

1. Werkzeuge und Methoden der Gentechnik		
1.1 Werkzeuge: Restriktionsenzyme, Plasmide, reverse Transkriptase	<p>Restriktionsenzyme: Du weißt, dass Restriktionsenzyme natürlicherweise in Bakterien zur Abwehr von Bakteriophagen vorkommen können. Du kannst die Funktionsweise dieser Enzyme beschreiben und die Begriffe blunt end / sticky end erklären.</p> <p>Plasmide: Du weißt, dass Plasmide natürlicherweise in Bakterien vorkommen und Konjugation ermöglichen. Du kannst den Aufbau eines technisch hergestellten Plasmids beschreiben und kennst dessen Funktion.</p> <p>Reverse Transkriptase: Du weißt, dass diese Enzyme in Retroviren vorkommen und in der Lage sind, eine Transkription von RNA in DNA zu ermöglichen.</p>	
1.2 Methoden: PCR, Gelelektrophorese, DNA-Sequenzierung	<p>PCR: Du kannst die drei Schritte einer PCR beschreiben. Du kannst die Begriffe DNA-Denaturierung, Primer und Taq-Polymerase dazu passend erklären (z.B. Hitzestabilität der Taq-Polymerase). Du kannst erklären, weshalb die Wahl der Primer für das Endprodukt entscheidend ist.</p> <p>Gelelektrophorese: Du kennst die Begriffe Sammel- und Trenngel und kannst erklären, wie die Auftrennung von DNA-Bruchstücken funktioniert.</p> <p>DNA-Sequenzierung: Du kannst diese Methode als Kombination aus PCR und Gelelektrophorese beschreiben und in das Verfahren des genetischen Fingerabdrucks einordnen.</p>	
2. Gentechnische Anwendungen		
2.1 Überblick	Du kannst den heutigen Stand gentechnischer Anwendungen in den Bereichen Industrie, Medizin und Landwirtschaft benennen.	
2.2 Gentechnische Veränderung von Bakterien	Du kannst die gentechnische Herstellung von Plasmiden erklären. Du kannst erklären, wie transgene Bakterien selektioniert werden. Du kennst Anwendungsbeispiele und kannst unter Abschätzung von Chancen und Risiken die gentechnische Veränderung von Bakterien bewerten.	
2.3 Gentechnische Veränderung von Pflanzen (und Tieren)	Du kannst die gentechnische Veränderung von Pflanzen mit einem Ti-Plasmid und das anschließende Selektionsverfahren erklären. Du kannst die moderne gentechnische Veränderung mittels CRISPR/Cas erklären. Du kennst Anwendungsbeispiele an GVO und kannst sie unter Abschätzung von Chancen und Risiken bewerten.	
2.4 Gentherapie am Menschen	Du kannst die somatische und die Keimbahntherapie unterscheiden und kennst die grundsätzliche rechtliche Lage in Deutschland zur Gentherapie am Menschen. Du kannst die Funktionsweise der somatischen und der Keimbahntherapie erläutern.	
2.5 Chancen und Risiken der Gentechnik	Du kannst die gentechnische Veränderung von Bakterien, Pflanzen und Tieren und die Gentherapie am Menschen unter Abschätzung von Chancen und Risiken bewerten.	
3. Reproduktionsbiologie		
3.1 Insemination, In- Vitro-Fertilisation und ICSI	Du kannst die Verfahren der Insemination, In-Vitro-Fertilisation und ICSI beschreiben. Du kannst sie unter Abschätzung der Möglichkeiten und Probleme bewerten	
3.2 PID und PND	Du kannst das Verfahren der PID beschreiben und kennst die grundsätzliche rechtliche Situation in Deutschland und kannst es bewerten. Du kannst nichtinvasive und invasive Verfahren der PND beschreiben und unter Abschätzung von Chancen und Risiken bewerten.	

(1) Werkzeuge und Methoden der Gentechnik

1.1 Werkzeuge: Restriktionsenzyme, Plasmide, reverse Transkriptase

a.) Restriktionsenzyme



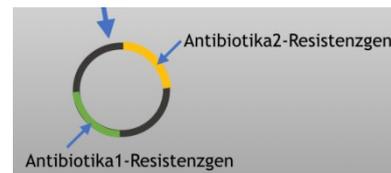
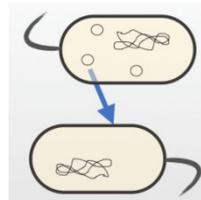
Vorkommen:

- in Bakterien, dienen dort zur Abwehr von Bakteriophagen (=Viren, die Bakterien befallen)

Funktion:

- können DNA schneiden, hinterlassen entweder ein glattes Ende (blunt end) oder ein überlappendes Ende (sticky end, siehe Bild) beim Schnitt
- Molekularbiologen haben solche Enzyme isoliert und setzen sie gezielt ein, um DNA an einer bestimmten Basenabfolge zu schneiden

b.) Plasmide



Vorkommen:

- in Bakterien, extrachromosomale DNA

Funktion:

- mit Ihnen kann ein Bakterium genetische Informationen an ein anderes Bakterium weitergeben (Bild links: Konjugation)
- in der Gentechnik werden Plasmide hergestellt, um damit gezielt Gene auf andere Organismen wie Bakterien zu übertragen. Damit man später die richtigen Bakterien selektionieren kann, werden den Plasmiden auch zwei Antibiotika-Resistenzgene eingesetzt (Bild rechts)

c.) Reverse Transkriptase



Vorkommen:

- in Retroviren (RNA-Viren)

Funktion:

- schreibt dort in der Zelle zunächst die Virus-RNA in DNA um
- in der Gentechnik wird mit diesem Enzym zum Beispiel mRNA in cDNA umgeschrieben

1.2 Methoden: PCR, Gelelektrophorese, DNA-Sequenzierung

a.) Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Nun muss die Temperatur für die Primer gesenkt werden. **95°C**

Schritt 1: DNA-Auflösung
Schritt 2: Primer setzen

(1) 95°C → Reversible DNA-Denaturierung durch Hitze, H-Brücken werden gelöst



Primer können nun andocken. **55°C**

Schritt 1: DNA-Auflösung
Schritt 2: Primer setzen
Schritt 3: DNA-synthese

(2) 55°C → Primerhybridisierung durch Absenken der Temperatur



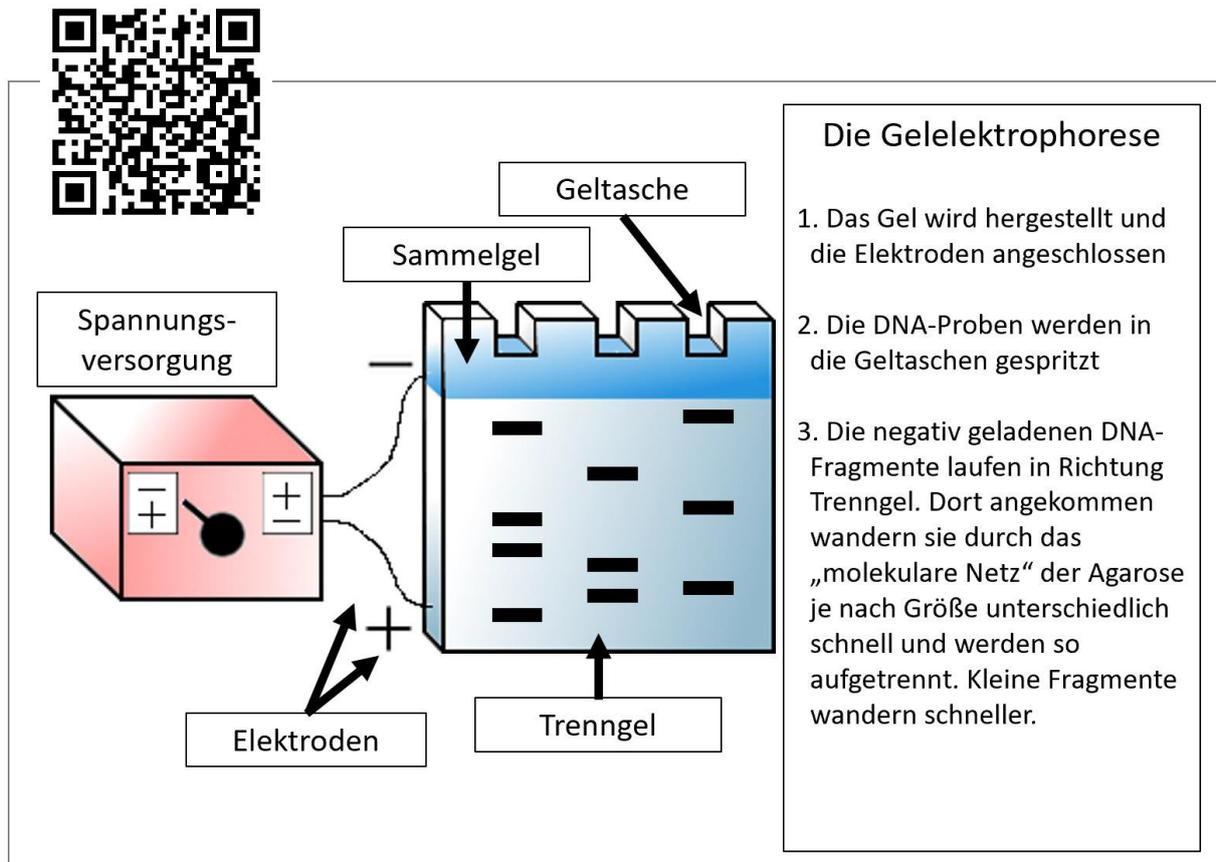
Die TAQ-Polymerase bindet sich nun an die Primer **72°C**

Schritt 1: DNA-Auflösung
Schritt 2: Primer setzen
Schritt 3: DNA-synthese

(3) 72°C → Elongation bei 72°C durch „Taq-Polymerase“



b.) Die Gelelektrophorese



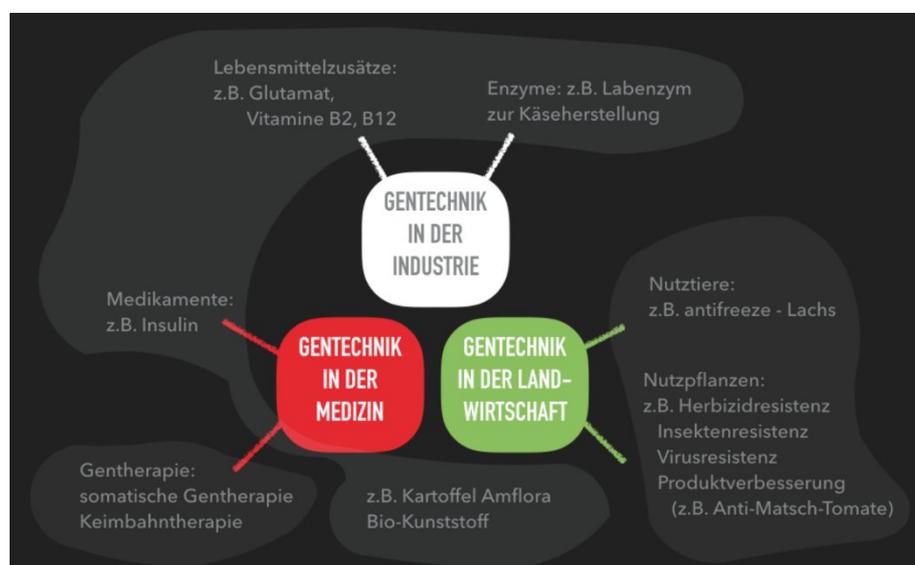
c.) Die DNA-Sequenzierung kombiniert PCR und Gelelektrophorese

- mit der zu sequenzierenden DNA werden 4 PCR angesetzt
- je Ansatz mit der DNA, markierten Primern, allen 4 Nukleotiden und einer kleinen Menge eines Didesoxynukleotids (ddATP, ddTTP, ddCTP oder ddGTP)
- während der PCR bricht die Verdopplung eines DNA-Einzelstrangs dann ab, wenn zufällig das Didesoxynukleotid eingebaut wird (Kettenabbruchverfahren)
- in einer Gelelektrophorese werden diese 4 Ansätze aufgetrennt, anhand der Banden kann man die Sequenz ablesen
- heutzutage gibt es ein moderneres Verfahren, bei dem jedes Didesoxynukleotid mit einem anderen Marker versehen wird, den ein Detektor in einer Elektrophorese direkt auslesen kann



2. Gentechnische Anwendungen

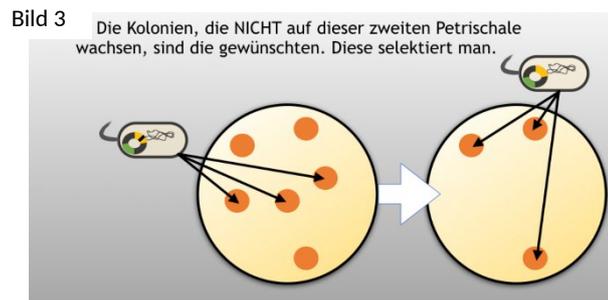
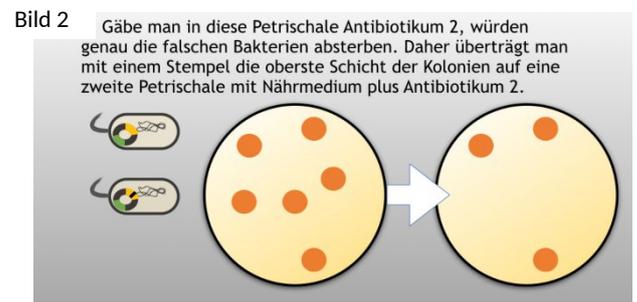
2.1 Überblick über den heutigen Stand der gentechnischen Anwendungen



2.2 Gentechnische Veränderung von Bakterien (z.B. zur Herstellung von Humaninsulin)



1. Aus Bakterien werden Plasmide isoliert, die zwei Antibiotika-Resistenzgene beinhalten.
2. Menschliche m-RNA des gewünschten Gens wird isoliert und mit Reverser Transkriptase in c-DNA umgewandelt.
3. Ein Restriktionsenzym schneidet das Plasmid am zweiten Resistenzgen und hinterlässt sticky ends.
4. Die c-DNA soll an der geschnittenen Stelle eingelagert werden
5. Das rekombinante Plasmid soll in Bakterien aufgenommen werden
6. Zur Selektion der gewünschten Bakterien gibt man den Ansatz auf ein Nährmedium mit dem ersten Antibiotikum, Bakterien ohne Plasmide sterben ab (siehe Bild 1). Mit einem Stempel überträgt man einen Abdruck der Kolonien auf ein zweites Medium mit dem zweiten Resistenzgen (siehe Bild 2). Dort wo auf diesem Nährmedium nichts wächst liegen auf dem ersten Medium die erfolgreich gentechnisch-veränderten Bakterien (siehe Bild 3).



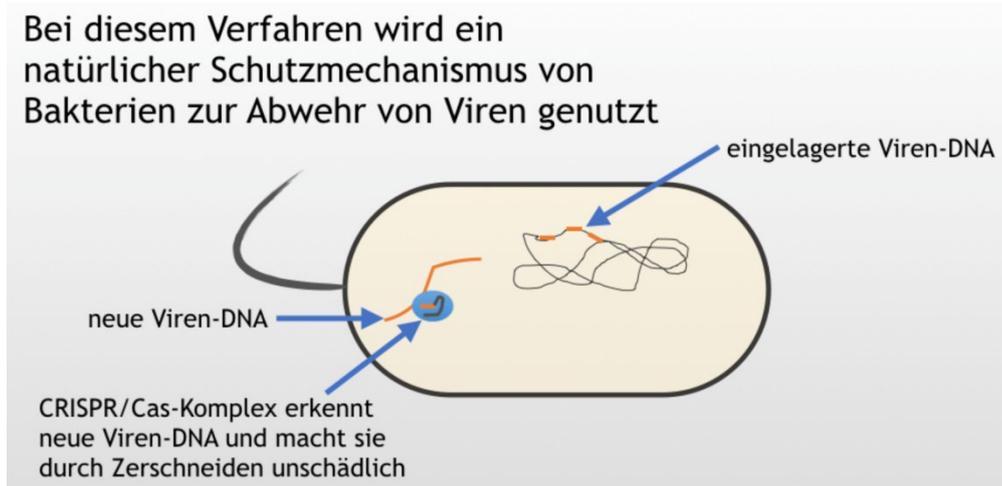
2.3 Gentechnische Veränderung von Pflanzen (und Tieren)

a.) Pflanzen wurden lange Zeit mit dem Ti-Plasmid gentechnisch verändert:

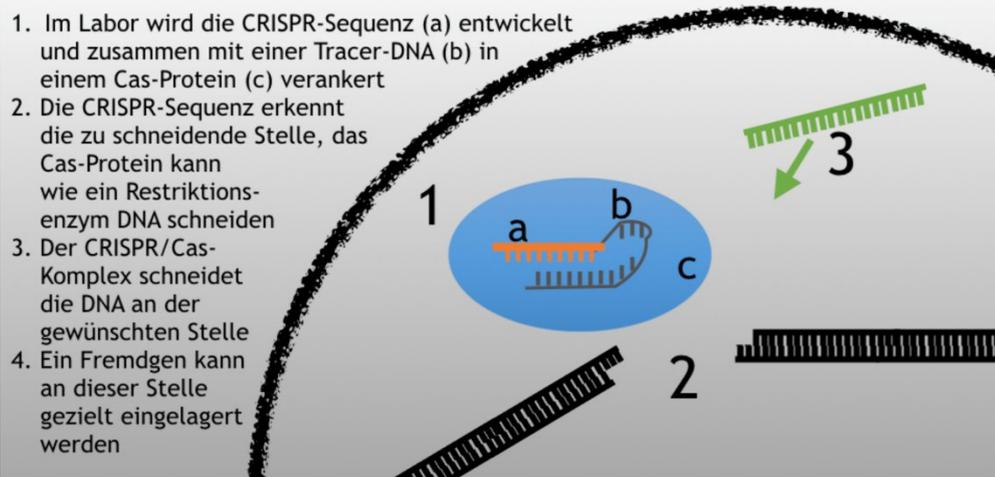
1. Das Ti-Plasmid wird mit dem gewünschten Fremdgen bestückt
2. Das rekombinante Ti-Plasmid wird in das Agrobacterium eingeschleust
3. Agrobacterium überträgt das Fremdgen an eine unbestimmte Stelle in die Pflanzenzelle
4. Nach Hormonbehandlung wächst die Pflanzenzelle zu einem Kallus und schließlich zu einer Jungpflanze heran
5. Jungpflanzen werden nach erfolgreicher gentechnischer Veränderung selektiert



b.) Moderne Verfahren zur gentechnischen Veränderung nutzen das zielgenauere und schnellere CRISPR/Cas-Verfahren:



Der Einsatz von CRISPR/Cas zur gentechnischen Veränderung:



2.4 Gentherapie am Menschen

Unterscheidung: somatische Gentherapie (=Schneiden defekter oder Einbringen intakter Gene in Körperzellen) und Keimbahntherapie (=genetische Veränderung von Keimzellen).

Für eine somatische Gentherapie eignen sich vor allem monogene Erbkrankheiten (=ein defektes Gen löst die Krankheit aus). Seit wenigen Jahren verspricht auch hier CRISPR/Cas bessere Erfolgsaussichten.

a.) Somatische Gentherapie

Beispiel Duchenne-Muskeldystrophie:

- monogene Erbkrankheit, bei der durch ein defektes Gen ein Muskelprotein nicht mehr gebildet werden kann
- nach einem gezielten Schnitt und einer DNA-Reparatur kann das Protein wieder synthetisiert werden
- Schwierigkeiten: es gibt viele mögliche Gendefekt-Ursachen, alle Muskelzellen des Körpers müssen verändert werden, bereits geschädigte Zellen können nicht repariert werden

Beispiel CAR-T-Zellen:

- T-Zellen werden isoliert und so verändert, dass sie einen Rezeptor für bestimmte Tumorzellen ausbilden können
- Schwierigkeiten: 'Cytokinsturm' bei Gabe der körpereigenen T-Zellen kann tödlich sein, hilft nur bei einer speziellen Leukämieform

b.). Keimbahntherapie:

- gentechnische Veränderung von Keimzellen
- in Deutschland laut §5 Embryonenschutzgesetz verboten
- hohe Risiken, leichter Missbrauch möglich ('Designerbabys'), genetisch veränderte Folgegenerationen

2.5 Chancen und Risiken der Gentechnik

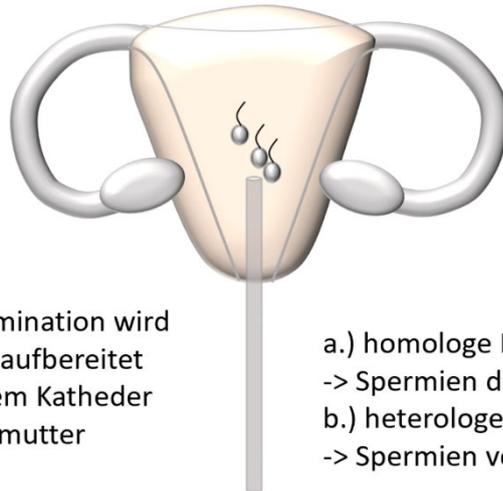
	Chancen / Vorteile	Risiken / Nachteile
Gentechnische Veränderung von Bakterien	<ul style="list-style-type: none">- preiswerte, schnelle und qualitativ hochwertige Herstellung von Medikamenten, Enzymen und Lebensmittelzusätzen- Schonung von Ressourcen (z.B. Energieträger) und Tieren	<ul style="list-style-type: none">- unkontrollierte Verbreitung
Gentechnische Veränderung von Pflanzen (und Tieren)	<ul style="list-style-type: none">- wenn es z.B. gelingt, trockenresistentere Pflanzen zu entwickeln, könnte dem Hunger und dem Klimawandel entgegengewirkt werden- durch CRISPR/Cas sehr gezielte Pflanzenzucht möglich	<ul style="list-style-type: none">- z.Zt. hauptsächlich Produktionsvorteile und damit Kostensenkung (Insekten- und Herbizidresistenz)- Resistenzbildungen (bei Unkräutern und Schädlingen)- unkontrollierte Verbreitung und Vermischung, Rückgang der Pflanzenvielfalt- Abhängigkeit von Saatgut-Monopolistenv.a. bei Tieren: ethische Bedenken
Somatische Gentherapie am Menschen	<ul style="list-style-type: none">- genetische Veränderung wird nicht weitervererbt- vielversprechend bei monogenen Erbkrankheiten	<ul style="list-style-type: none">- deutliche Risiken für Patienten (z.B. Cytokinsturm)
Keimbahntherapie am Menschen	<ul style="list-style-type: none">- Auslöschung von schwersten Erbkrankheiten	<ul style="list-style-type: none">- genetisch veränderte Folgegenerationen- hohe Risiken- leichter Missbrauch möglich ('Designerbabys'),

Finde Deine eigenen Positionen und begründe sie!

(3) Reproduktionsbiologie

3.1 Insemination, In-Vitro-Fertilisation und ICSI

Insemination:

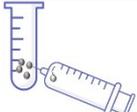
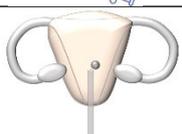


Bei der Insemination wird das Ejakulat aufbereitet und mit einem Katheder in die Gebärmutter eingebracht

- a.) homologe Insemination
-> Spermien des Partners
- b.) heterologe Insemination
-> Spermien von Samenspender

Risiken:
falls eine Hormonstimulation notwendig ist, kann dies zu einer Überreaktion und zur Mehrlingsschwangerschaft führen

In-Vitro-Fertilisation und ICSI:

1. Aufbereitung des Ejakulats	
2. Hormonbehandlung zur gleichzeitigen Reifung mehrere Eizellen	Risiken: Überreaktion und Mehrlingsschwangerschaften
3. Entnahme der Eizellen durch kleinen operativen Eingriff	Risiken: Narkose, Entzündung der Eierstöcke
4. Befruchtung der Eizellen im Reagenzglas, Entwicklung zu 8-Zell-Stadium	
4. alternativ: intracytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI)	
5. Übertragung des 8-Zell-Embryos in Gebärmutter, hormonelle Behandlung zur Einnistung	

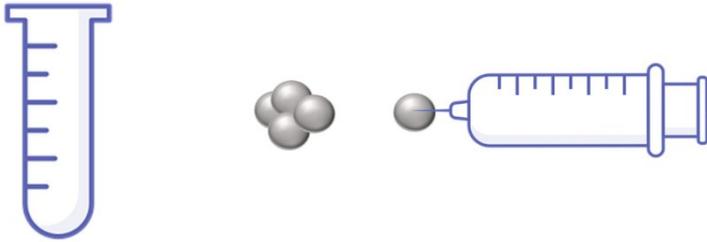
Chancen: heterosexuellen Paaren, alleinstehenden Frauen oder lesbischen Paaren kann evt. der Kinderwunsch erfüllt werden

Risiken: nicht verwendete Embryos im 8-Zell-Stadium sterben ab, Risiken durch Hormonbehandlung, Narkose, Entzündung, Erfolg im Schnitt bei 20% pro Prozedur, hohe Kosten, seelische Belastungen

Ethische Positionen zum Schutzstatus von Embryonen: a.) mit der Befruchtung b.) mit der Einnistung c.) mit der Funktionsfähigkeit bestimmter Organe (Herz, Gehirn) d.) ab dem frühesten Zeitpunkt, ab dem ein Embryo außerhalb des Körpers überlebensfähig wäre e.) mit der Geburt

3.2 PID und PND

Präimplantationsdiagnostik (PID):



- Voraussetzung: In-Vitro-Fertilisation
- Entnahme einer Zelle aus dem 8-Zell-Stadium
- genetische Untersuchung und Selektion gesunder Embryonen zur weiteren Verwendung
- Embryonen mit genetischem Defekt werden nicht verwendet

In Deutschland:

- nur in Ausnahmefällen erlaubt
- wenn ein hohes Risiko für eine schwerwiegende Erbkrankheit besteht
- wird im Einzelfall von einem Ethikrat bestehend aus Ärzten, Ethikern, Juristen, einem Vertreter der Patientin und einem Vertreter von Menschen mit Behinderung entschieden
- Durchführung nur in zugelassenen medizinischen Zentren

Ethische Diskussionspunkte: Selektion der Embryonen, Retterbaby

Pränataldiagnostik (PND):

Nichtinvasiv

- Ultraschalluntersuchung
- Blutuntersuchung der Mutter (z.B. Hormonkonzentration, Erbgutfragmente des Kindes)

Mögliche Anlässe:

- Risikoschwangerschaft
- familiäre genetische Erkrankungen

Invasiv

- Amniozentese (Entnahme von Fruchtwasser) oder
- Chorionzottenbiopsie (Entnahme von Gewebe der Embryonalhüllen)
- Nabelschnurpunktion
- anschließender Gentest und Chromosomenanalyse

Ethische Diskussionspunkte: Thema Abtreibung nach Feststellung einer Erbkrankheit