

Biologie (Baden-Württemberg) ■ Abiturprüfung 2024
überarbeitet im Stil der neuen Abituraufgaben
Aufgabe I: Proteinstruktur, Neurophysiologie, Evolution

BE

Mit Insektiziden und Thermostift gegen Stechmücken

Weltweit gibt es mehr als 3 500 Stechmückenarten, eine davon ist die Südliche Hausmücke (*Culex quinquefasciatus*)

- | | | |
|------------|--|----------------|
| 1 | Nennen Sie die in Abbildung 2 dargestellten Strukturebenen des Proteins Apyrase und die sie jeweils stabilisierenden Wechselwirkungen bzw. Bindungen (M 1). | 6 |
| 2 | Geben Sie eine mögliche Erklärung für die Wirkung des lokalen Erhitzens auf molekularer Ebene (M 1). | 4 |
| 3.1 | Fertigen Sie eine beschriftete Skizze an (Größe ca. ½ Seite), die die Erregungsübertragung an einer erregenden Synapse vom Eintreffen eines Aktionspotenzials bis zur Erregung der nachgeschalteten Zelle darstellt. | 8 |
| 3.2 | Erläutern Sie die an Messstelle F (Abb. 4, M 2) abgeleitete Folge von Aktionspotenzialen auf molekularer Ebene. Stellen Sie das an Messstelle E abgeleitete Potenzial (M 2) in einem Diagramm dar. | 8 |
| 3.3 | Erläutern Sie anhand der Abbildungen 3 und 4 die Wirkungsweise eines Thermostifts (M 2). | 6 |
| 4 | Erläutern Sie die Entstehung der Resistenz im Sinne der synthetischen Evolutionstheorie (M 3). | <u>8</u>
40 |

Aufgaben und Materialien basieren auf den Original-Abituraufgaben des Kultusministeriums Baden-Württemberg

Nur die weiblichen Mücken stechen und saugen Blut. Hat die Mücke (Abb. 1) eine geeignete Stelle zum Blutsaugen gefunden, sticht sie mit ihrem Stechrüssel in die Haut, injiziert etwas Speichel und saugt anschließend Blut in ihren Verdauungstrakt. Der Speichel enthält einen Cocktail verschiedener lokal betäubender sowie gerinnungshemmender Proteine, z. B. Apyrase (Abb. 2).

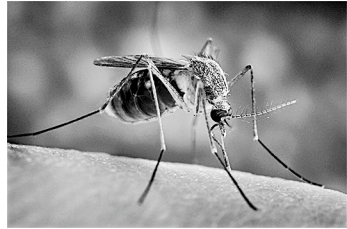


Abb. 1: Südliche Hausmücke
(*Culex quinquefasciatus*)
CDC/James Gathany

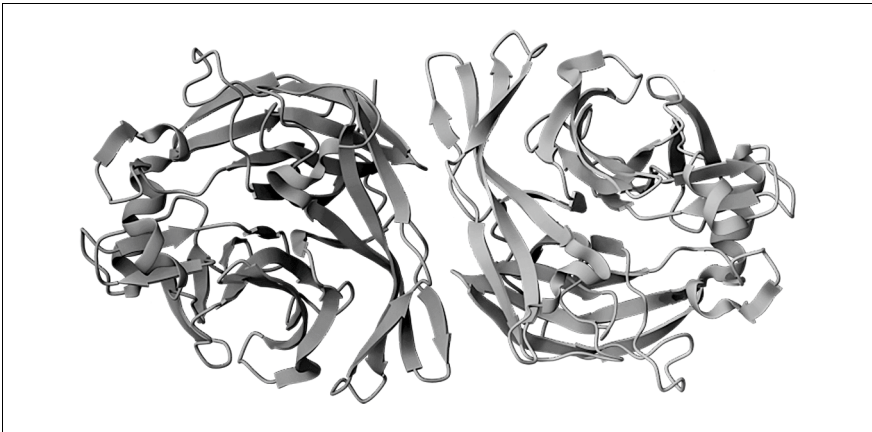


Abb. 2: Apyrase (Bändermodell)

EMBL-EBI, <https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/pdb/1s18>

Durch die Proteine wird eine lokale Entzündungsreaktion ausgelöst. Die typischen Symptome eines Mückenstichs an der Einstichstelle sind daher Juckreiz, Rötung und Schwellung. Sogenannte Thermostifte lindern den Juckreiz, indem sie die betroffene Stelle für drei bis fünf Sekunden auf ca. 55 °C erhitzen.

M 2 Neurobiologische Wirkung eines Thermostifts

Kurzfristige Effekte des Thermostifts lassen sich auch neurobiologisch erklären. Abbildung 3 zeigt schematisch einen solchen Erklärungsansatz für die Wirkungsweise eines Thermostifts, Abbildung 4 die an verschiedenen Messstellen abgeleiteten Potenziale.

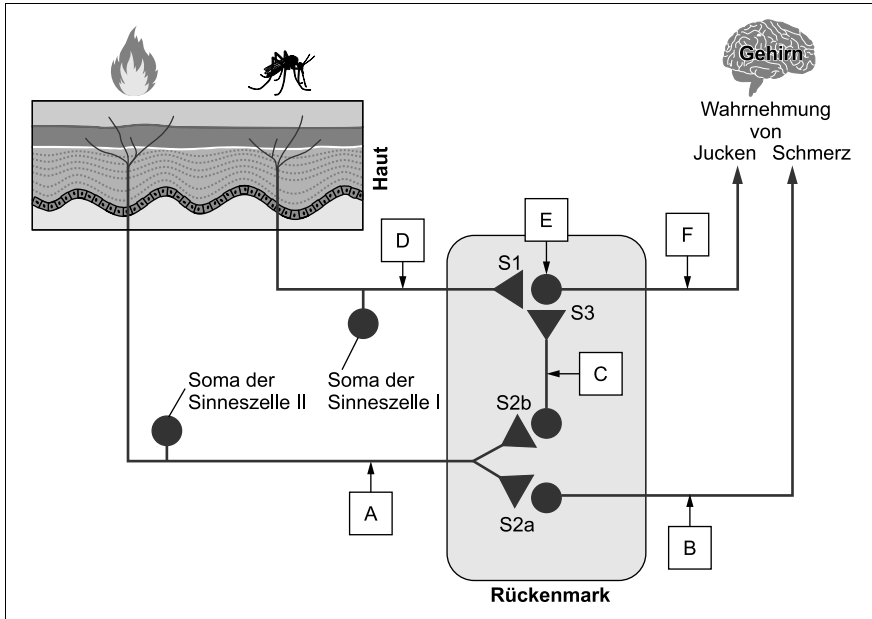


Abb. 3: Neurobiologische Wirkung eines Thermostifts (schematisch); neuronale Verschaltungen mit Synapsen S1 bis S3 und Messstellen A bis F

Verändert nach:

[https://journals.plos.org/plosone/article/figure?id=10.1371/journal.pone.0022665.g00?](https://journals.plos.org/plosone/article/figure?id=10.1371/journal.pone.0022665.g00?_Details) Details ergänzt mit Biorender.com; <https://app.biorender.com/illustrations/5ff40d2b76e8e800a82c670c>

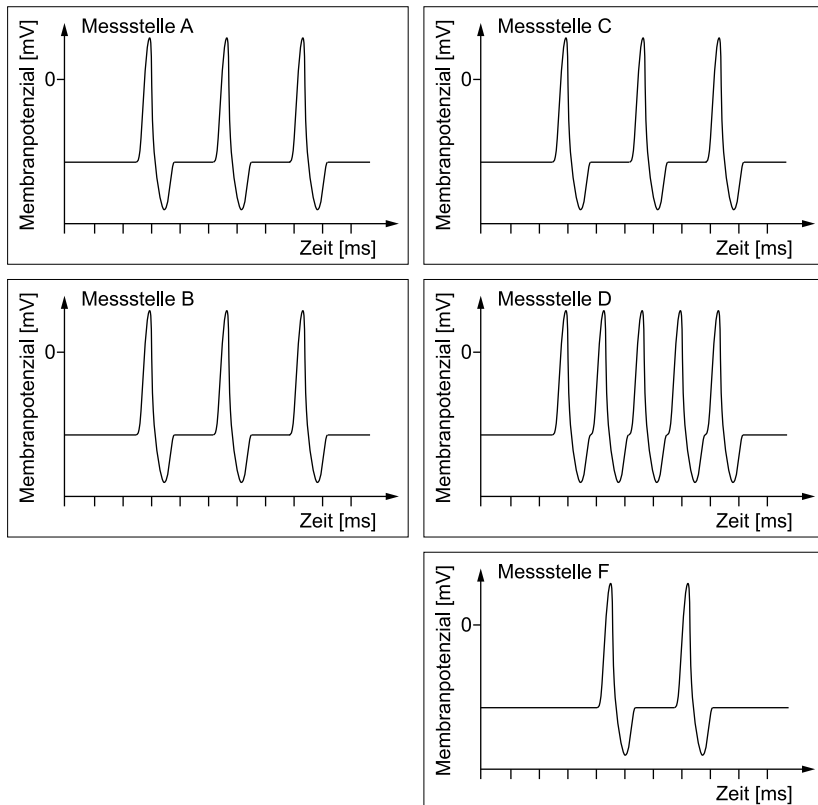


Abb. 4: An verschiedenen Messstellen abgeleitete Potenziale
Eigene Darstellung IBBW

M 3 Mit Insektiziden gegen Stechmücken

Zur Bekämpfung von Stechmücken werden Insektizide, z. B. Pyrethroide, eingesetzt. Diese blockieren spannungsgesteuerte Natriumionenkanäle in den Nervenzellen der Insekten. In Ländern mit Pyrethroid-Einsatz werden zunehmend gegen diese Wirkstoffe resistente Stechmücken beobachtet.

Lösungsvorschlag

- 1 **Nennung** der dargestellten Strukturebenen und der sie stabilisierenden Wechselwirkungen bzw. Bindungen:

TIPP Da die Primärstruktur lediglich die Abfolge der Aminosäuren einer Polypeptidkette und nicht deren räumlichen Aufbau beschreibt, wird hier von Ihnen auch nicht erwartet, dass Sie die Primärstruktur in Abb. 2 ansprechen oder die Peptidbindungen innerhalb der Primärstruktur nennen.

Strukturebene	Bindungen/stabilisierende Wechselwirkungen
Sekundärstruktur (alpha-Helix und beta-Faltblatt)	Wasserstoffbrücken zwischen C=O- und N-H-Gruppen des Peptidrückgrats (ohne Beteiligung der Aminosäurereste)
Tertiärstruktur	Disulfidbrücken, ionische Wechselwirkungen, Wasserstoffbrücken, LONDON- bzw. VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen (zwischen Aminosäureresten)
Quartärstruktur	Disulfidbrücken, ionische Wechselwirkungen, Wasserstoffbrücken, LONDON- bzw. VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen (zwischen Aminosäureresten)

- 2 Mögliche **Erklärung** für die lindernde Wirkung des lokalen Erhitzens:

TIPP In Abbildung 3 ist ein neurobiologischer Erklärungsansatz gezeigt, den Sie in Aufgabe 3.3 erläutern sollen, sodass an dieser Stelle eine andere mögliche Erklärung für die lindernde Wirkung des lokalen Erhitzens von Ihnen erwartet wird, z. B.:

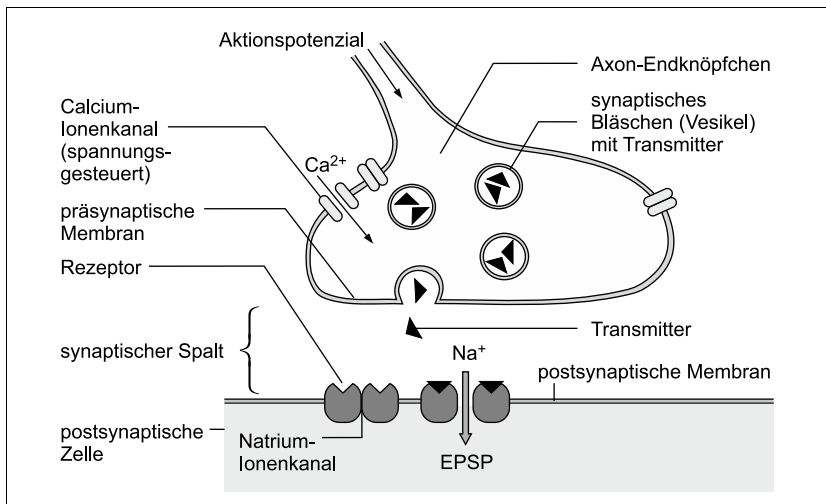
- Hohe Temperaturen (wie hier über 55 °C) führen dazu, dass durch zunehmende Molekularbewegungen v. a. schwache Anziehungskräfte wie Wasserstoffbrücken und hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den Aminosäure(reste)n eines Proteins aufgehoben werden, wodurch sich die Sekundär- und die Tertiärstruktur des Proteins verändert. Die im Speichel der Mücken enthaltenen Proteine könnten durch diese Veränderung der räumlichen Struktur (Konformation) ihre Juckreiz auslösende Wirkung verlieren.
- Ebenso könnten für die Erregungsentstehung und -leitung notwendige Proteine im Gewebe der gestochenen Person (z. B. Rezeptorproteine für Entzündungsmediatoren, Ionenkanäle freier Nervenendigungen in der Haut) durch die lokale Hitzeeinwirkung zeitweise so verändert werden, dass kein oder nur ein abgeschwächtes Signal zum Jucken das Gehirn erreicht und ein Kratzen auslöst.

- Im Zuge der Entzündungsreaktion ausgeschüttete Botenstoffe (z. B. Histamin) könnten durch die Hitze in ihrer chemischen Struktur so verändert oder in geringerem Umfang ausgeschüttet werden, dass sie kein Signal zum Jucken mehr auslösen.

TIPP Nur eine mögliche Erklärung der lindernden Wirkung durch lokales Erhitzen wird erwartet.

3.1 Schematische Skizze der Erregungsübertragung an einer erregenden Synapse:

TIPP Beachten Sie, dass Sie eine Skizze einer erregenden Synapse zeichnen sollen, aus der der molekulare Ablauf der Erregungsübertragung z. B. durch Pfeile und geeignete Symbole hervorgeht. Da nur der Ablauf vom Eintreffen des Aktionspotenzials bis zur Erregung der postsynaptischen Zelle dargestellt werden soll, ist das Skizzieren des Transmitter-Recyclings (Spaltung, Aufnahme ins Endknöpfchen, Resynthese und Speicherung) nicht erforderlich.



3.2 Erläuterung der an Messstelle F abgeleiteten Folge von Aktionspotenzialen:

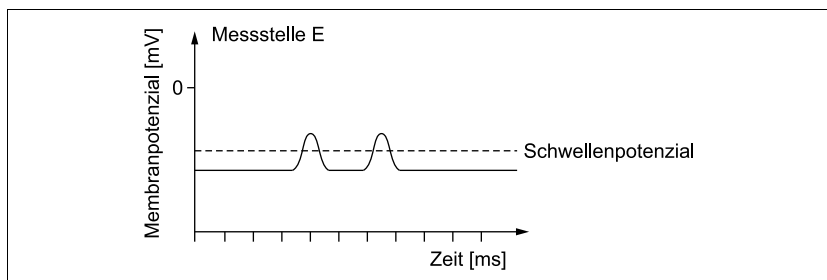
TIPP Für die Lösung der Aufgabe genügt die isolierte Analyse der Diagramme der Messstellen C, D und F (alle untereinander abgebildet) unter Berücksichtigung der in Abb. 3 dargestellten synaptischen Verschaltung (S1, S3) auf das Soma des afferenten Neurons, das die Information über den Mückenstich zum Gehirn führt.

An Messstelle F lassen sich in einem Zeitraum von 10 ms zwei Aktionspotenziale ableiten. Da die drei Aktionspotenziale des Interneurons (vgl. Diagramm Messstelle C) zur gleichen Zeit wie die Aktionspotenziale 1, 3 und 5 der Sinneszelle I (siehe Diagramm Messstelle D) postsynaptische Potenziale im Soma des afferenten Neurons bewirken, die summiert nicht zu einem Aktionspotenzial führen und da es bei alleiniger Aktivität der Synapse S1 (bei ca. 4 und 6,5 ms) offenbar zu einer überschwelligen Depolarisation und damit zu einer leicht verzögerten Auslösung der beiden an Messstelle F abgeleiteten Aktionspotenziale kommt, muss es sich bei der Synapse des Interneurons (S3), um eine **hemmende Synapse** handeln.

Die (geringe) Aktionspotenzial-Frequenz an Messstelle F lässt sich somit als **Verrechnung** (räumliche Summation) der postsynaptischen Potenziale der erregenden Synapse S1, die zur Öffnung von (ligandengesteuerten) Na^+ -Ionenkanälen und einem damit einhergehenden Na^+ -Ioneneinstrom (Depolarisation/EPSP) führt, und der hemmenden Synapse S3, die zu einer (ligandengesteuerten) Öffnung von Cl^- - bzw. K^+ -Ionenkanälen und einem damit einhergehenden Cl^- -Ioneneinstrom bzw. K^+ -Ionenaustrstrom (Hyperpolarisation/IPSP) führt, erklären. Das zeitgleiche Auftreten von EPSP und IPSP führt zu keiner bzw. einer nur unterschwelligen Depolarisation, die am Axonhügel **kein Aktionspotenzial** auslöst.

Darstellung des an Messstelle E abgeleiteten Potenzials:

TIPP Beachten Sie, dass sich die Messstelle E am Soma befindet. An der Membran des Somas können sich nur postsynaptische Potenziale (PSPs) mit unterschiedlich hoher Amplitude bilden, aber keine Aktionspotenziale. Diese werden erst am Axonhügel aufgrund einer hohen Dichte an spannungsabhängigen Natriumionenkanälen ausgelöst und fortgeleitet (vgl. Diagramm Messstelle F). Bei intrazellulärer Ableitung an Messstelle E (wovon Sie aufgrund der Diagramme von Messstelle A bis F ausgehen können), kommt es zu einem postsynaptischen Potenzialverlauf mit zweimaliger Überschreitung des Schwellenwerts zeitlich jeweils kurz vor den beiden im Diagramm der Messstelle F dargestellten Aktionspotenzialen:



3.3 Erläuterung der neurobiologischen Wirkungsweise eines Thermostifts:

TIPP Da es sich bei Abb. 3 um ein komplexes Schema neuronaler Verschaltung handelt, sollten Sie sich zunächst über die dargestellten Strukturen klar werden. Abgebildet sind zwei Sinneszellen (I & II) mit freien Nervenendigungen in der Haut und synaptischer Verschaltung im Rückenmark auf (afferente) Neurone, die zum Gehirn führen. Sinneszelle II schaltet dabei noch über eine zweite Synapse (S2b) auf ein Interneuron im Rückenmark, das seinerseits über die Synapse S3 auf das Soma des afferenten Neurons einwirkt, das die Information über den Mückenstich an das Gehirn weiterleitet.

Wirken auf eng benachbarte Stellen der Haut parallel ein thermischer Reiz und ein Mückenstich ein, so wird Sinneszelle I durch den Stich und Sinneszelle II durch die Einwirkung des Thermostifts erregt. Die Erregung von Sinneszelle II wird über die Synapse S2a im Rückenmark auf ein (afferentes) Folgeneuron verschaltet, das die Erregung zum Gehirn weiterleitet, wodurch es dort zu einer Schmerzwahrnehmung kommt. Gleichzeitig wird an der Synapse S2b die Erregung auf ein (Inter-)Neuron im Rückenmark mit hemmender Synapse S3 übertragen. Durch **räumliche Summation** der über die Synapse S1 vermittelten erregenden postsynaptischen Potenziale mit den über die Synapse S3 ausgelösten hemmenden postsynaptischen Potenziale kommt es zu einer **Verminderung der Aktionspotenzialfrequenz**, die zum Gehirn geleitet wird und damit zu einer verminderten (bzw. keiner) Wahrnehmung des durch den Mückenstich hervorgerufenen Juckens.

4 Erläuterung der Entstehung pyrethroid-resistenter Stechmücken:

TIPP Gerichtete Veränderungen innerhalb einer Population lassen sich im Sinne der Synthetischen Evolutionstheorie mithilfe der Begriffe Mutation, Rekombination, Selektion und Allelfrequenz erklären.

Auszugehen ist von einer genetischen Variabilität innerhalb einer Stechmücken-Population, die durch **Mutation** und **Rekombination** (Neukombination des Erbguts bei der sexuellen Fortpflanzung) bedingt ist. Durch Mutation(en) im Gen für den spannungsgesteuerten Na⁺-Ionenkanal traten Individuen innerhalb der Population auf, bei denen Phyrethroide weniger gut oder gar nicht an spannungsgesteuerte Natriumionenkanäle binden und diese blockieren konnten. Die betroffenen Tiere hatten einen **Selektionsvorteil**, da sie den Insektizid-Einsatz überlebten und somit einen höheren Fortpflanzungserfolg, d. h. mehr ebenfalls phyrethroid-unempfindliche Nachkommen (höhere reproduktive Fitness) hatten. Somit stieg von Generation zu Generation die **Frequenz der Allele** für phyrethroid-unempfindliche Na⁺-Ionenkanäle im Genpool der Mücken-Population an. Dies führte in Ländern, die dieses Insektizid immer wieder über einen längeren Zeitraum anwandten zu Stechmücken, die gegen den Einsatz von Phyrethroiden resistent sind (transformierende Selektion).

Biologie (Baden-Württemberg) ■ Abiturprüfung 2024
überarbeitet im Stil der neuen Abituraufgaben
Aufgabe II: Enzymatik, Molekulargenetik, Plasmidtechnik, Genregulation

BE

Ohne Enzyme kein Käse

Zur Käseherstellung versetzt man in einem ersten Arbeitsschritt Milch mit einem enzymhaltigen Extrakt (Lab). Dies führt zum Verklumpen von Milcheiweißen – es entsteht Käsebruch, der gepresst und gesalzen wird und zu Käse heranreift.

- | | |
|---|---|
| 1.1 Benennen Sie die in Abbildung 2 mit den Ziffern 1 bis 8 versehenen Strukturen (M 1). | 4 |
| 1.2 Stellen Sie die Schritte der Bildung und des Transports des Pro-Chymosins ausgehend vom Gen bis zur Exocytose in Form eines Verlaufsschemas dar. Ordnen Sie in Ihrer Darstellung den Schritten die jeweiligen Zellstrukturen zu (M 1). | 8 |
| 2 Stellen Sie unter Verwendung von Abb. 3 die Produkte nach Einwirken des Chymosins dar (M 2). | 4 |
| 3.1 Nennen Sie die grundlegenden Schritte der Plasmidtechnik zur Herstellung einer Kultur gentechnisch veränderter Bakterien. | 4 |
| 3.2 Begründen Sie, welche der in den Abbildungen 4a bzw. 4b genannten Restriktionsenzyme für die Herstellung eines geeigneten rekombinanten Plasmids verwendet werden können und welche nicht (M 3). | 6 |
| 4.1 Stellen Sie anhand beschrifteter Schemazeichnungen dar, wie Laktose die Expression des modifizierten Gens im steuerbaren Plasmid auslöst (M 4). | 8 |
| 4.2 Begründen Sie, dass zur Produktion des wirksamen Chymosins durch eine Kultur transgener Bakterien ein steuerbares Plasmid eingesetzt werden sollte (M 2, M 4). | 6 |

6
40

Aufgaben und Materialien basieren auf den Original-Abituraufgaben des Kultusministeriums Baden-Württemberg

M 1**Zellen des Labmagens produzieren Pro-Chymosin**

Lab enthält das Enzym Chymosin, eine Protease, welche in Schleimhautzellen (Abb. 2) des Labmagens von Kälbern gebildet wird. Das zugehörige Pro-Chymosin-Gen codiert für eine Vorstufe (Pro-Chymosin) des Chymosins. Durch Exocytose gelangt das Pro-Chymosin in das saure Milieu des Magens und wird dort durch Abspaltung eines Teiles der Aminosäurekette in das wirksame Enzym Chymosin umgewandelt.



Abb. 1: Lab

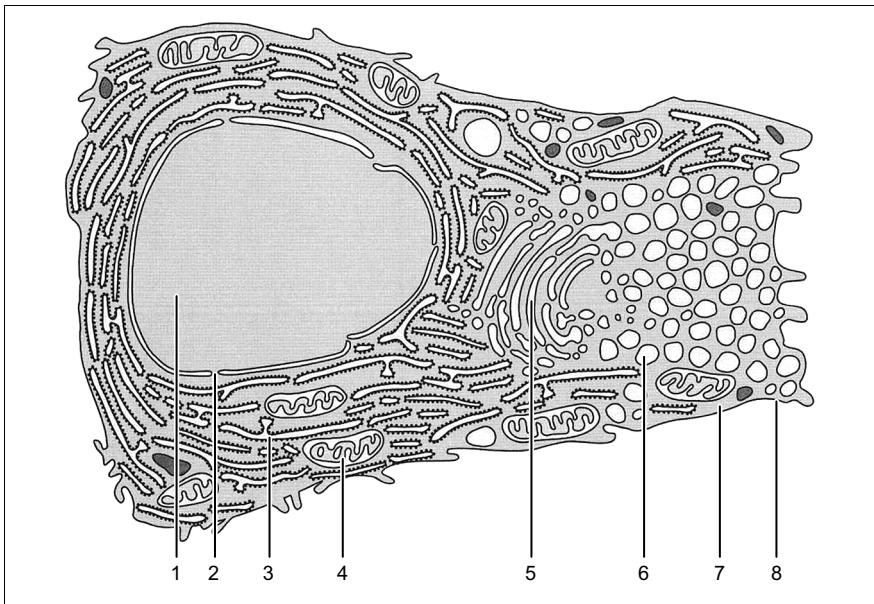


Abb. 2: Schleimhautzelle des Labmagens (schematisch)

Verändert nach <https://www.poja-collection-microscopic-anatomy.com/411---poja-l39942917.html>

M2 Enzymatische Wirkung von Chymosin

Chymosin ist eine Protease. Sie katalysiert spezifisch die hydrolytische Spaltung von Peptidbindungen zwischen den Aminosäuren Phenylalanin (Phe) und Methionin (Met).

Im Kälbermagen wird durch die katalytische Wirkung des Chymosins der polare Teil der Muttermilcheiweiße (Aminosäuren 106–169), welcher die Wasserlöslichkeit der Milcheiweiße ermöglicht, abgetrennt. Dies führt zur Verklumpung und somit zu einer besseren Verdaubarkeit der Milcheiweiße. Abbildung 3 zeigt einen molekularen Ausschnitt aus der Polypeptidkette des Milcheiweißes.

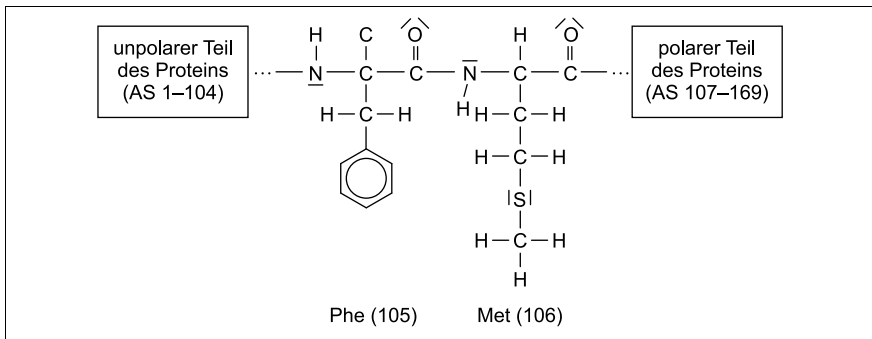


Abb. 3: Molekularer Ausschnitt der Polypeptidkette des Milcheiweißes
Eigene Darstellung IBBW

M3 Gentechnische Herstellung von Pro-Chymosin

In der industriellen Käseproduktion wird gentechnisch hergestelltes Pro-Chymosin genutzt. Dazu werden z. B. Bakterien der Art *Escherichia coli* (*E. coli*) gentechnisch so verändert, dass sie Pro-Chymosin im großen Maßstab produzieren können. Die Abbildungen 4a und 4b zeigen den Aufbau des dafür verwendeten DNA-Fragments mit dem Pro-Chymosin-Gen und des Plasmids mit den jeweiligen Schnittstellen für verschiedene Restriktionsenzyme.

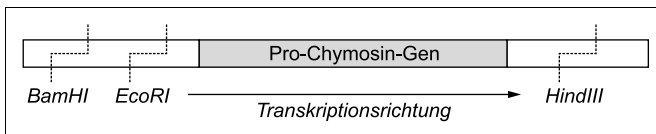


Abb. 4a: Aufbau des DNA-Fragments
Eigene Darstellung IBBW

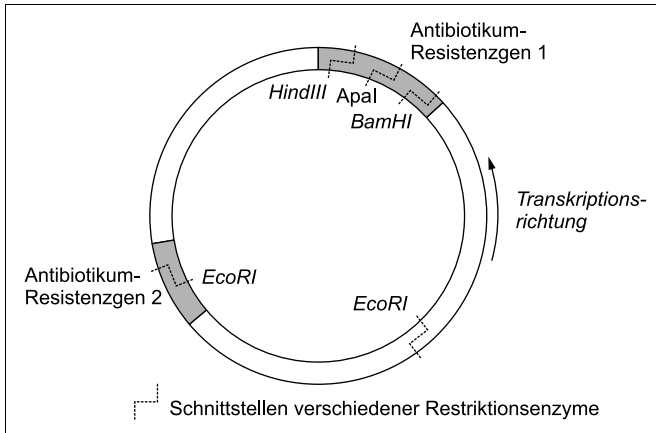


Abb. 4b: Plasmid (schematische Darstellung)

Eigene Darstellung IBBW

M 4 Induktion der Genexpression durch Laktose

Um auf die Aktivierung des Pro-Chymosins durch Säure verzichten zu können, wäre alternativ auch eine direkte Herstellung des wirksamen Chymosins unter Verwendung eines entsprechend modifizierten Gens denkbar. In diesem Fall würde ein steuerbares Plasmid (Abb. 5) eingesetzt werden, welches zusätzlich den lac-Promotor mit lac-Operator sowie das entsprechende Regulatorgen aufweist. Durch Zugabe von Laktose kann dadurch die Genexpression des modifizierten Gens induziert werden.

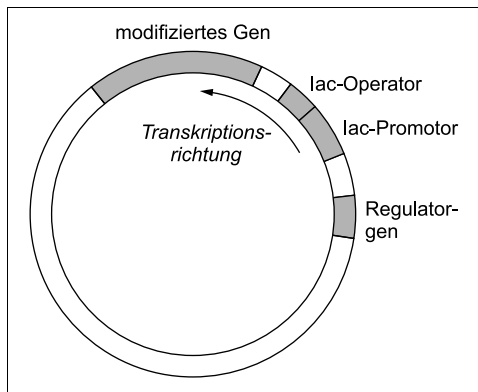


Abb. 5: Steuerbares Plasmid

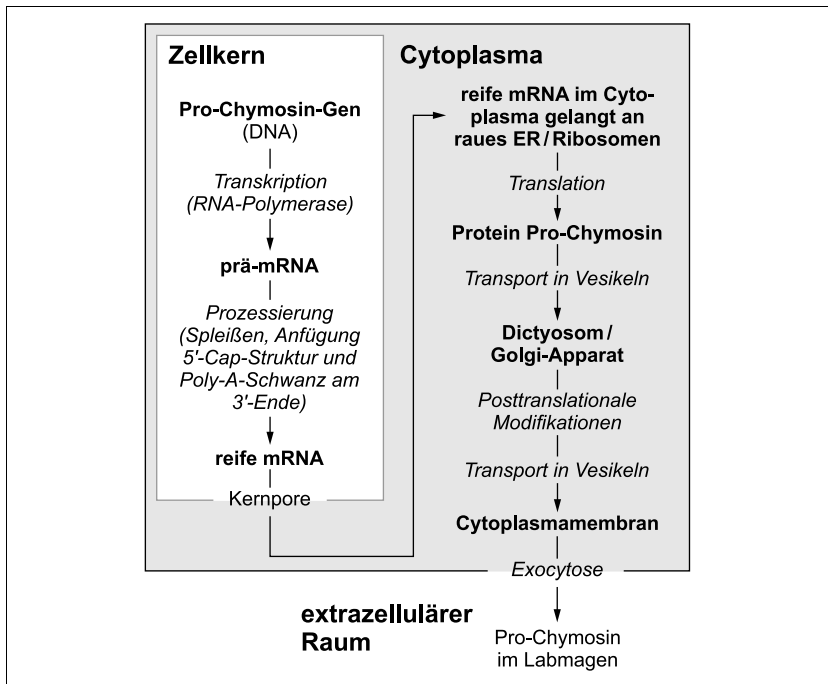
Eigene Darstellung IBBW

1.1 Benennung der bezifferten Strukturen:

TIPP Auch wenn in Ihrem Kursstufenunterricht elektronenmikroskopische Bilder von Eucyten wahrscheinlich nicht explizit behandelt wurden, müssen Sie dennoch damit rechnen, dass Grundkenntnisse über den Bau von Zellen als elementare Voraussetzungen abgeprüft werden können.

- 1 Zellkern *oder* Karyoplasma
- 2 Kernpore
- 3 raues endoplasmatisches Reticulum
- 4 Mitochondrium
- 5 Dictyosom *oder* Golgi-Apparat/-Zisterne
- 6 Vesikel
- 7 Cytoplasma
- 8 Zellmembran

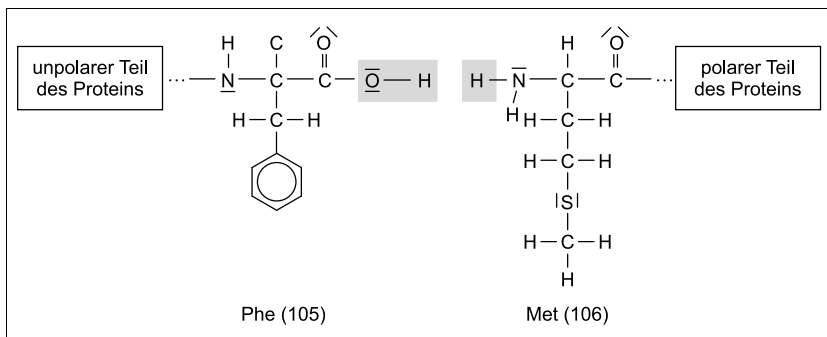
1.2 Darstellung des Zusammenwirkens der Zellorganellen bei der Bildung und dem Transport des Pro-Chymosins aus der Zelle als Verlaufsschema:



TIPP Der Operator „darstellen“ ermöglicht Ihnen im Allgemeinen eine breite Palette der Strukturierung von Zusammenhängen (z. B. Zeichnung, Skizze, Tabelle, Fließdiagramm). Hier sollen Sie ein Verlaufsdiagramm mit eindeutig definiertem Anfang (Pro-Chymosin-Gen) und Ende (Exocytose des Pro-Chymosin-Proteins in den Labmagen) anfertigen. Weitergehende grafische Ausfertigungen (z. B. einzelner beteiligter Zellorganellen) sind nicht gefordert und würden Sie nur Zeit kosten.

2 Darstellung der Produkte nach Einwirkung von Chymosin:

TIPP Beachten Sie, dass nur die Darstellung der Produkte der Enzymreaktion nicht die Verdeutlichung des gesamten Vorgangs der Hydrolyse (d. h. Spaltung der Peptidbindung unter Reaktion mit Wasser) gefordert ist.



3.1 Nennung der grundlegenden Schritte der Plasmidtechnik:

- I Isolierung (bzw. synthetische Herstellung) des gewünschten Fremdgens (in der Regel bereits prozessierte/gespleißte mRNA, die mittels reverser Transkriptase in cDNA umgeschrieben wird) sowie geeigneter Plasmide aus Bakterien.
- II Herstellung eines rekombinanten Plasmids, das das Fremdgen enthält (Schneiden mit Restriktionsenzymen und Rekombination mit Ligase).
- III Übertragung des rekombinanten Plasmids auf Bakterien (Transformation).
- IV Selektion der transgenen Bakterien (d. h. der Bakterien, die ein rekombinantes Plasmid aufgenommen haben).

3.2 Begründung der (Nicht-)Verwendbarkeit der abgebildeten Restriktionsenzyme zur Herstellung eines geeigneten rekombinanten Plasmids.

TIPP Für die Selektion erfolgreich transformierter Bakterien soll hier das Prinzip der Markerinaktivierung zum Einsatz kommen: In zwei Schritten werden die Bakterien auf Nährböden mit jeweils unterschiedlichem Antibiotikum kultiviert. Dabei werden zunächst die Bakterien selektiert, die überhaupt ein Plasmid aufgenommen haben (wozu auf diesem ein intaktes Antibiotikum-Resistenzgen vorliegen muss) und in einem zweiten Schritt die Bakterien mit einem Plasmid ohne Fremdgen. Aus dem Vergleich der Lage der Kolonien auf den Nährböden lassen sich die Bakterien identifizieren, die ein rekombinantes Plasmid (d. h. eines mit einem durch den Einbau des Fremdgens defekten Antibiotikum-Resistenzgen) aufgenommen haben.

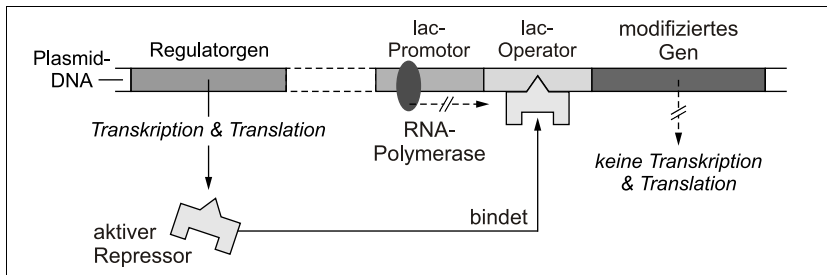
Für die Verwendbarkeit von Restriktionsenzymen ist entscheidend, ...

- dass sowohl in dein (Spender-)DNA-Fragment als auch im Plasmid überhaupt entsprechende Schnittstellen vorliegen,
- dass das gewünschte Fremdgen aus dem DNA-Fragment mit einer Kombination aus Restriktionsenzymen erfolgreich ausgeschnitten werden kann, und schließlich,
- dass der Einbau des Fremdgens in nur ein Antibiotikum-Resistenzgen erfolgt, sodass eine erfolgreiche Selektion der transformierten Bakterien möglich ist.

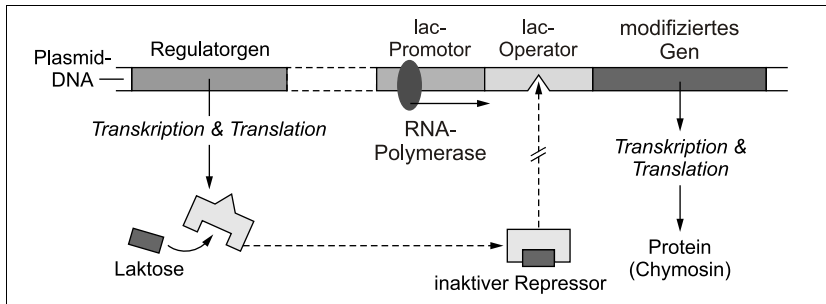
Diese Kriterien treffen nur für die Verwendung der Kombination der beiden Restriktionsenzyme **HindIII** und **BamHI** zu. Bei jeder Kombination mit EcoRI würde sowohl im Antibiotikum-Resistenzgen 1 als auch im Antibiotikum-Resistenzgen 2 geschnitten, wodurch die Selektion transformierter Bakterien (d. h. Bakterien, die ein Plasmid aufgenommen haben) nicht mehr möglich wäre. Bei dem Einsatz einer Kombination mit dem Restriktionsenzym Apal läge nur eine Schnittstelle im Plasmid, aber nicht im DNA-Fragment vor, sodass das Fremdgen nicht erfolgreich aus dem DNA-Fragment herausgeschnitten werden könnte.

4.1 Schematische **Darstellung** der laktosegesteuerten Expression des modifizierten Gens:

a ohne Laktose



b bei Zugabe von Laktose



4.2 Begründung des Einsatzes eines steuerbaren Plasmids für die Produktion von Chymosin:

Aus M 2 geht hervor, dass es sich bei Chymosin um eine Protease handelt, die die Peptidbindung zwischen den Aminosäuren Phenylalanin (Stelle 105) und Methionin (Stelle 106) von Milcheiweiß spaltet. Chymosin ist somit eine Endopeptidase. Unter der Annahme, dass in zahlreichen anderen Eiweißen der transgenen Bakterien auch Bindungen zwischen Phenylalanin und Methionin bestehen und dass Chymosin von den Bakterien nicht bzw. nicht unmittelbar ins extrazelluläre Medium geschleust wird, könnte es bei kontinuierlicher, nicht steuerbarer Expression somit zu einem unspezifischen Eiweißverdau kommen, der die transgenen Bakterien frühzeitig abtötet. Diese könnten sich somit nicht mehr vermehren und das modifizierte Gen, das für Chymosin codiert, klonieren.

Eine gentechnische Gewinnung des wirksamen Chymosins mithilfe von transgenen Bakterien erfordert also ein Plasmid, das erst nach ausreichender Vervielfältigung der transgenen Bakterien (in Fermentern) durch Substratzugabe (hier: Laktose) gezielt zur Expression des modifizierten Gens veranlasst werden kann.

Biologie (Baden-Württemberg) ■ Abiturprüfung 2024
überarbeitet im Stil der neuen Abituraufgaben
Aufgabe III: Molekulargenetik, Evolution

BE

Mit (neuartigen) Antibiotika gegen Harnwegsinfekte

Uropathogene Bakterien verursachen häufig Blasenentzündungen und andere Harnwegsinfekte.

- | | | |
|----------|---|----------------|
| 1 | Erstellen Sie eine beschriftete Schemazeichnung des elektronenmikroskopischen Bildes einer Bakterienzelle (Größe ca. ½ Seite) und nennen Sie zwei wesentliche Unterschiede gegenüber eukaryotischen Zellen. | 6 |
| 2 | Beschreiben Sie mithilfe von Abbildung 2 die Transkription in Bakterienzellen und geben Sie eine mögliche Erklärung für die antibiotische Wirkungsweise des Rifamycins auf molekularer Ebene (M 1). | 8 |
| 3 | Erläutern Sie den Zusammenhang zwischen dem übermäßigen Einsatz von Antibiotika und der Entstehung resistenter Bakterienpopulationen (M 2). | 6 |
| 4 | Erläutern Sie, wie der Wirkstoff die Vermehrung der uropathogenen Bakterien hemmt, und geben Sie eine mögliche Erklärung, warum durch den Wirkstoff menschliche Zellen nicht geschädigt werden (M 2). | 6 |
| 5 | Begründen Sie mithilfe von Abbildung 4, dass PNA-Moleküle anstelle von RNA-Molekülen als Wirkstoff eingesetzt werden können. Geben Sie eine mögliche Erklärung für die längere Wirkdauer von PNA-Wirkstoffen im Vergleich zu RNA-Wirkstoffen (M 3). | 6 |
| 6 | Beschreiben Sie die in Abbildung 6 dargestellten Versuchsergebnisse und werten Sie diese hinsichtlich der Fragestellung aus. Erläutern Sie dabei auch die Notwendigkeit der Ansätze 1 B und 2 B (M 4). | <u>8</u>
40 |

Aufgaben und Materialien basieren auf den Original-Abituraufgaben des Kultusministeriums Baden-Württemberg

M 1**Angriffspunkt des Antibiotikums Rifamycin**

Zu den uropathogenen Bakterien gehören unter anderem *Escherichia coli* und *Enterococcus faecalis* (Abb. 1). Gegen die bakteriellen Erreger wird im Körper eine Immunantwort ausgelöst. Trotz der ablaufenden Immunantwort müssen Urogenitalinfektionen häufig mit Antibiotika behandelt werden. Abbildung 2 zeigt die Vorgänge der Transkription in Bakterienzellen und die Angriffsstelle des Antibiotikums Rifamycin.

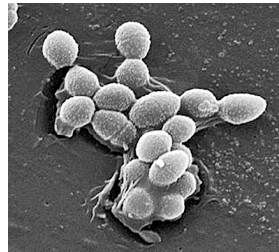


Abb. 1: *Enterococcus faecalis*
Janice Haney Carr; CDC/
Pete Wardell

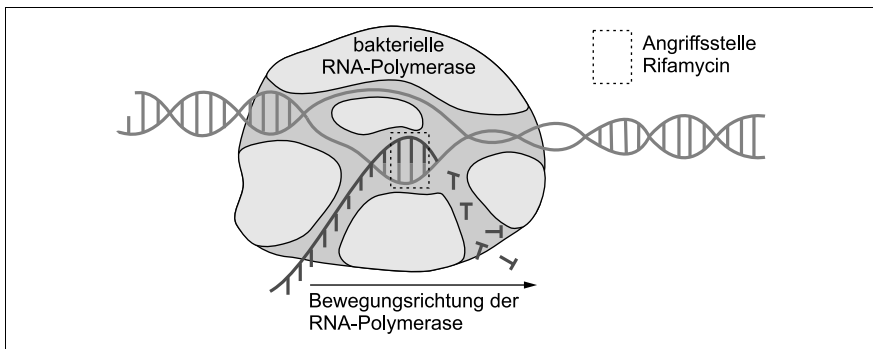


Abb. 2: Transkription in Bakterienzellen und Angriffsstelle des Antibiotikums Rifamycin
Eigene Darstellung IBBW

Durch den übermäßigen Einsatz von Antibiotika in verschiedenen Bereichen haben sich im Laufe der Jahre resistente Bakterienpopulationen gegen viele Antibiotika gebildet. Diese resistenten Bakterien zu bekämpfen, stellt für die medizinische Forschung eine enorme Herausforderung dar.

Forscherinnen und Forscher der Universität Würzburg haben in Experimenten an uropathogenen Bakterien getestet, ob sich auch RNA-Moleküle als neuartige Antibiotika gegen Bakterien einsetzen lassen. Im Experiment wurde eine Technik untersucht, welche die Lipidsynthese bei Bakterien unterbinden soll. Im bakteriellen Lipidsyntheseprozess spielt das Protein ACP eine Schlüsselrolle. Abbildung 3 zeigt einen Ausschnitt der Basenabfolge der mRNA für das ACP-Protein sowie den eingesetzten RNA-Wirkstoff.

Ausschnitt der mRNA für das ACP-Protein:

5' ... UAGGAAAUUUAAGAGUAUGAGCACUAUCGAAG ... 3'

RNA-Wirkstoff:

3' UCUCAUACUC 5'

Abb. 3: Basenabfolgen der mRNA und des RNA-Wirkstoffs

Eigene Darstellung IBBW

M3 PNAs statt RNAs verlängern die Wirkdauer

In einer Weiterentwicklung der Therapie werden anstelle des RNA-Wirkstoffs künstlich hergestellte Peptide-Nucleic-Acids (PNAs) eingesetzt (Abb. 4). Diese weisen eine längere Wirkdauer auf.

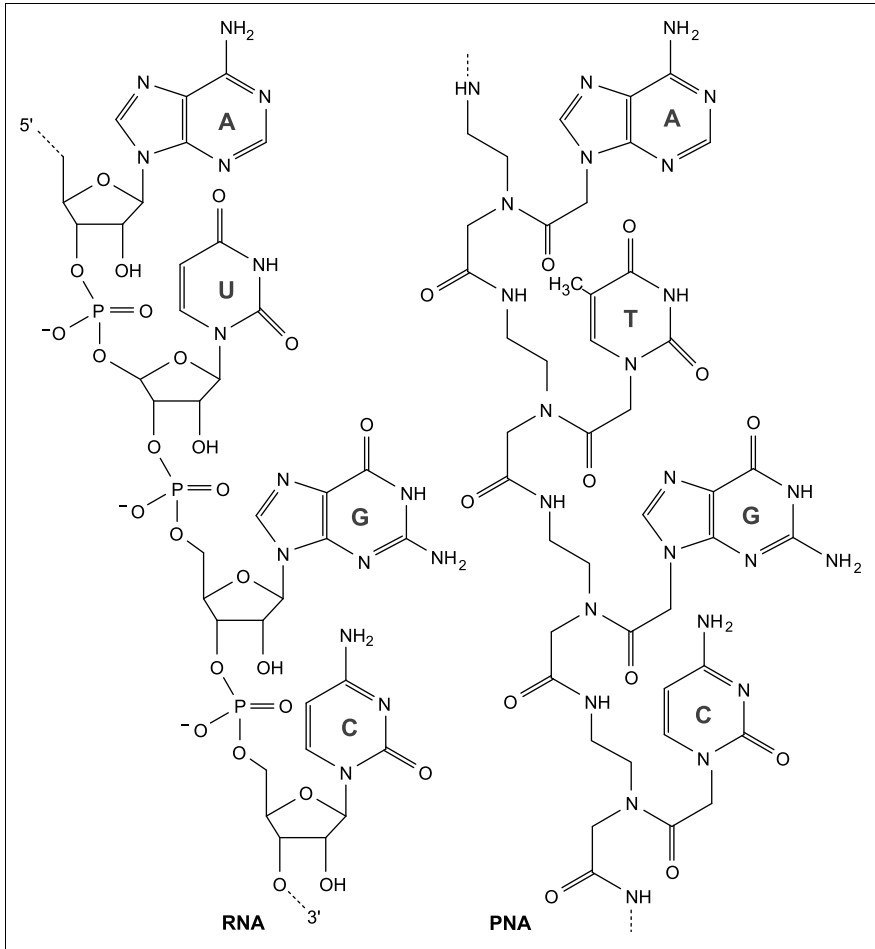


Abb. 4: Ausschnitt aus einer RNA und aus einer PNA

M4 Forschung an „Transfermolekülen“ für PNAs

Um PNAs besser in Bakterienzellen einschleusen zu können, werden sie an zelldurchdringende Peptide (Cell-Penetrating-Peptide, CPP) gekoppelt (Abb. 5). In einer Versuchsreihe wurde die Wirksamkeit von zwei verschiedenen CPPs (CPP1 und CPP2) an uropathogenen Bakterien getestet. Die Bakterien wurden in Flüssigmedium kultiviert und verschiedene Konzentrationen der jeweiligen CPP-gekoppelten PNAs bzw. der jeweiligen CPPs wurden dem Medium hinzugefügt. Anschließend wurde das Wachstum der Bakterien untersucht (Abb. 6).

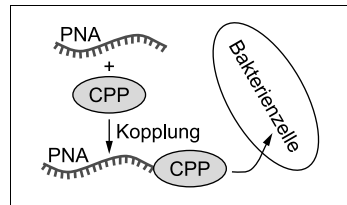


Abb. 5: Kopplung von PNA und CPP
Verändert nach Popella, L. (2022); in *Nucleic Acids Research* 50(11): S. 6 435–6 452

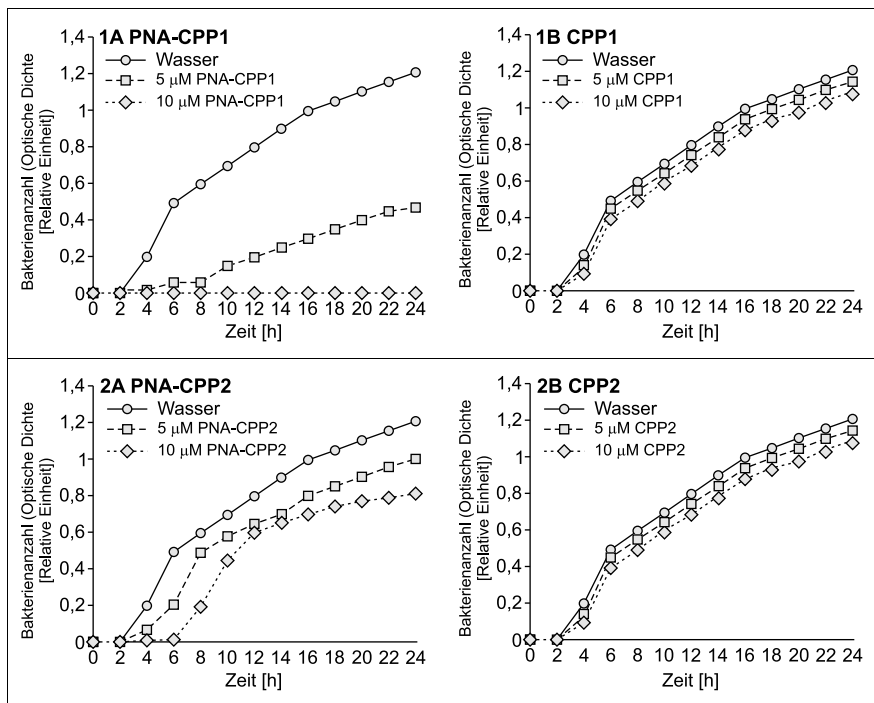
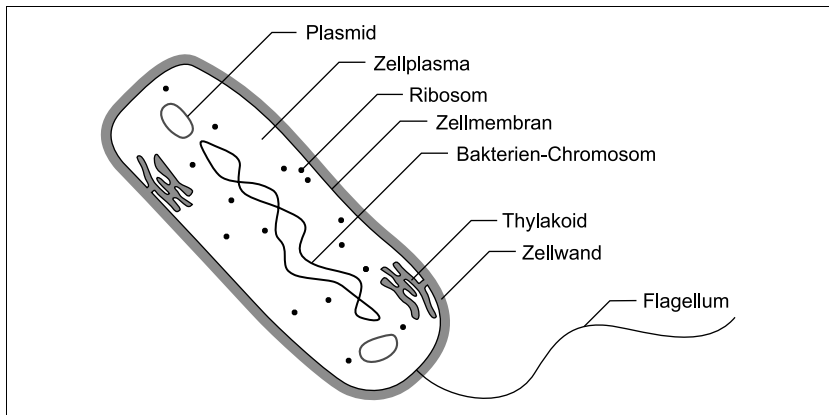


Abb. 6: Wachstum der Bakterienkulturen nach Behandlung mit CPP-gekoppelter PNA oder CPP

Quelle: Linda Popella, Jakob Jung, Phuong Thao Do, Regan J Hayward, Lars Barquist, Jörg Vogel: Comprehensive analysis of PNA-based antisense antibiotics targeting various essential genes in uropathogenic *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Research*, Volume 50, Issue 11, 24 June 2022, Pages 6 435–6 452, <https://doi.org/10.1093/nar/gkac362>

1 Schemazeichnung einer Bakterienzelle:

TIPP Neben einem meist zirkulären Bakterien-Chromosom besitzen alle Bakterien Zellplasma, eine Zellmembran und Ribosomen (Minimalskizze). Die meisten Bakterien haben zudem eine Zellwand (Ausnahme z. B. Myco- und Thermoplasmen) und Plasmide (extrachromosomale kleine, doppelsträngige DNA-Moleküle). Einige Bakterienarten verfügen über eine oder mehrere Flagellen (extrazelluläre Proteinfäden) sowie Thylakoide (Einstülpungen der Zellmembran).



Nennung wesentlicher Unterschiede einer Bakterienzelle gegenüber eukaryotischen Zellen:

- ringförmige DNA
- kein Zellkern (Bereich um das Bakterienchromosom wird als Kernäquivalent bezeichnet)
- keine membranbegrenzten Organellen (z. B. Mitochondrien, Golgi-Apparat, ER)

weitere Unterschiede:

- 70S-Ribosomen
- Zellwand (falls vorhanden) aus Murein bzw. Pseudomurein
- Flagellen (falls vorhanden) als extrazelluläre Proteinfäden

TIPP Nur die Nennung von zwei wesentlichen Unterschieden ist verlangt.

2 Beschreibung der bakteriellen Transkription:

TIPP Zur Verbesserung der Übersichtlichkeit empfiehlt es sich, diesen komplexen Vorgang in die drei Abschnitte Initiation (Start), Elongation (Verlängerung des RNA-Strangs) und Termination (Beendigung der Transkription) zu gliedern:

- **Initiation:** Die bakterielle RNA-Polymerase gleitet am DNA-Doppelstrang entlang. Sie erkennt die Startsequenz der Transkription (Promotor) und bindet an diese, entspiralisiert einen kurzen Abschnitt der DNA-Doppelhelix und beginnt durch Lösen der Wasserstoffbrücken zwischen den Basenpaaren den DNA-Doppelstrang in zwei komplementäre Einzelstränge zu trennen.
- **Elongation:** Freie RNA-Nucleotide lagern sich komplementär an den codogenen Strang an und werden durch die RNA-Polymerase zu einem mRNA-Einzelstrang verknüpft. Die RNA-Polymerase bewegt sich weiter entlang des DNA-Doppelstrangs und das wachsende RNA-Molekül löst sich von seiner DNA-Matrize ab und ragt zunehmend aus der RNA-Polymerase heraus. Die zuvor getrennten DNA-Einzelstränge verbinden sich beim Austritt aus der RNA-Polymerase wieder zum Doppelstrang.
- **Termination:** Erreicht die RNA-Polymerase eine spezifische Nucleotidsequenz auf der DNA (Terminationssequenz), wird sowohl die DNA als auch die mRNA freigesetzt.

Mögliche **Erklärung** für die antibiotische Wirkungsweise von Rifamycin:

TIPP Prinzipiell bieten alle drei oben genannten Ebenen der Transkription Ansatzpunkte für Medikamente. Für Ihre Erklärung sind jedoch folgende Aspekte zu berücksichtigen:

- Die in Abb. 2 markierte Angriffsstelle von Rifamycin grenzt mögliche Erklärungen auf den Vorgang der Elongation ein.
- Antibiotika setzen spezifisch an bakteriellen Strukturen/Mechanismen an, die so bei tierischen Zellen nicht vorkommen. Wirkungsweisen, die gleichermaßen die Elongation in menschlichen Zellen stören würden (z. B. durch Blockade der komplementären Anlagerung freier RNA-Nucleotide an den codogenen Strang oder durch eine Fehlpaarung), können somit nicht als mögliche Erklärung herangezogen werden.

Rifamycin blockiert das **katalytische Zentrum** der bakteriellen RNA-Polymerase, sodass keine Verknüpfung der RNA-Nucleotide erfolgen kann. Hierdurch wird die mRNA-Synthese gestört bzw. es bildet sich gar keine funktionsfähige mRNA. Die Synthese lebensnotwendiger Proteine der Bakterien kommt zum Erliegen, was zum Zelltod führt (bakterizide Wirkung).

3 Erläuterung der Entstehung resistenter Bakterienpopulationen durch übermäßigen Antibiotika-Einsatz:

TIPP Ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten resistenter Bakterienpopulationen und einem übermäßigen Antibiotika-Einsatz lässt sich im Wesentlichen durch das Zusammenwirken von Mutation und Selektion erklären.

Durch **Mutationen** (z. B. durch äußere Einflüsse oder im Zuge der bakteriellen Replikation) oder **Konjugation** (d. h. Übertragung von DNA zwischen Bakterien über eine temporäre Cytoplasmabrücke) entstehen in Bakterienpopulationen immer wieder zufällig Bakterien, die resistent gegen ein bestimmtes Antibiotikum sind. In einer antibiotika-freien Umgebung stellt dies für die resistenten Bakterien jedoch keinen Selektionsvorteil dar. Nur in Anwesenheit von Antibiotika haben resistente Bakterien einen **Selektionsvorteil** gegenüber nicht resistenten Bakterien. Nur ihnen ist es unter diesen Bedingungen möglich, sich und damit auch ihre Resistenzgene zu vermehren. Übermäßiger Antibiotika-Einsatz bewirkt also einen **Selektionsdruck**, der zur Entstehung resistenter Bakterienpopulationen führt (transformierende Selektion).

4 Erläuterung der Hemmwirkung der RNA-Moleküle auf die bakterielle Vermehrung:

TIPP Hierbei handelt es sich um ein Beispiel einer RNA-Interferenz. Auffällig dabei ist, dass die Basenabfolge des RNA-Wirkstoffs zu einer Sequenz der mRNA für das ACP-Protein komplementär ist, in der sich eine mögliche Startstelle der Translation (5' – AUG – 3') befindet. Aus Ihrem Unterricht ist Ihnen die RNA-Interferenz als natürliche Steuerung der Genaktivität in eukaryotischen Zellen bekannt bzw. als Instrument der Forschung, um gezielt Gene auszuschalten („Gen-Knock-down“).

Die Basenabfolge des RNA-Wirkstoffs ist komplementär zu einem Abschnitt der mRNA für das ACP-Protein und kann somit an diese Sequenz komplementär binden (*siehe folgende Abb.; nicht erforderlich*).

5' ... UAGGAAAUUUAAGAGUAUGAGCACUAUCGAAG ... 3'
3' UCUCAUACUC 5'

Hierdurch kommt es partiell zu einem RNA-RNA-Doppelstrang. Je nach Startstelle der Translation für das ACP-Protein auf der mRNA kann sich dadurch entweder der Initiationskomplex (aus kleiner ribosomaler Untereinheit, einzelsträngiger mRNA und Initiator-tRNA) nicht ausbilden, wodurch auch keine Translation der mRNA in eine Aminosäuresequenz erfolgen kann, oder die Elongation (Verlängerung der Aminosäurekette) stoppt an dieser Stelle, da der doppelsträngige RNA-Abschnitt nicht durch das Ribosom geführt werden kann. In beiden

Fällen kann kein funktionsfähiges oder nur ein eingeschränkt funktionierendes ACP-Protein gebildet werden. Infolgedessen können die uropathogenen Bakterien entweder keine oder nur vermindert lebensnotwendige Lipide (z. B. für die Cytoplasmamembran) mehr synthetisieren, was zu einem Stopp bzw. zu einer Hemmung des Bakterienwachstums (bakteriostatische Wirkung) führt.

Mögliche **Erklärung**, warum menschliche Zellen nicht geschädigt werden: ACP ist ein Protein, das ausschließlich bei Bakterien, nicht aber in menschlichen Zellen vorkommt. Eine zu dem RNA-Wirkstoff komplementäre Sequenz ist bei reifen mRNA-Molekülen des Menschen folglich nicht vorhanden, sodass menschliche Zellen nicht durch den neuartigen RNA-Wirkstoff geschädigt werden.

5 Begründung für den alternativen Einsatz von PNA- statt RNA-Molekülen als Wirkstoff:

PNA-Moleküle weisen einen zu RNA-Molekülen analogen Aufbau auf: An einem Rückgrat aus repetitiven Einheiten (RNA: Ribose-Phosphat, negativ geladen; PNA: über Peptidbindungen verknüpfte, ungeladene Monomere) sind Purin- (Adenin, Guanin) und Pyrimidinbasen (RNA: Uracil, Cytosin; PNA: Thymin, Cytosin) gebunden, die sich komplementär an eine mRNA anlagern und so deren Translation verhindern bzw. beeinträchtigen können.

Mögliche **Erklärung** für die längere Wirkdauer der PNA-Moleküle:

TIPP Zwei Unterschiede fallen beim Vergleich zwischen RNA- und PNA-Molekülen auf, die jeweils einen Erklärungsansatz für die längere Wirkdauer der PNA-Moleküle eröffnen: RNA besteht aus einem Zucker-Phosphat-Rückgrat, das (negativ) geladen ist, während PNA ein Rückgrat aus ungeladenen, über Peptidbindungen verknüpften Monomeren aufweist.

Der unterschiedliche biochemische Aufbau könnte ein Ansatzpunkt für spezifische Enzyme (hier: RNasen) sein. Die ungleiche Ladung könnte Unterschiede in den elektrostatischen Wechselwirkungen zur Folge haben.

- Im Gegensatz zur RNA besitzen die PNA-Moleküle kein Zucker-Phosphat-Rückgrat und können somit nicht spezifisch durch zelleigene RNasen enzymatisch abgebaut werden, sodass PNA-Moleküle über eine längere Wirkdauer verfügen.
- Durch das neutrale Rückgrat der PNA-Moleküle kommt es zu keiner Ladungsabstoßung, wenn diese komplementär mit ihrer (negativ geladenen) Ziel-Sequenz auf der mRNA hybridisieren, was den PNA-mRNA-Hybriden eine höhere Stabilität und damit Wirkdauer als den RNA-mRNA-Hybriden verleiht.

TIPP Nur eine mögliche Erklärung ist gefordert.

6 Beschreibung der Versuchsergebnisse:

TIPP Jedes der vier abgebildeten Diagramme zeigt die Ergebnisse einer Versuchsreihe (als Zunahme der Bakterienzahl über einen Zeitraum von 24 Stunden) aus jeweils drei Versuchsansätzen. Den Bakterien wurde dabei volumengleich Wasser oder eine unterschiedlich hohe Konzentration (5 und 10 μM) von CPP-gekoppelten PNAs (1 A und 2 A) bzw. von nicht mit PNA gekoppelten CPPs (1 B und 2 B) hinzugefügt. Die Versuchsansätze mit Wasser dienen jeweils als Kontrollansatz.

- **Versuchsreihe 1A:** Im Versuchsansatz mit Wasser (Kontrolle) lässt sich ab zwei Stunden nach Versuchsbeginn ein steiler Anstieg der Bakterienanzahl feststellen. Nach sechs Stunden flacht der Anstieg deutlich ab und verläuft annähernd linear weiter. Nach einem Tag liegt die Bakterienanzahl bei ca. 1,2 relativen Einheiten.
Im Versuchsansatz mit einer 5-mikromolaren Lösung PNA-CPP1 steigt die Bakterienzahl ebenfalls nach zwei Stunden an, aber sehr viel geringer als im Kontrollansatz. Nach acht Stunden lässt sich ein annähernd linearer, schwacher Anstieg der Bakterienzahl bis auf einen Wert von etwas mehr als 0,4 relativen Einheiten feststellen, was ca. einem Drittel der Bakterienanzahl des Kontrollversuchs entspricht. Im Versuchsansatz mit einer 10-mikromolaren Lösung ist gar keine Vermehrung der Bakterien zu beobachten.
- **Versuchsreihe 2A:** Für den Kontrollansatz mit Wasser ergibt sich das gleiche Ergebnis wie bei Versuchsreihe 1A.
Bei den Versuchsansätzen mit 5- bzw. 10-mikromolarer Lösung PNA-CPP2 ergeben sich ähnliche Kurvenverläufe wie bei dem Kontrollansatz mit Wasser, wobei die Vermehrung der Bakterien bei dem höher konzentrierten Ansatz erst ab sechs Stunden messbar ist und nach 24 Stunden bei 0,8 relativen Einheiten (d. h. 2/3 der Bakterienanzahl wie im Kontrollversuch) liegt, während bei Zugabe einer 5-mikromolaren Lösung nach einem Tag ein Wert von 1 relativen Einheit gemessen werden kann.
- **Versuchsreihen 1B und 2B:** In allen (sechs) Versuchsansätzen ergibt sich ein mehr oder weniger gleicher Kurvenverlauf, wobei das Bakterienwachstum im Vergleich zu den Kontrollansätzen bei den 10-mikromolaren Lösungen kaum signifikant geringer ausfällt als bei den 5-mikromolaren.

Auswertung der Versuchsergebnisse hinsichtlich der Fragestellung und **Erläuterung** der Notwendigkeit der Ansätze 1 B und 2 B:

TIPP Der Operator „auswerten“ erfordert, dass Sie aus Ihren obigen Beschreibungen eine Schlussfolgerung hinsichtlich der zu untersuchenden Fragestellung ziehen, welche der beiden zelldurchdringenden Peptide als „Transfermolekül“ für PNAs in die Bakterienzelle besser geeignet ist.

Um sicherzustellen, dass der vermehrungshemmende Effekt auf die PNAs und nicht auf die zelldurchdringenden Proteine zurückzuführen ist, müssen den Bakterien in den Versuchsreihen 1 B und 2 B nicht-gekoppelte CPPs gleicher Konzentration wie in den Ansätzen 1 A und 2 A hinzugefügt werden. Da in den Versuchsreihen 1 B und 2 B nur eine geringfügige, vernachlässigbare Hemmung des Bakterienwachstums durch (nicht-gekoppelte) CPPs messbar ist, kann sicher geschlossen werden, dass für die vermehrungshemmende Wirkung die PNAs verantwortlich sind. Die zelldurchdringende Wirkung von CPP1 ist folglich sehr viel besser als die von CPP2.

Lösungen der Aufgaben: Christian Schillinger (Benne)

© 2024 STARK Verlag GmbH

Das Werk und alle seine Bestandteile sind urheberrechtlich geschützt. Jede vollständige oder teilweise Vervielfältigung, Verbreitung und Veröffentlichung bedarf der ausdrücklichen Genehmigung des Verlages. Dies gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Mikroverfilmungen sowie die Speicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.