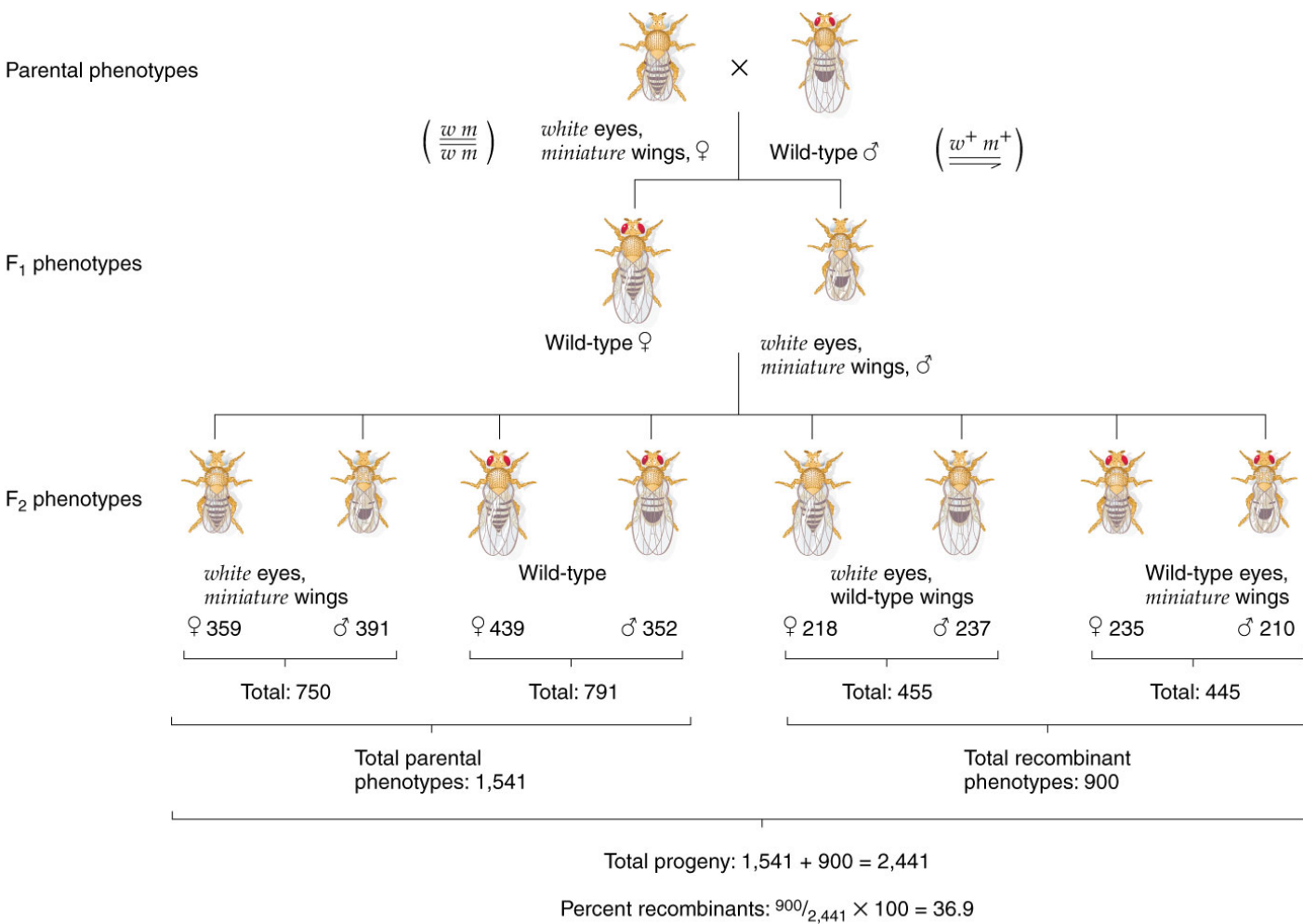


Phenotypes

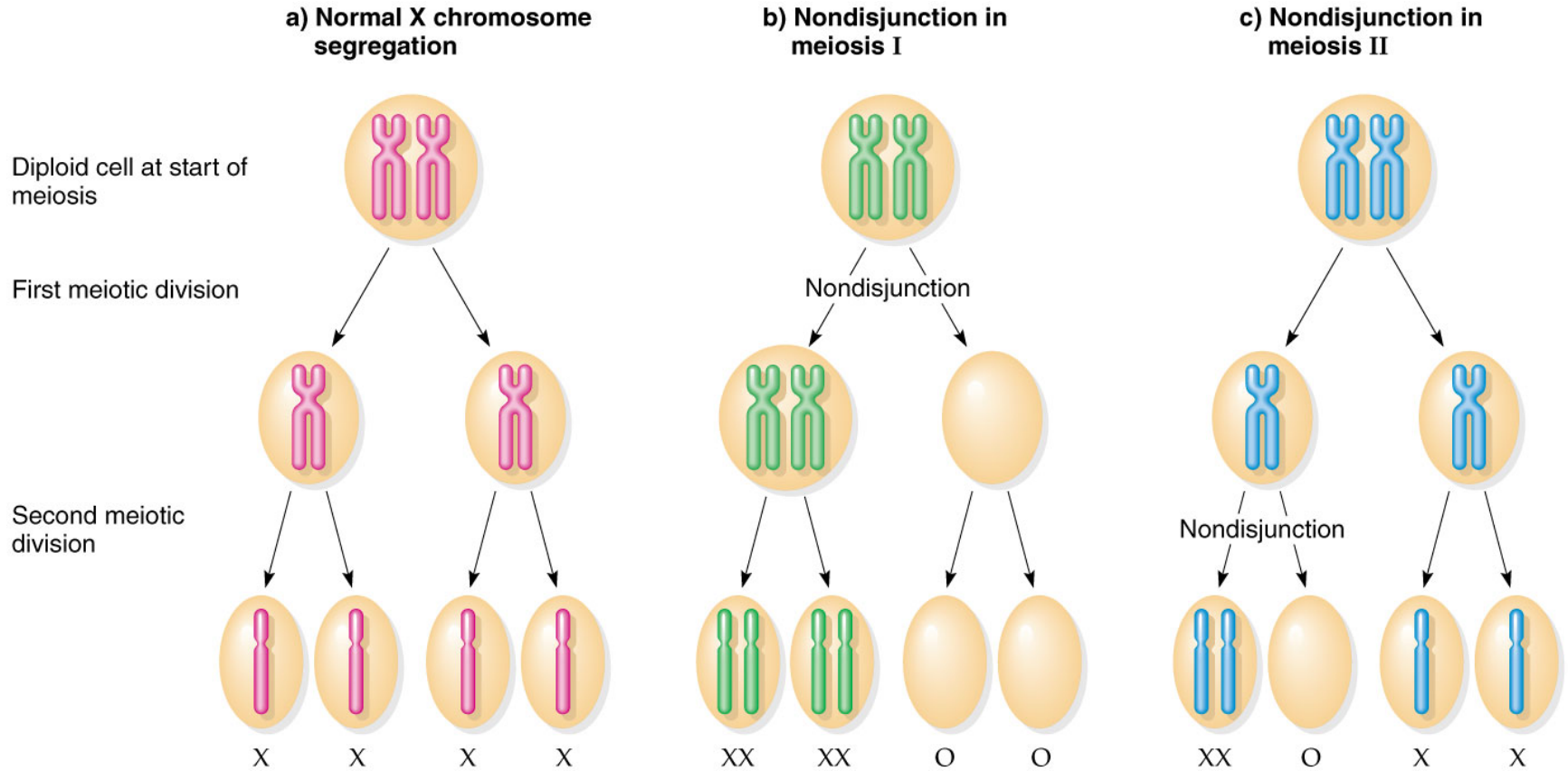
a+ b

a b+

Durch Bestimmen der Rekombinationsraten (in einer grossen Nachkommenschaft) kann die Anordnung und Distanz von Genen am Chromosom bestimmt werden.

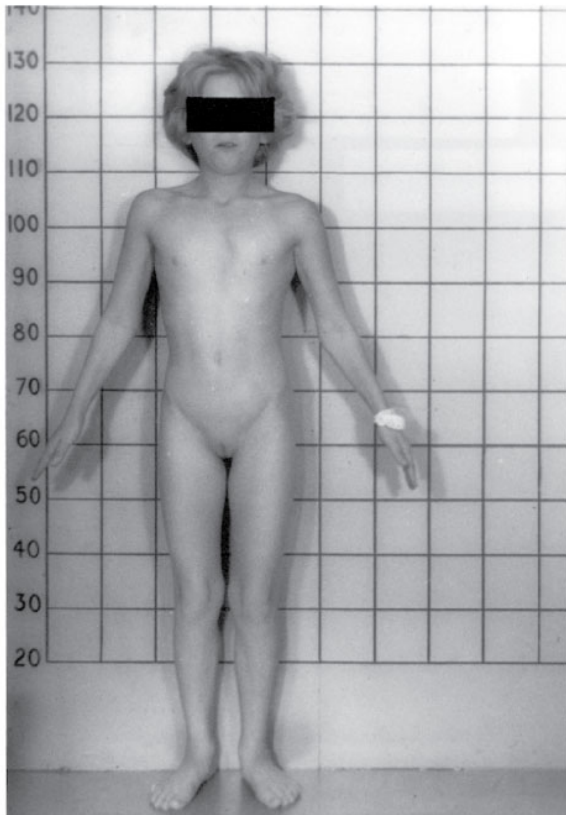


Fehlerhaftes Auftrennen von Chromosomen (hier X-Chromosomen) kann zu Trisomien oder Monosomien führen

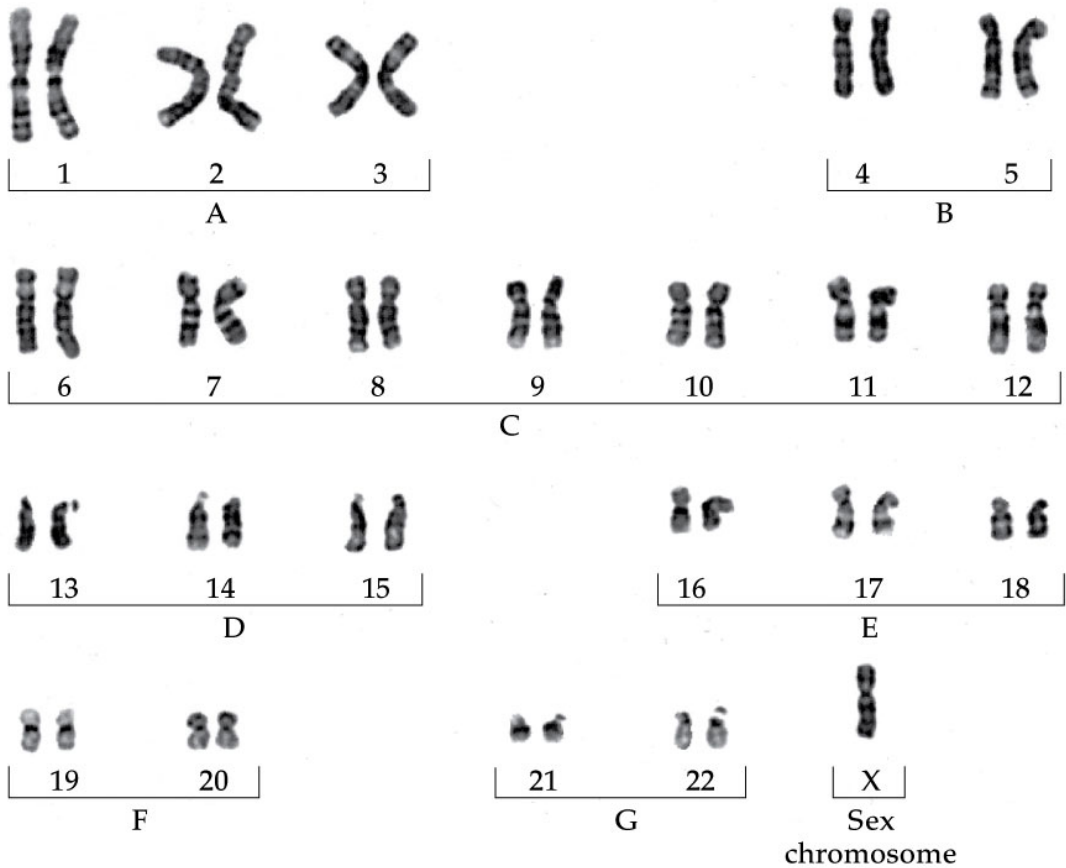


X- Monosomie (Turner Syndrom)

a) Individual with Turner syndrome



b) Karyotype for Turner syndrome

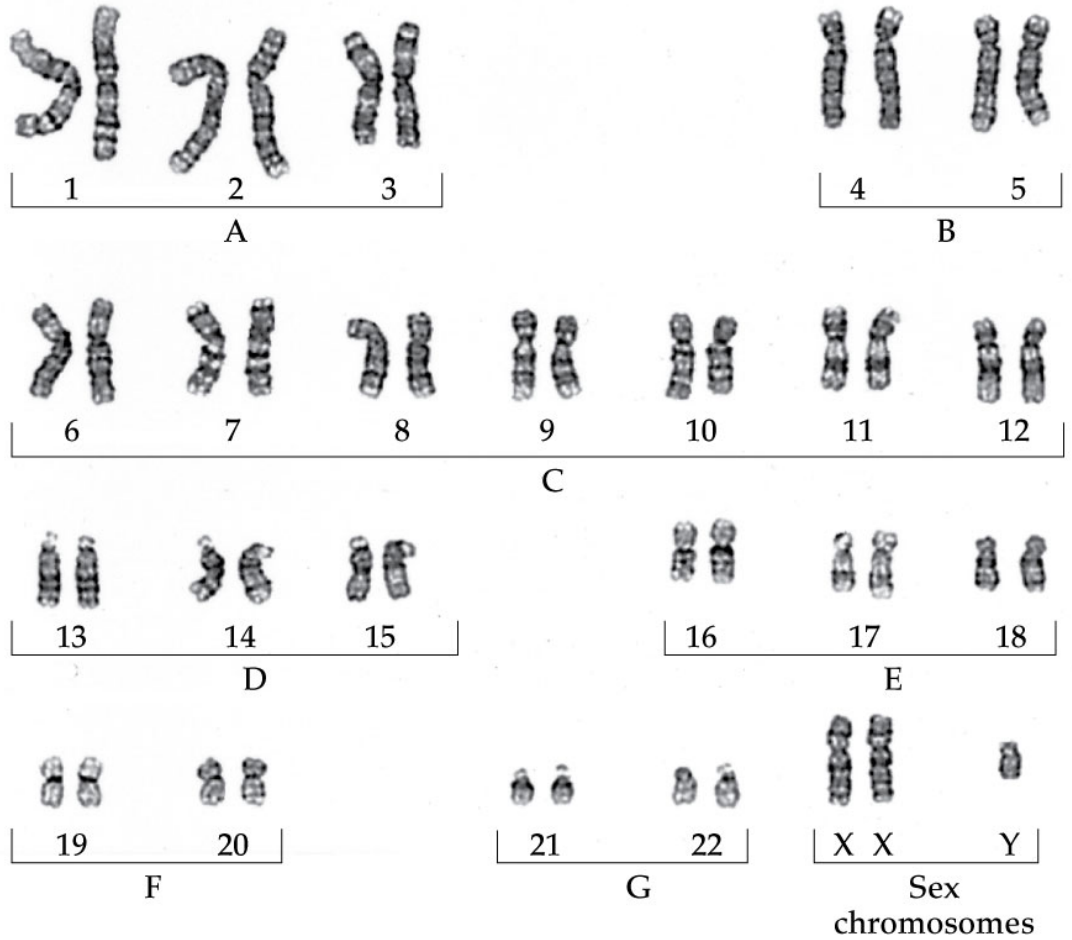


XXY Klinefelter Syndrome

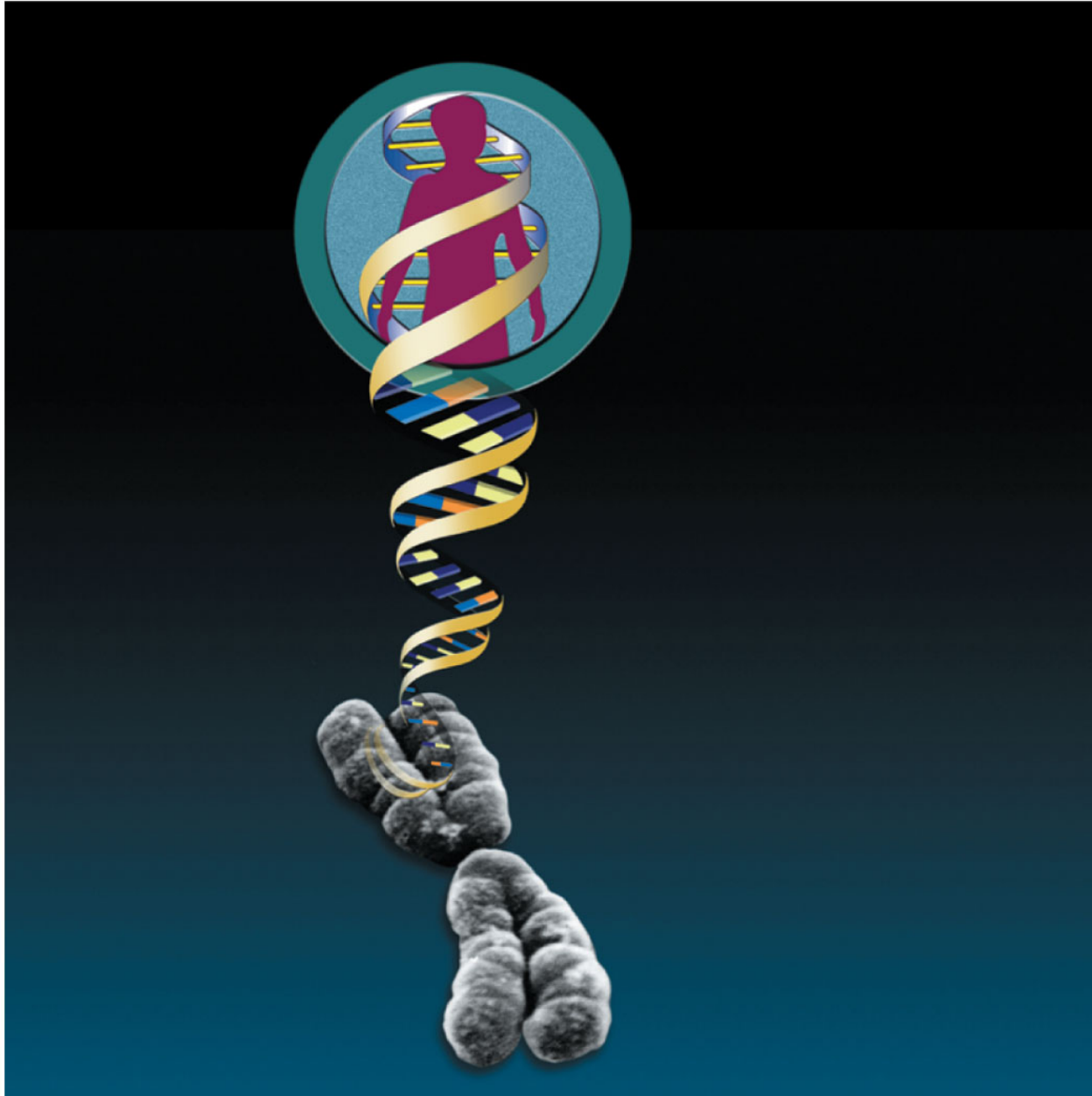
a) Individual with Klinefelter syndrome



b) Karyotype for Klinefelter syndrome



Genomanalyse & Rekombinante DNA-Technologie



Restriktions-Endonukleasen sind meist Prokaryotische Enzyme, welche Palindrome Sequenzen schneiden

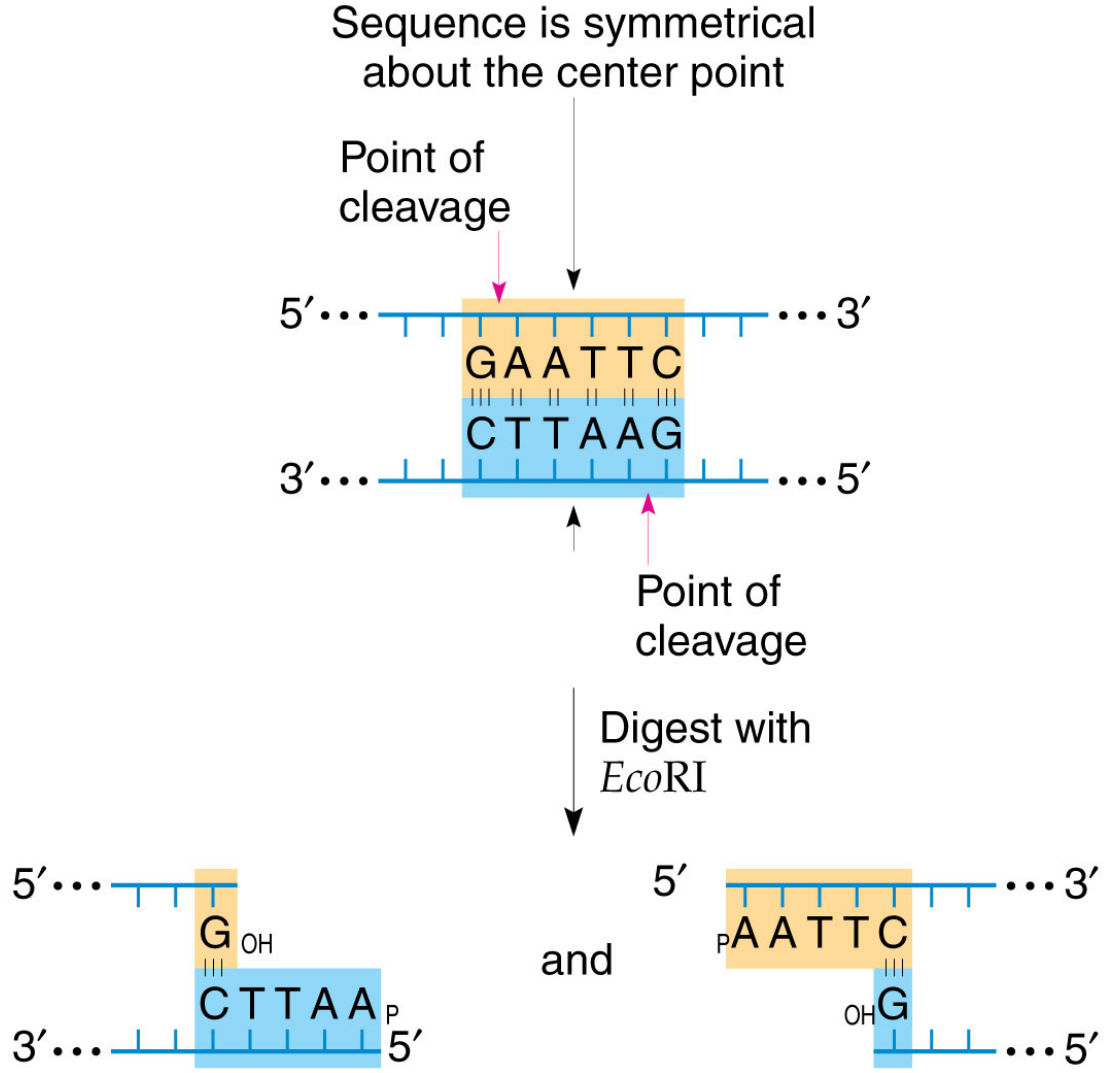
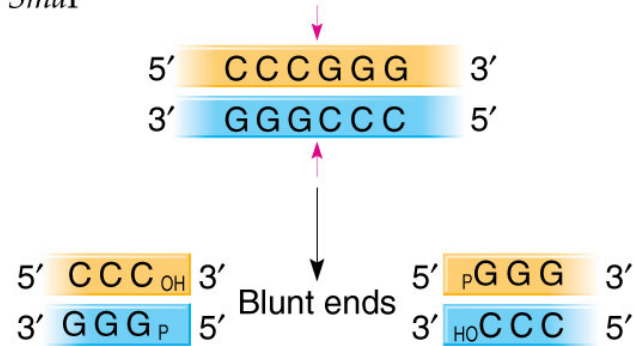


Table 8.2 Occurrence of Restriction Sites for Restriction Enzymes in DNA with Randomly Distributed Nucleotide Pairs

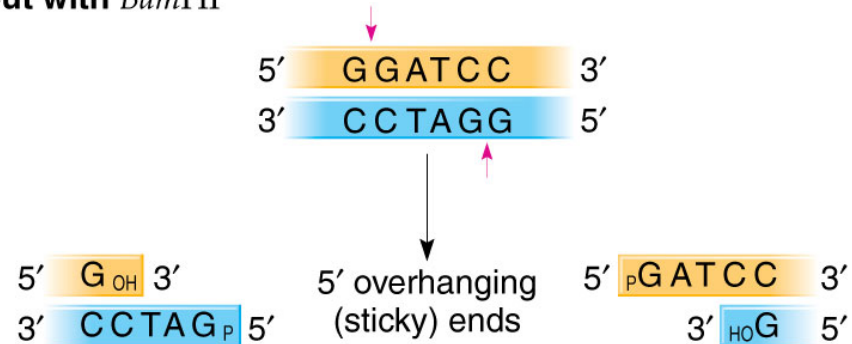
Nucleotide Pairs in Restriction Site	Probability of Occurrence
4	$(1/4)^4 = 1 \text{ in } 256 \text{ bp}$
5	$(1/4)^5 = 1 \text{ in } 1,024 \text{ bp}$
6	$(1/4)^6 = 1 \text{ in } 4,096 \text{ bp}$
8	$(1/4)^8 = 1 \text{ in } 65,476 \text{ bp}$
n	$(1/4)^n$

RE können blunt (gerade) oder sticky (klebrige) Enden erzeugen. Nur sticky Ends mit gleichen Überhängen können wieder verknüpft werden.

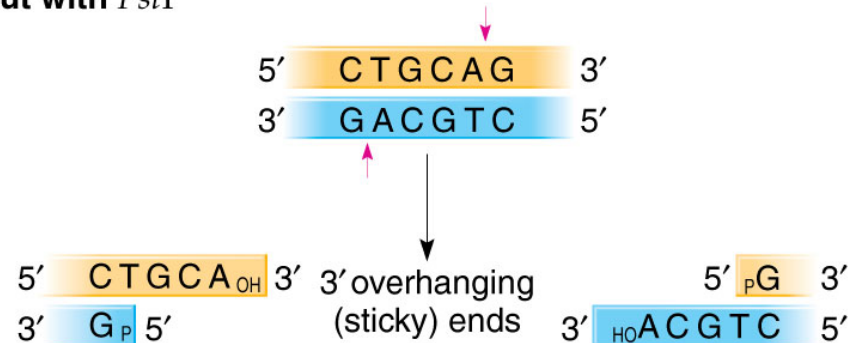
a) Cut with *Sma*I



b) Cut with *Bam*HI



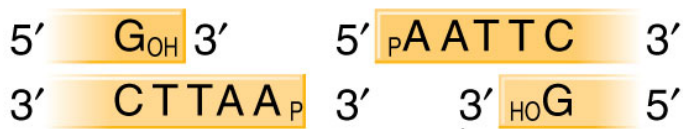
c) Cut with *Pst*I



DNA 1



DNA 2



Cut with
*Eco*RI, leaving
"sticky" ends

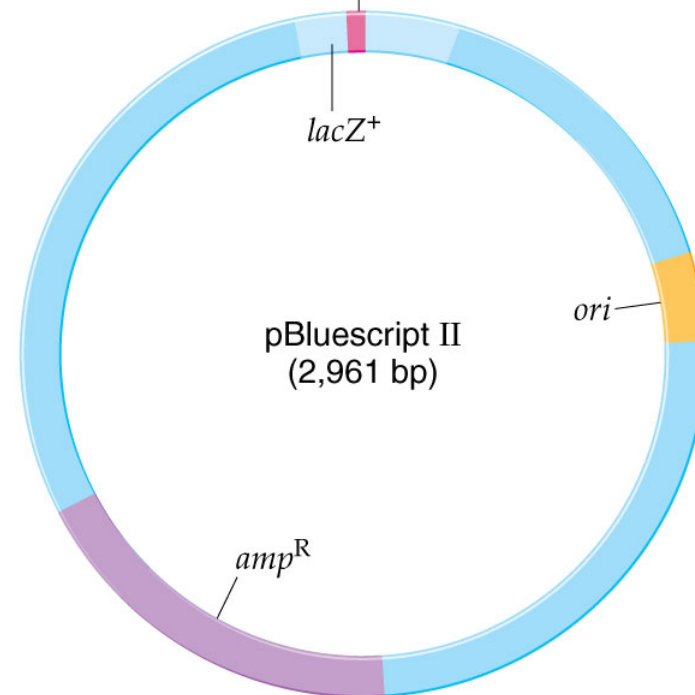
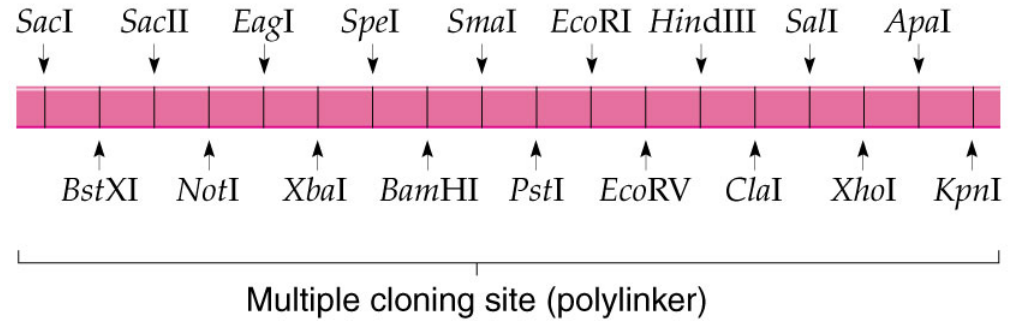


Recombinant
DNA molecules

Fremde DNA kann in bakterielle Plasmide eingebracht, und dort vermehrt werden.

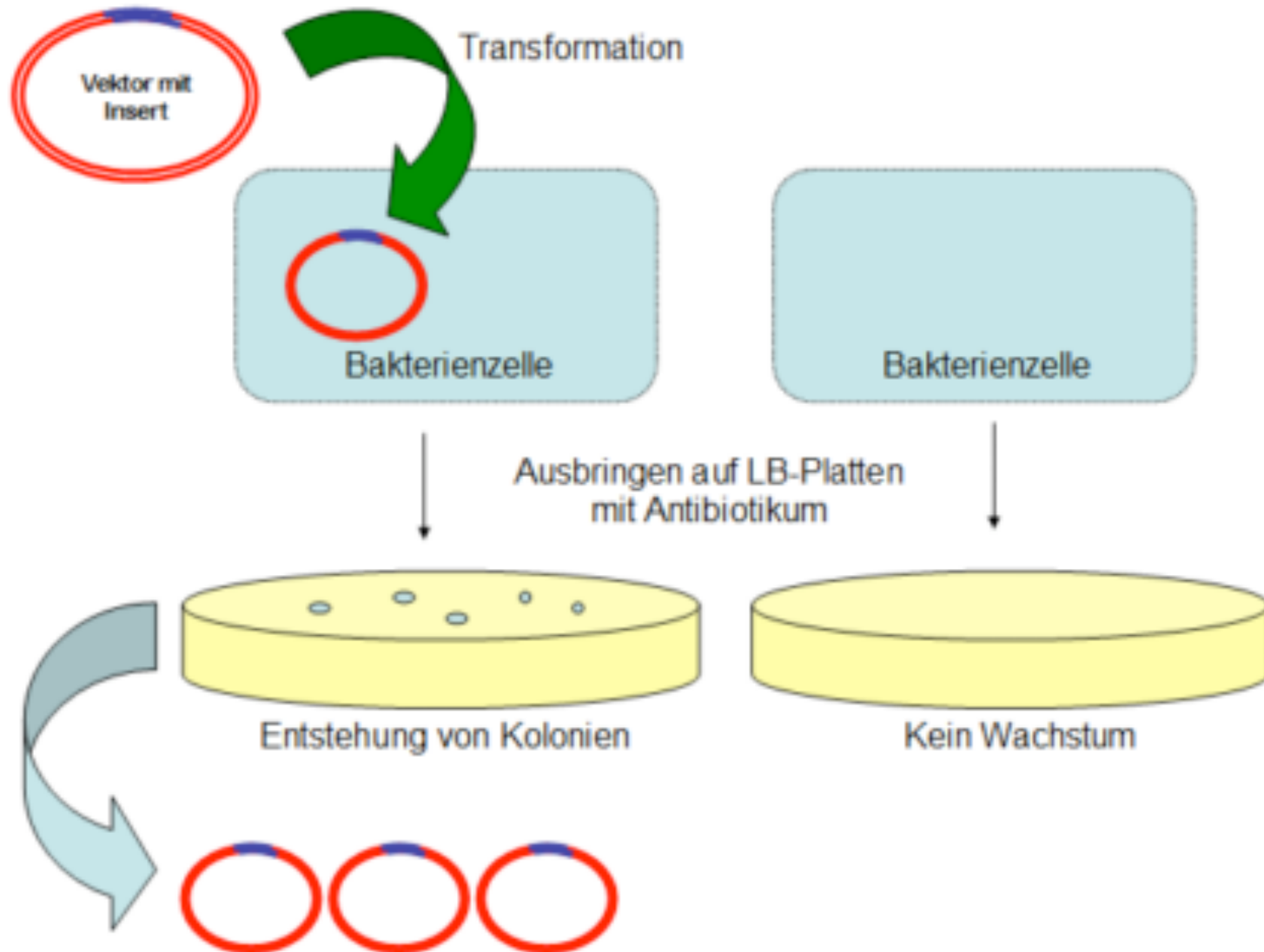
High copy number origin of replication.

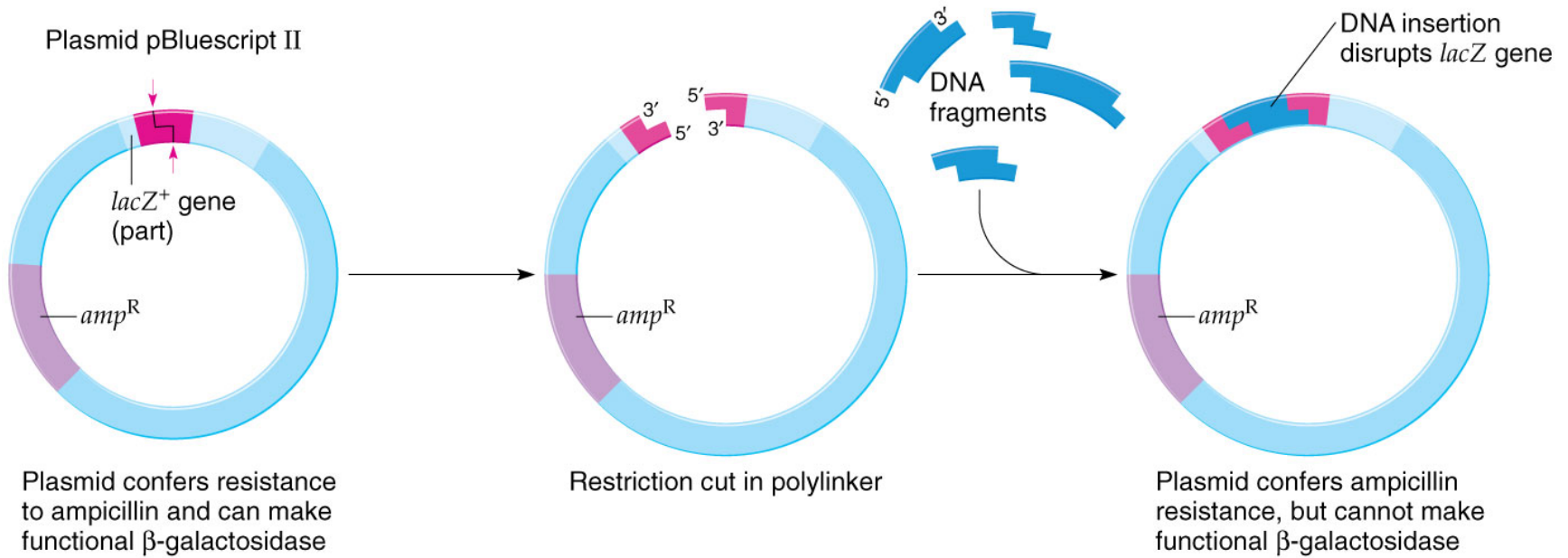
Durch die Ampizillin Resistenz Kasette (beta lactamase) können jene Bakterien auf Ampizillin Platten wachsen, welche ein Plasmid erhalten haben.



ori = Origin of replication
amp^R = Ampicillin resistance gene
lacZ⁺ = Part of β -galactosidase gene

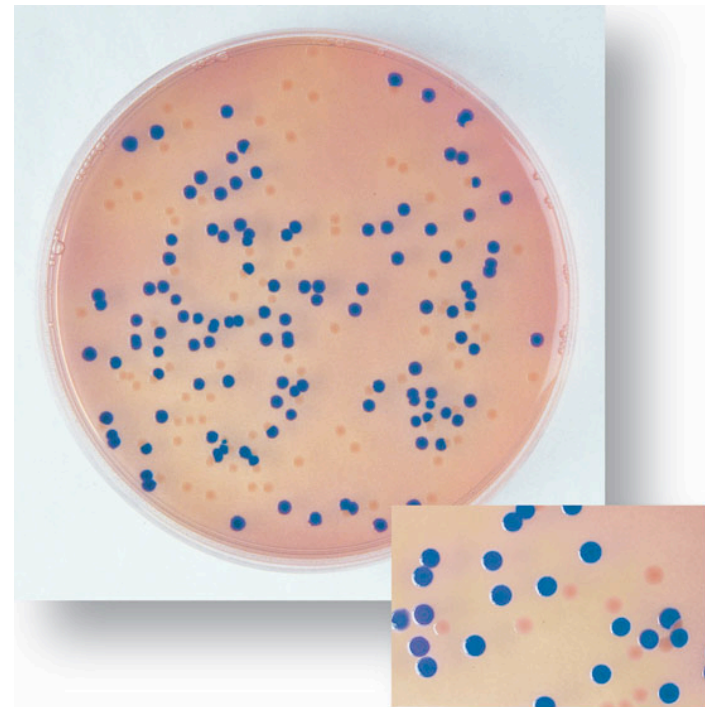
Nur Bakterien mit Ampizillin Resistenzgen wachsen auf Ampizillin Platten.



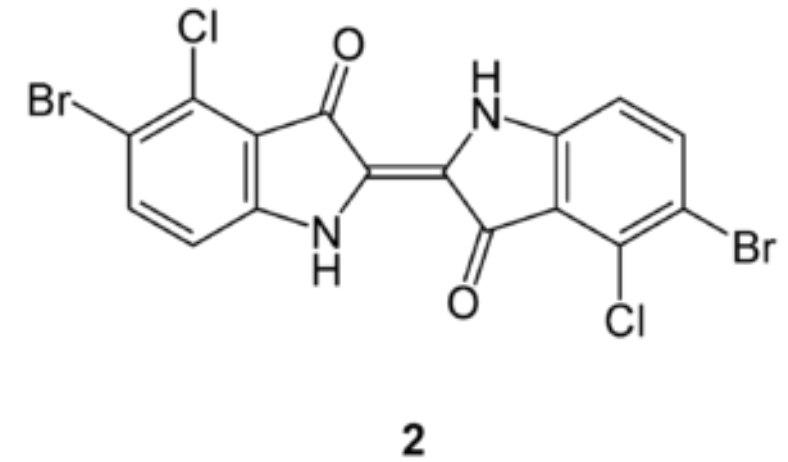
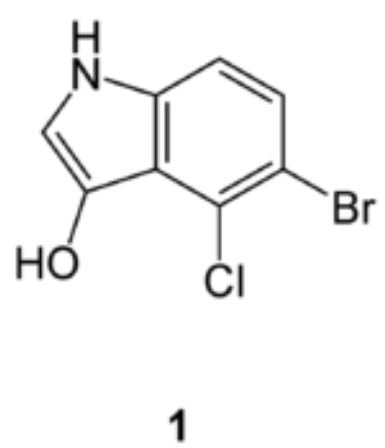
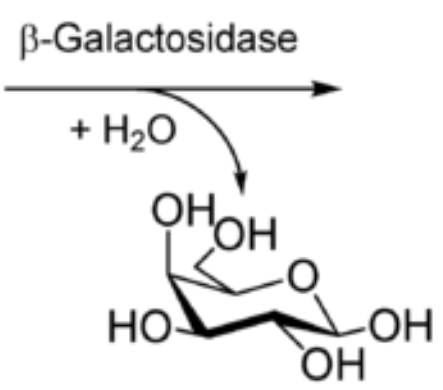
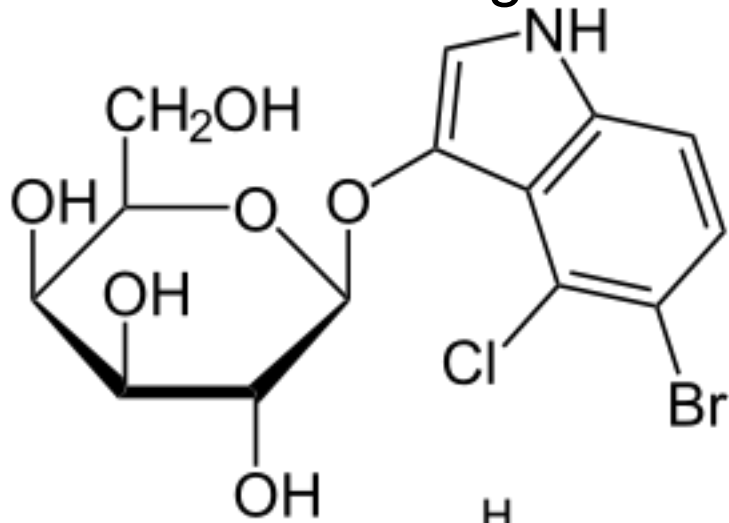


© 2010 Pearson Education, Inc.

Unterbrechung des *lacZ* Genes verhindert die Bildung blauer Kolonien. Weisse Kolonien haben ein Insert.

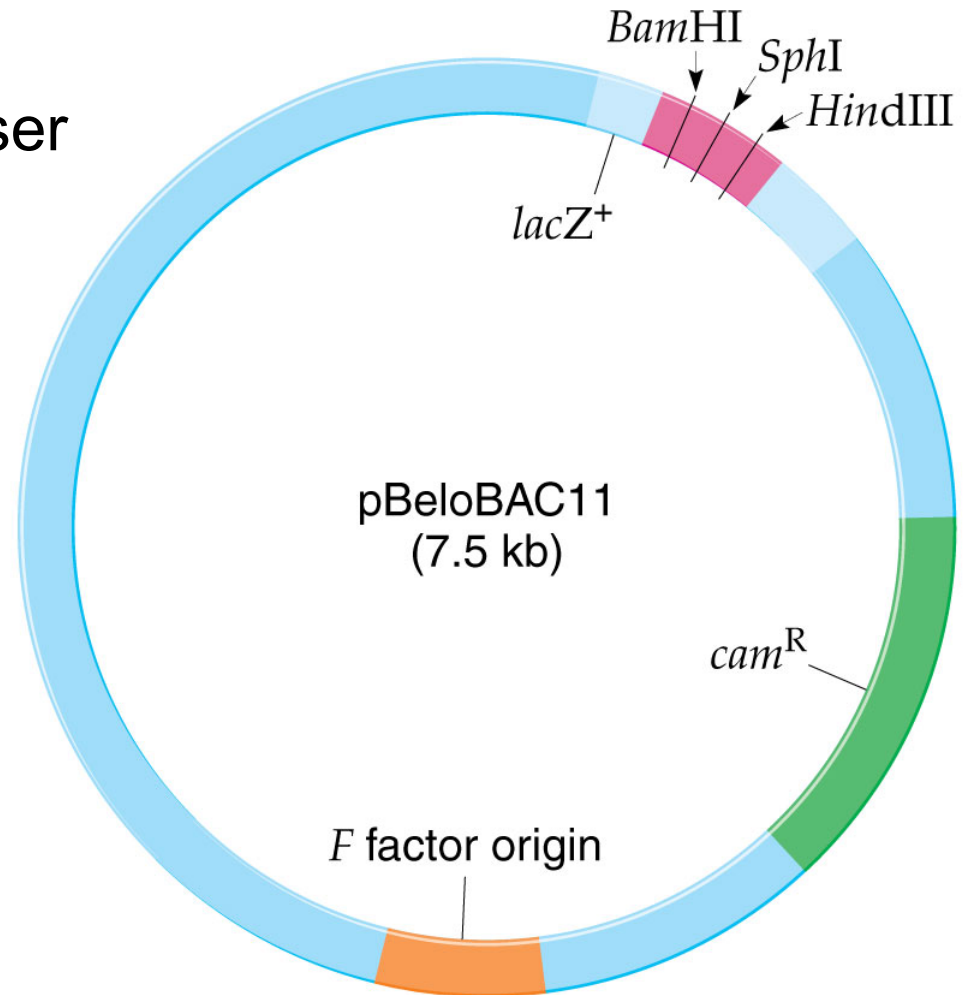


X-Gal: bromo-chloro-indolyl-galactopyranoside wird durch beta Galactosidase in galactose and 5-bromo-4-chloro-3-hydroxyindole gespalten, welches an Luft dimerisiert und so eine blaue Färbung verursacht



a) A bacterial artificial chromosome (BAC) vector

Artifizielle Chromosomen erlauben das Klonieren grosser (300kB) Fragmente. Der F-factor origin erlaubt nur eine Kopie pro Zelle.

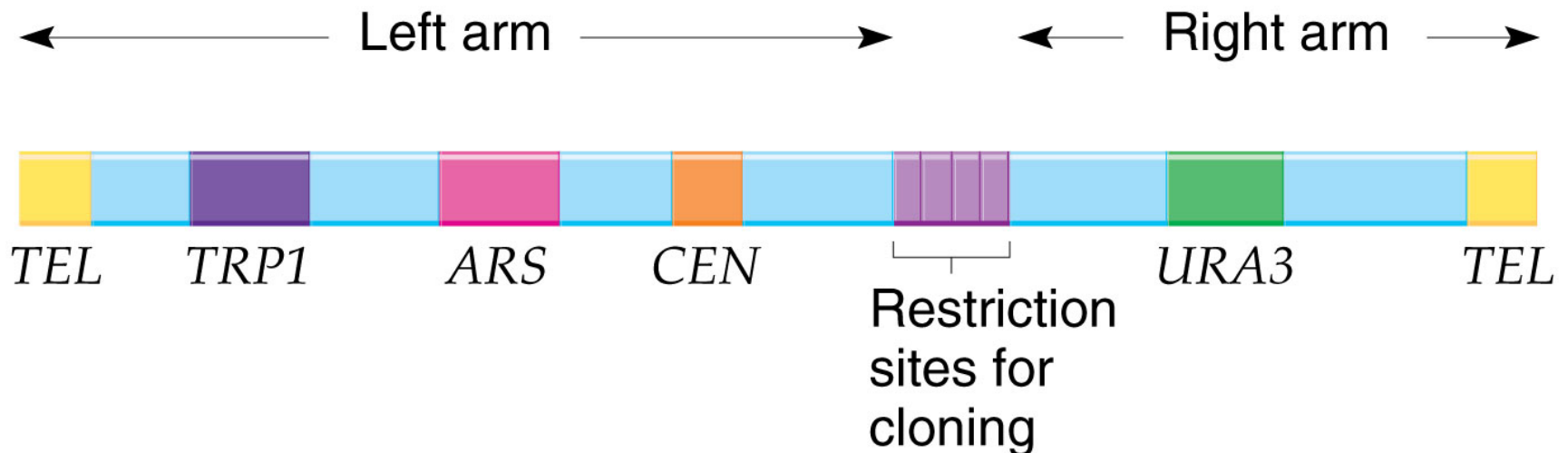


cam^R = Chloramphenicol resistance gene
lacZ⁺ = Part of β -galactosidase gene

YACs yeast artificial chromosomes erlauben die Klonierung von bis zu 2 Mb an DNA.

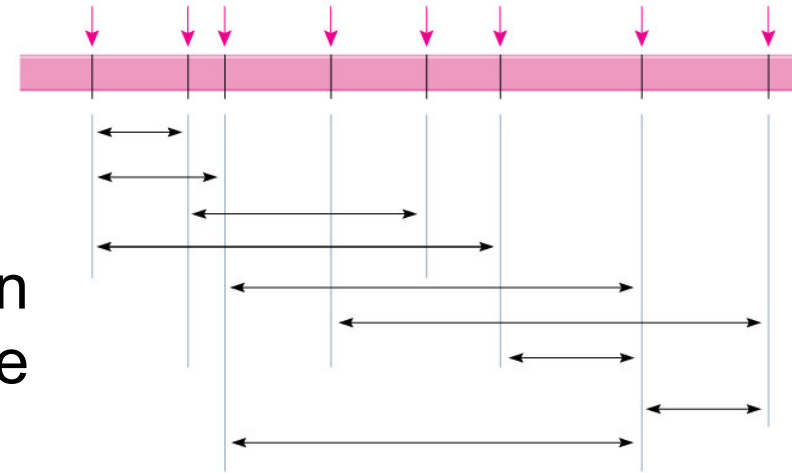
In Bakterien werden diese YACs als Plasmide vermehrt (zirkularisiert über die Telomer Sequenzen)

b) A yeast artificial chromosome (YAC) vector

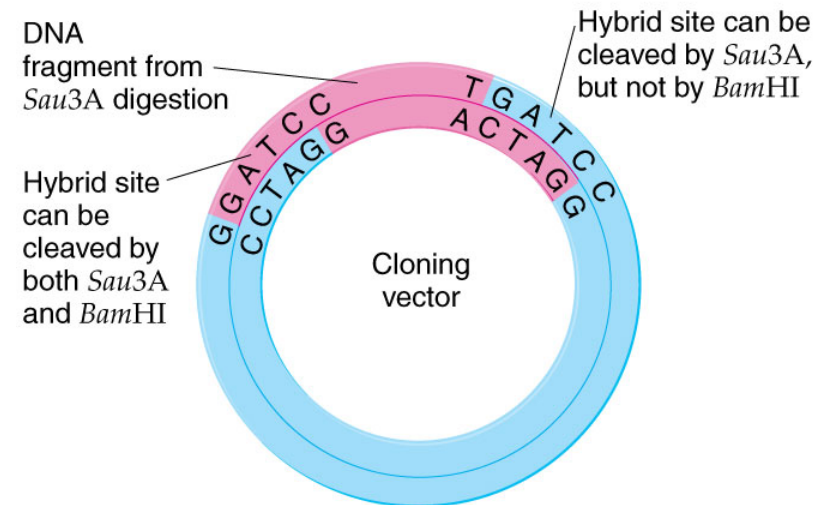


Genbanken:
Genomische DNA wird mit Restriktionsenzymen partiell verdaut und in einen Vektor (Plasmid, Bakteriophage Lambda, Cosmid) kloniert. Um sicher zu gehen, dass kein Fragment fehlt, müssen alle Fragmente mehrmals vorhanden sein.

a) Partial digestion of DNA by a restriction enzyme (for example *Sau3A*) generates a series of overlapping fragments, each with identical 5' GATC sticky ends



b) Resulting fragments may be inserted into *Bam*HI site of cloning vector



Wie viele Klone muss eine Genbank beinhalten?

Theoretisch: unendlich viele

Praktisch:

$$N = \ln(1-P) / \ln(1-f)$$

P= Wahrscheinlichkeit das alle Fragmente vorhanden sind

f= Insertgrösse/Genomgrösse

zB. 1.3 Mio Klone von 10kB decken das menschliche Genom zu
99% Wahrscheinlichkeit ab.

Oder 56.000 YAC Klone zu 260kB decken das menschliche
Genom zu 99% ab.

