Entwicklung der Bildungsstandards für die Allgemeine Hochschulreife in den Naturwissenschaften

Lernaufgabe für das Fach Biologie

Kurzbeschreibung

Molekulare Ursachen der Saccharose-Intoleranz

Diese Aufgabe wurde von Fachexpertinnen und Fachexperten der Länder, überwiegend Lehrkräften, entwickelt. Die Aufgabenentwicklergruppe wurde von Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern der Fachdidaktik der Biologie beraten. Das Institut zur Qualitätsentwicklung im Bildungswesen hat den Prozess koordiniert.

Zusammenfassung

In der Aufgabe werden mit einem Schwerpunkt auf dem Standard K 9 („nutzen geeignete Darstellungsformen […]“) am Beispiel der Saccharoseintoleranz (CSID) Inhalte zur Genmutation und Genetik menschlicher Erkrankungen genutzt, um die Kommunikations- und Sachkompetenzen der Lernenden zu fördern. In einem Exkurs wird die Analyse von Familienstammbäumen wiederholt, die Aufgabe endet mit einer komplexeren, zu Abituranforderungen hinführenden materialgebundenen Aufgabenstellung, deren Lösung auch „Vernetzungen zwischen Systemebenen“ (S 6) verlangt.

Anforderungsniveau	grundlegend ☒	erhöht ☒
Kompetenzbereiche und relevante Standards	**Sachkompetenz** Die Lernenden … S 1 beschreiben biologische Sachverhalte sowie Anwendungen der Biologie sachgerecht; S 2 strukturieren und erschließen biologische Phänomene sowie Anwendungen der Biologie auch mithilfe von Basiskonzepten; S 3 erläutern biologische Sachverhalte, auch indem sie Basiskonzepte nutzen und fachübergreifende Aspekte einbinden; **S 6 stellen Vernetzungen zwischen Systemebenen (Molekular- bis Biosphärenebene) dar.**	

	Kommunikationskompetenz Die Lernenden … K 1 recherchieren zu biologischen Sachverhalten zielgerichtet in analogen und digitalen Medien und wählen für ihre Zwecke passende Quellen aus; K 2 wählen relevante und aussagekräftige Informationen und Daten zu biologischen Sachverhalten und anwendungsbezogenen Fragestellungen aus und erschließen Informationen aus Quellen mit verschiedenen, auch komplexen Darstellungsformen; K 3 prüfen die Übereinstimmung verschiedener Quellen oder Darstellungsformen im Hinblick auf deren Aussagen; K 4 analysieren Herkunft, Qualität und Vertrauenswürdigkeit von verwendeten Quellen und Medien sowie darin enthaltene Darstellungsformen im Zusammenhang mit der Intention der Autorin / des Autors; K 5 strukturieren und interpretieren ausgewählte Informationen und leiten Schlussfolgerungen ab; **K 9 nutzen geeignete Darstellungsformen für biologische Sachverhalte und überführen diese ineinander;** K 10 verarbeiten sach-, adressaten- und situationsgerecht Informationen zu biologischen Sachverhalten; K 11 präsentieren biologische Sachverhalte sowie Lern- und Arbeitsergebnisse sach-, adressaten- und situationsgerecht unter Einsatz geeigneter analoger und digitaler Medien; K 12 prüfen die Urheberschaft, belegen verwendete Quellen und kennzeichnen Zitate.
Basiskonzept	Struktur und Funktion
Inhaltsbereich	♦ Vielfalt des Lebens ♦ Molekulargenetische Grundlagen des Lebens
konkrete Inhalte	♦ Mutationen: Genmutationen ♦ Genetik menschlicher Erkrankungen
Materialien	M 1: Saccharoseintoleranz M 2: Familienstammbaum Saccharose-Intoleranz M 3: Genmutation M 4: Molekulare Ursachen von CSID M 5: RT-PCR
Bearbeitungszeit	90 – 180 Minuten
Hilfsmittel	Internetzugang

Differenzierungsmöglichkeit	♦ **Sprinter-Aufgabe und Material 5**
experimenteller Anteil	ja ☐ nein ☒
Lernvoraussetzungen	♦ Vom Gen zum Protein: Transkription und Translation, Erbgänge und Stammbäume (Grundwissen S I) ♦ Enzyme: Primär-, Sekundär- und Tertiärstruktur ♦ für erhöhtes Niveau: PCR mit Taq-Polymerase, Reverse Transkriptase

1 Hinweise zur Durchführung

Die Aufgabe gliedert sich in **6 Module**, die flexibel eingesetzt werden können. Es ist sowohl ein vollständiges Durchlaufen vom Einstieg (1) über die Grundlagen (2-4) bis zur Anwendungsaufgabe (5) möglich als auch ein punktueller Einsatz des Materials. Modul 6 ist optional für stärkere / schnellere Lerngruppen.

Hinweise zu den Modulen

1. Einstieg: Hinweise auf die Qualität der Quellen können im Unterricht diskutiert werden. Hier steht lediglich die Frage der Verwendbarkeit für molekulargenetische Überlegungen im Vordergrund. Es ist aber auch ein Exkurs zur allgemeinen Beurteilung der Qualität von Quellen möglich, der hier aber nicht abgebildet werden kann.

2. Grundlagen: Zum Aufbau eines Fachartikels können von der Lehrkraft Hilfen gegeben werden: Ein Einleitungsabsatz enthält klassischerweise eine Hinführung zur Thematik, die Verdeutlichung der Relevanz, eine grobe Einordnung in die Theorie und den Stand der Forschung sowie das Aufzeigen der Wissenslücke und die Formulierung des Ziels. Diese Aspekte sind auch im angesprochenen Fachartikel zu finden und können natürlich auch aus deutschsprachigen Publikationen herausgearbeitet werden.

3. Erbgänge und Familienstammbäume: Der Familienstammbaum wird unter Aktivierung des Vorwissens ausgewertet, hier kann die Lehrkraft auch ermitteln, inwieweit das Vorwissen vorhanden ist. Hilfreich kann dabei die Strukturierungsaufgabe 3b sein.

4. Mutationstypen: Zu Beginn haben die Lernenden recherchiert, dass die Ursache der CSID eine Mutation im SI-Gen ist. Zum Verständnis muss also zunächst der Mutationsbegriff geklärt werden. Dazu finden die Lernenden zunächst Beispiele für die Definitionen der drei möglichen Substitutionsfolgen sowie die Folgen von Insertion und Deletion und wenden dieses Wissen dann im nächsten Modul auf drei typische zu CSID führende Mutationen an.

5. Molekulare Ursachen von CSID: Die Lösung dieser einer Prüfungsaufgabe angenäherten Teilaufgaben erfordert die Vernetzung zwischen Systemebenen. Wenn diese in den Fokus der Lernenden gerückt werden sollen, ist es hilfreich, den Infotext zu verwenden. Zur Lösung der Aufgaben ist er nicht erforderlich.

6. Sprinteraufgabe zur RT-PCR: Weiterentwicklung eines Standardverfahrens: Diese Teilaufgabe ist optional und für stärkere und schnellere Lernende geeignet.

2 Aufgabenstellung

Teilaufgabe 1 Einstieg (Material 1)

1.1 Werten Sie den Wikipedia-Eintrag zur „Saccharose-Intoleranz“ aus.

1.2 Vergleichen Sie dessen Inhalt mit dem Inhalt der Quellen aus der Fußnote des Eintrags.

1.3 Bewerten Sie, wie hilfreich Sie diese Quellen für die Beschäftigung mit der Krankheit Saccharose-Intoleranz im Rahmen der „Molekulargenetik“ im Biologieunterricht halten.

Teilaufgabe 2 Grundlage

2 Formulieren Sie einen kurzen, informativen Einleitungsabsatz für eine Fachzeitschrift. Der Fachartikel soll sich im weiteren Verlauf mit den molekulargenetischen Ursachen der Saccharose-Intoleranz beschäftigen. Dieser Teil muss (und kann) nicht formuliert werden, sondern wird Gegenstand des Unterrichtes sein. Geben Sie die verwendeten Quellen (mindestens eine) korrekt an.

Teilaufgabe 3 Erbgänge und Familienstammbäume (Material 2)

3.1 Geben Sie begründet den Erbgang der CSID im dargestellten Familienstammbaum (Abb. 1) an und ermitteln Sie für alle angegebenen Personen einen möglichen Genotyp.

3.2 Tragen Sie die verschiedenen Ihnen bekannten Erbgänge zusammen. Entwerfen Sie zu jedem Erbgang einen hypothetischen Stammbaum. Erläutern Sie, anhand welcher Merkmale dieser Erbgang im Stammbaum sichtbar wird.

Teilaufgabe 4 Mutationstypen (Material 3)

4.1 Bei der Substitution wird ein Basenpaar gegen ein anderes ausgetauscht. Dies kann unterschiedliche Folgen haben. Ergänzen Sie in den freien Spalten der Tabelle 1 jeweils eine selbst gewählte kurze DNA-Sequenz, die entsprechende mRNA und die resultierende Aminosäuresequenz unter Verwendung der Codesonne.

4.2 Bei einem Verlust oder einem Einschub eines Nucleotids verschiebt sich das Leseraster des genetischen Codes von der Stelle der Mutationen an. Daher nennt man Deletion und Insertion auch (Lese-)Rastermutationen. Verdeutlichen Sie auch diese Mutationstypen an einem Beispiel für eine Insertion im entsprechenden Schema in Material 4.

4.3 Beschreiben Sie die Folgen einer Deletion oder Insertion für die Primärstruktur des entstehenden Polypeptids und vergleichen Sie diese mit den Folgen der anderen Mutationstypen aus der Tabelle 1.

Teilaufgabe 5 Molekulare Ursachen von CSID (Material 4)

5.1 Analysieren Sie mit Hilfe der Materialien (Text und Tabelle 2) die Art der Mutationen des SI-Gens unter Angabe der relevanten mRNA-Tripletts und ihre Folgen für das Polypeptid.

5.2 Leiten Sie die Auswirkungen der Mutationen auf Struktur und Funktion der Saccharase-Isomaltase ab (Abb. 2 und 3).

5.3 Begründen Sie die von der jeweiligen Mutation verursachten Symptome (Rechercheergebnisse und Abb. 2 und 3).

3 Weiterführende Aufgabe

Teilaufgabe 6 Weiterentwicklung eines Standardverfahrens (Sprinteraufgabe zur RT-PCR; Material 5)

6. Nennen Sie die Funktion der zwei bei der RT-PCR bislang verwendeten Enzyme. Erläutern Sie die einzelnen Arbeitsschritte bei der Verwendung von 3137 Pol und diskutieren Sie die Vor- und Nachteile gegenüber der bisherigen Methode der RT-PCR.

4 Material für Lernende

Material 1

Saccharoseintoleranz

Internetzugang erforderlich, ggf. Wikipedia-Eintrag ausdrucken.

https://de.wikipedia.org/wiki/Saccharoseintoleranz

(Aus lizenzrechtlichen Gründen kann der Wikipedia-Artikel hier nicht wiedergegeben werden.)

Material 2

Familienstammbaum Saccharoseintoleranz

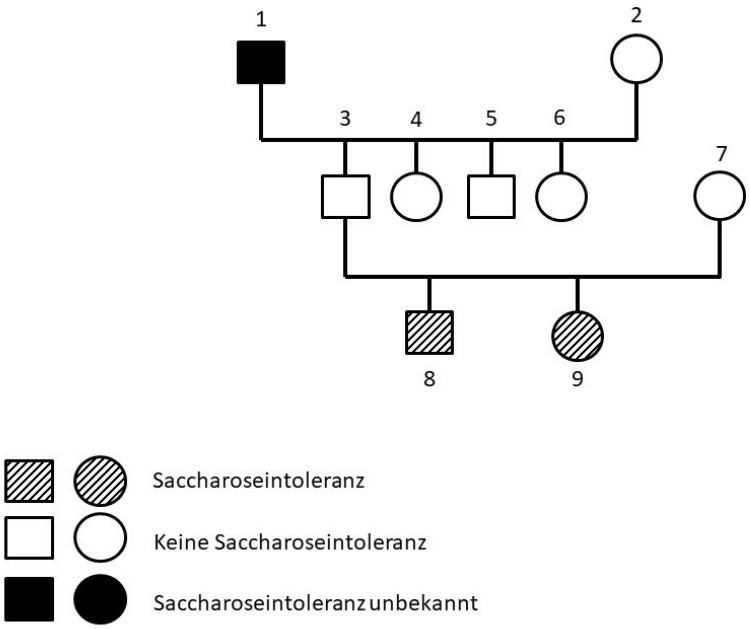


Abbildung 1:Familienstammbaum einer Familie mit Saccharose-Intoleranz (Männer sind als Quadrate, Frauen als Kreise dargestellt), IQB

Material 3

Genmutation

Bei der Genmutation wird die Basenabfolge auf der DNA durch Punktmutationen wie Substitution (Austausch), Deletion (Verlust) oder Insertion (Einschub) eines Nukleotids verändert.

Bei der Substitution wird ein Basenpaar gegen ein anderes ausgetauscht. Dies kann unterschiedliche Folgen haben**:**

Tabelle 1: Mutationstypen

Definition	Beispiel: nicht mutierte DNA-Sequenz	mutierte DNA-Sequenz
Bei einer stummen Mutation wird zwar durch den Austausch des Basenpaares ein anderes Codon gebildet, jedoch in dieselbe Aminosäure übersetzt.	DNA: mRNA: AS-Seq.:	
Die Missense-Mutation hat zur Folge, dass eine falsche Aminosäure eingebaut wird.	DNA: mRNA: AS-Seq.:	
Wenn ein Basentriplett durch Austausch eines Nucleotids ein Stopp-Codon codiert, handelt es sich um eine Nonsense-Mutation.	DNA: mRNA: AS-Seq.:	

Schema: Beispiel für eine Insertion

nicht mutiert: DNA: ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___

mRNA: ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___

Aminosäuren: _____ _____ _____ _____

⇓ hier eine neue Base einfügen!

mutiert: DNA: ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___

mRNA: ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___ ___

Aminosäuren: _____ _____ _____ _____

Material 4

Molekulare Ursachen von CSID

Optional: Infotext zur Strukturierung der Auswertung:

Um eine erblich bedingte Stoffwechselerkrankung wie CSID zu erklären, sind neben der Vererbung folgende Systemebenen zu berücksichtigen:

1) *Ebene der Moleküle:* ***Basensequenz der DNA und Mutation*** *auf Ebene der DNA, diese bedingt unmittelbar die* ***Basensequenz der mRNA*** *und damit die Aminosäuresequenz, also die* ***Primärstruktur des Polypeptids****.*
2) *Ebene der Zelle:* ***Struktur des Proteins****, hier der Saccharose-Isomaltase. Diese bedingt direkt die* ***Funktion des Proteins*** *und bildet die Ebene des Stoffwechsels.*
3) *Ebene der Gewebe und Organe: Zur Erklärung der* ***Stoffwechselvorgänge*** *ist oft die Berücksichtigung von Geweben und Organen notwendig, dies ergibt sich aus dem Kontext.*
4) *Ebene des Individuums: Die* ***Symptome einer Stoffwechselerkrankung*** *sind die phänotypischen Ausprägungen der in der DNA zugrunde liegenden Veränderungen.*

Das Saccharase-Isomaltase-Gen (SI-Gen) codiert für 1.827 Aminosäuren.

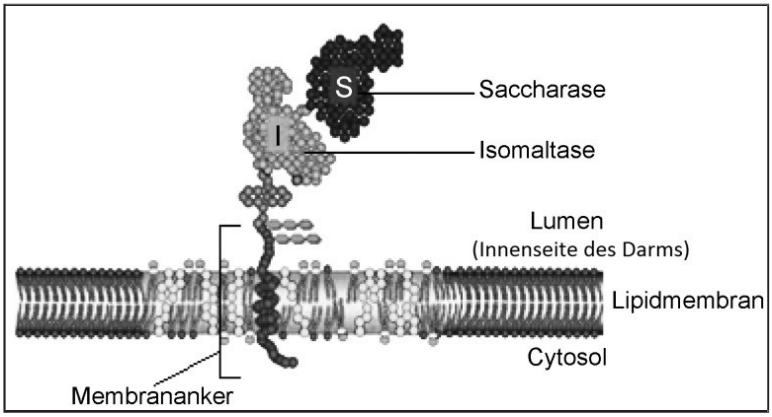


Abbildung 2: Modell des Saccharase-Isomaltase-Enzyms an der Membran der Dünndarmepithelzellen, Heine 2005.

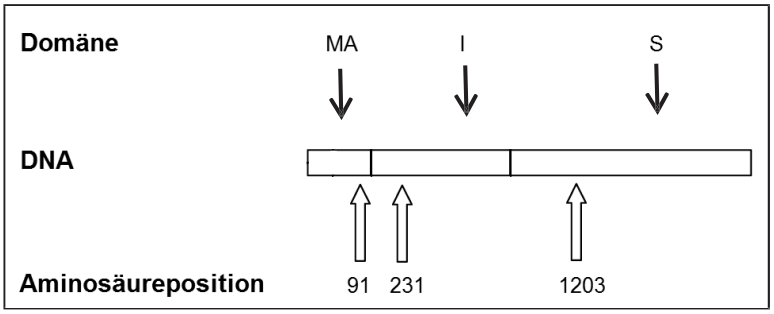


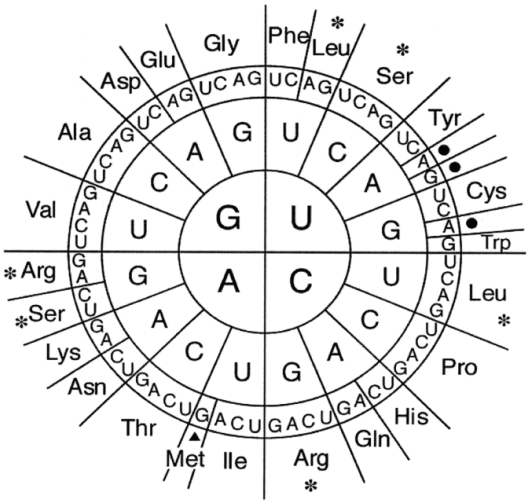
Abbildung 3: Relative Lage nachgewiesener Mutationen bei Erkrankten mit CSID (MA Membrananker, I-Isomaltase, S Saccharose), Ritz 2002.

Mittlerweile konnten mehrere Mutationen des SI-Gens gefunden werden. Drei von diesen sind im Folgenden dargestellt.

- Die erste Mutation löst an der Aminosäureposition 231 den Austausch von Alanin gegen Threonin aus.
- Die zweite Mutation führt an der Aminosäureposition 1203 zu einem Austausch von Glutamin gegen Glutaminsäure.
- Die dritte Mutation wurde erstmalig 2014 bei einem Inuit-Säugling mit CSID-Diagnose entdeckt (siehe Tabelle 1), der nicht gestillt, sondern mit Saccharose-haltiger Kost ernährt wurde.

Tabelle 2: Mutation des SI-Gens Inuit-Säuglings (siehe auch Codesonne)

Aminosäureposition	89	90	91	92	93	94	**… 1828**
DNA 5` → 3` einer gesunden Person **(nicht codogener Strang)**	GCA	CAG	AGA	GGC	TGC	TGC	**…TGA**
Aminosäureposition	89	90	91	92	93	94	**… 99**
DNA 5`→ 3`des Inuit-Säuglings **(nicht codogener Strang)**	GCA	CAG	AGG	CTG	CTG	CTG	**…TGA**



Ala Alanin	Arg Arginin
Asn Asparagin	Asp Asparaginsäure
Cys Cystein	Gln Glutamin
Glu Glutaminsäure	Gly Glycin
His Histidin	Ile Isoleucin
Leu Leucin	Lys Lysin
Met Methionin	Phe Phenylalanin
Pro Prolin	Ser Serin
Thr Threonin	Trp Tryptophan
Tyr Tyrosin	Val Valin

✻ zweimal auftretende Aminosäure
● Stopp-Codon
▲ Start-Codon

Abbildung 4: Codesonne, IQB

5 Weiterführendes Material

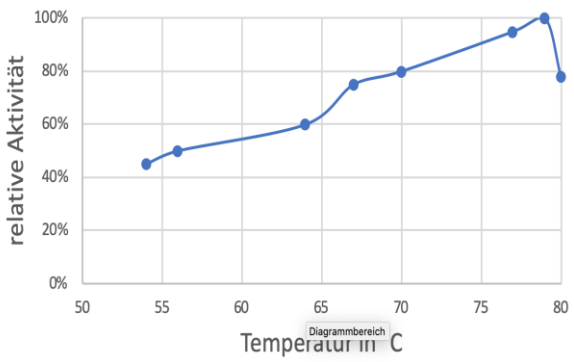
Material 5

Weiterentwicklung eines Standardverfahrens

Die PCR gehört inzwischen zu den Standardverfahren in der genetischen Forschung, deren Weiterentwicklung immer schnellere Verfahren, höhere Genauigkeiten und zusätzliche Anwendungsfelder ermöglichen. Mit „RT-PCR" wird ein Verfahren bezeichnet, in dem bislang nacheinander die beiden Enzymen Reverse Transkriptase und Taq-Polymerase eingesetzt wurden. Die drei in Material 4 bzw. 5 aufgeführten Mutationen wurden mithilfe dieses Verfahrens gefunden.

Dieses Verfahren hat unter anderem den Nachteil, dass die Reverse Transkriptase mit einer niedrigeren Starttemperatur arbeiten muss. Das macht das Verfahren langsamer und ungenauer. Ungenauer wird es deshalb, weil bei niedrigen Temperaturen die Primer ungenauer hybridisieren und sich unerwünschte Sekundärstrukturen der untersuchten RNA bilden können.

Inzwischen gibt es mit dem Enzym „3137 Pol" die Möglichkeit, den gesamten Vorgang mit einem einzigen Enzym durchzuführen, das sowohl über eine RT- als auch eine Polymerase-Funktion verfügt. Die Untersuchung der 3137 Pol ergab unter anderem die in der Abbildung 5 dargestellten Eigenschaften.



Thermisches Profil von 3137 Pol
Bei der Taq-Polymerase liegt das Maximum etwa gleich, bei 55° C zeigt diese eine Aktivität von ca. 20 %.

Temperaturstabilität von 3137 Pol
Bei 94°C liegt die Temperaturstabilität des Enzyms 3137 Pol bei 11,1 Minuten. In dieser Zeit denaturiert die Hälfte der Enzyme.
Für die Taq-Polymerase liegt dieser Wert bei gleichen Bedingungen bei etwa 2 Stunden.

Abbildung 4: Ausgewählte Eigenschaften des Moleküls „3137 Pol", Moser et al. 2012.

6 Lösungshinweise und Bezug zu den Standards

Es werden folgende Abkürzungen verwandt:

S 1 – 8 Standards der Sachkompetenz (erste Spalte)

E 1 – 17 Standards der Erkenntnisgewinnungskompetenz (zweite Spalte),

K 1 – 14 Standards der Kommunikationskompetenz (dritte Spalte),

B 1 – 12 Standards der Bewertungskompetenz (vierte Spalte).

1	1.1 Werten Sie den Wikipedia-Eintrag zur „Saccharose-Intoleranz“ aus.* 1.2 Vergleichen Sie dessen Inhalt mit dem Inhalt der Quelle aus der Fußnote des Eintrags. 1.3 Bewerten Sie, wie hilfreich Sie diese Quellen für die Beschäftigung mit der Krankheit Saccharose-Intoleranz im Rahmen der „Molekulargenetik“ im Biologieunterricht halten.	S	E	K 1 2 3 4	B

*Diese Aufgabe bezieht sich auf den Wikipedia-Eintrag bis 15.06.2020. Spätere Einträge können ggf. andere Inhalte enthalten, die Aufgabe könnte in der vorliegenden Form nicht mehr aktuell sein.

Die Lernenden stellen fest, dass der Wikipedia-Artikel nur wenig gehaltvoll ist und dass bei der weiteren Recherche hauptsächlich englischsprachige Artikel aufgefunden werden können, die sich dann sehr detailliert mit den molekulargenetischen Ursachen befassen.

Hinweise auf die Qualität der Quellen werden im Unterricht diskutiert.

Als inhaltliche Fakten werden z. B. gesichert:

Saccharose-Intoleranz

- Congenitale Saccharase-Isomaltase-Defizienz (CSID)
- seltene, autosomal-rezessiv vererbte Stoffwechselkrankheit
- Häufigkeit 0,2-0,05%, bei den Inuit deutlich häufiger
- Mutation im SI-Gen, das für das Enzym Saccharase-Isomaltase kodiert
- Funktion des Enzyms: Spaltet Saccharose (Haushaltszucker) und Isomaltose (z. B. im Honig, in Nahrung sonst nur in geringen Mengen enthalten)
- Enzymausfall führt dazu, dass Saccharose und Isomaltose nicht abgebaut und erst im Dickdarm vergoren werden, dies führt zu Bauchkrämpfen und Durchfall
- manifestiert sich etwa ab dem sechsten Lebensmonat beim Kleinkind, da hier durch die Beikost erstmals Zucker aufgenommen wird
- saccharosearme Diät: Haushaltszucker wird durch Traubenzucker, Milchzucker und Fruchtzucker ersetzt

2	Formulieren Sie einen kurzen, informativen Einleitungsabsatz für eine Fachzeitschrift. Der Fachartikel soll sich im weiteren Verlauf mit den molekulargenetischen Ursachen der Saccharose-Intoleranz beschäftigen. Dieser Teil muss (und kann) nicht formuliert werden, sondern wird Gegenstand des Unterrichtes sein. Geben Sie die verwendeten Quellen (mindestens eine) korrekt an.	S 1	E	K 11 12	B

s. Tabelle oben

3	3.1 Geben Sie begründet den Erbgang der CSID im dargestellten Familienstammbaum (Abb. 1) an und ermitteln Sie für alle angegebenen Personen einen möglichen Genotyp. 3.2 Tragen Sie die verschiedenen Ihnen bekannten Erbgänge zusammen. Entwerfen Sie zu jedem Erbgang einen hypothetischen Stammbaum. Erläutern Sie, anhand welcher Merkmale dieser Erbgang im Stammbaum sichtbar wird.	S 3	E	K 9 10	B

3.1 Lösungsweg und Lösung:

- Die Anlage CSID ist rezessiv, denn phänotypisch gesunde Eltern (3/7) haben phänotypisch kranke Kinder (8/9).
- Vermutlich liegt ein autosomaler Erbgang vor, da beide Geschlechter betroffen sind.
- Das rezessive Allel für CSID liegt auf einem Autosom. Läge es auf dem X-Chromosom, müsste die Tochter Nr. 9 phänotypisch gesund sein oder der Vater Nr. 3 auch erkrankt sein.
- Wahl geeigneter Groß- und Kleinbuchstaben, hier z. B.:
  - A dominantes Allel: keine Anlage für CSID;
  - a rezessives Allel: Anlage für CSID.
- mögliche Genotypen:
  - Falls der Großvater 1 an CSID erkrankt ist (aa), ist die Großmutter 2 homozygot (AA) oder heterozygot (Aa) und die Kinder 3-6 allesamt heterozygot (Aa).
  - Falls der Großvater 1 nicht an CSID erkrankt ist, weist mindestens eine Person der Großelterngeneration (1 und 2) den Genotyp Aa auf, die zweite kann homozygot (AA) oder heterozygot (Aa) sein. Dementsprechend können die Kinder 4-6 homozygot (AA) oder heterozygot (Aa) sein, nur der Sohn 3 muss den Genotyp Aa tragen.
  - Die Person 7 ist heterozygot (Aa).
  - Die Personen 8 und 9 sind homozygot (aa).

3.2 Lösung zum Beispiel angelehnt an: https://lehrerfortbildung-bw.de/u_matnatech/bio/gym/bp2004/fb3/4_klasse9_10/9_stamm/309_stammbaumanalyse_vererbungsmuster.pdf, auch in Schulbüchern finden sich geeignete Übersichten.

4	4.1 Bei der Substitution wird ein Basenpaar gegen ein anderes ausgetauscht. Dies kann unterschiedliche Folgen haben. Ergänzen Sie in den freien Spalten der Tabelle 1 jeweils eine selbst gewählte kurze DNA-Sequenz, die entsprechende mRNA und die resultierende Aminosäuresequenz unter Verwendung der Codesonne. 4. 2 Bei einem Verlust oder einem Einschub eines Nucleotids verschiebt sich das Leseraster des genetischen Codes von der Stelle der Mutationen an. Daher nennt man Deletion und Insertion auch (Lese-)Rastermutationen. Verdeutlichen Sie auch diese Mutationstypen an einem Beispiel für eine Insertion im entsprechenden Schema in Material 4. 4.3 Beschreiben Sie die Folgen einer Deletion oder Insertion für die Primärstruktur des entstehenden Polypeptids und vergleichen Sie diese mit den Folgen der anderen Mutationstypen aus der Tabelle 1	S 1 2 3	E	K 9 11	B

a) beliebige Sequenzbeispiele sind möglich,

b) die enge Führung durch die vorgegebenen Linien ermöglicht das Erkennen des Rasterschubs,

c) beschrieben wird hier die vollständige Veränderung der Aminosäurekette ab der Deletion / Insertion im Gegensatz zur punktuellen Veränderung in den Beispielen aus der Tabelle.

5	5.1 Analysieren Sie mit Hilfe der Materialien (Text und Tabelle 2) die Art der Mutationen des SI-Gens unter Angabe der relevanten mRNA-Tripletts und ihre Folgen für das Polypeptid. 5.2 Leiten Sie die Auswirkungen der Mutationen auf Struktur und Funktion der Saccharase-Isomaltase ab (Abb. 2 und 3). 5.3 Begründen Sie die von der jeweiligen Mutation verursachten Symptome (Rechercheergebnisse und Abb. 2 + 3).	S 6	E	K 2 5 9	B

5. 1 Mutationen

AS-Position: 231, Aminosäure: Alanin → Threonin

- Genotyp: (gesund) (CSID-Patient)
  mRNA: GCA ACA
  GCC ACC
  GCU ACU
  GCG ACG

- Es liegt eine Punktmutation (Missense-Mutation) vor; die erste Base des Tripletts Guanin ist durch Adenin ersetzt.
  AS-Position : 1203, Aminosäure: Glutamin → Glutaminsäure

- Genotyp: (gesund) (CSID-Patient)
  mRNA: CAA GAA
  CAG GAG

- Es liegt eine Punktmutation (Missense-Mutation) vor; die erste Base des Tripletts Cytosin ist durch Guanin ersetzt.
  Es findet eine Deletion der letzten Base A an der AS-Position 91 und der ersten Base G an der AS-Position 92 statt.

- Dies führt zu einer Rasterschubmutation, so dass in der Folge alle Tripletts verändert sind und entsprechend andere Aminosäuren eingebaut werden:

- gesund:

AS-Position	91	92	93	94
mRNA	AGA	GGC	UGC	UGC
AS	Arg	Gly	Cys	Cys

- CSID-Patient:

AS-Position	91	92	93	94
mRNA	AGG	CUG	CUG	CUG
AS	Arg	Leu	Leu	Leu

Da die Rasterschubmutation ab AS 92 eine andere AS-Abfolge ergibt, verliert das Protein seine Funktion. Hinzu kommt, dass im Vergleich zum gesunden Menschen (AS-Position 1828) sehr früh (AS-Position 99) ein Stopcodon auftritt.

5. 2 Struktur und Funktion des Enzyms

- Die Mutation an Aminosäurestelle 231 betrifft den Isomaltase-Bereich. Die Isomaltase wird eine nur eingeschränkte Funktion haben.
- An der Aminosäurestelle 1203 betrifft die Mutation den Saccharase-Bereich und führt vermutlich zu Konformationsänderungen der Saccharase und somit zu einer eingeschränkten Funktion der Saccharase. Isomaltase ist hiervon vermutlich nicht betroffen.
- Die Mutation an der AS-Position 91/92 betrifft den Membrananker. Doch durch die Rasterschubmutation wird die Saccharase-Isomaltase nicht synthetisiert.

5. 3 Symptome

- Die Mutation an Aminosäurestelle 231 betrifft den Isomaltase-Bereich. Da die Aufnahme an Isomaltose in der Nahrung nur gering ist, treten die Symptome vermutlich nur selten auf.
- An der Aminosäurestelle 1203 betrifft die Mutation den Saccharase-Bereich, es wird als zu den typischen Symptomen einer Saccharoseintoleranz kommen
- Die Mutation an der AS-Position 91/92 führt zu einem Totalverlust des Enzyms und wird ebenfalls CSID-typische Symptome zur Folge haben.

6	Nennen Sie die Funktion der zwei bei der RT-PCR bislang verwendeten Enzyme. Erläutern Sie die einzelnen Arbeitsschritte bei der Verwendung von 3137 Pol und diskutieren Sie die Vor- und Nachteile gegenüber der bisherigen Methode der RT-PCR.	S 1 2 3	E	K 11	B

Genannt werden muss hier die Funktion der zwei bei der RT-PCR bislang verwendeten Enzyme, sinngemäß:

- Mit dem Enzym Reverse Transkriptase wird RNA in cDNA umgeschrieben.
- Diese cDNA wird mit Hilfe der Taq-Polymerase vervielfältigt.
- Erläutert werden die einzelnen Arbeitsschritte bei der Verwendung von 3137 Pol, z. B.:
  - In einen Thermocycler werden 3137 Pol, die zu untersuchende RNA und Nukleotide sowie passende Primer gegeben.
  - Bei der Primer-Hybridisierung lagern sich spezifische Primer bei ca. 60 °C komplementär an die zu vervielfältigende RNA-Sequenz an.
  - Die Verdopplung (Polymerisation) erfolgt bei 77°C (Optimum der Aktivität von 3137 Pol).
  - Eine kurze Erhöhung der Temperatur auf 90°C trennt die bereits entstandenen Doppelstränge (Denaturierung).
  - Diese Schritte werden 25- bis 35-mal wiederholt, bis eine ausreichende Menge an DNA hergestellt ist.
- diskutiert werden die Vor- und Nachteile gegenüber der bisherigen Methode der RT-PCR:
  - 3137 Pol hat eine geringere Temperaturstabilität als Taq-Polymerase, ein Nachteil, dem aber eine höhere Geschwindigkeit bei geringeren Temperaturen sowie die geringere Fehleranfälligkeit entgegenstehen.

7 Quellenangaben

- Material 2, Abbildung 1:
  Im Auftrag des IQB erstellt, in Anlehnung an: Opitz, H. & Schmid, F. (1965). Handbuch der Kinderheilkunde (Bd. 4). Springer Verlag: Berlin/Heidelberg, S. 211.
- Material 4, Abbildung 2:
  Heine, M. (2005). Komponenten des gerichteten Proteintransports in Säugetierzellen, Dissertation Universität Hannover. Verfügbar unter http://d-nb.info/979490677/34 (Zugriff am 22.04.2016)
- Material 4, Abbildung 3:
  Ritz, V. (2002). Molekulare Grundlagen des defekten Transports eines Glykoproteins bei der Pathogenese der Congenitalen Saccharase-Isomaltase Defizienz. Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.
- Material zu 6, Abbildung 5:
  Moser M.J., DiFrancesco R.A., Gowda K., Klingele A.J., Sugar D.R., et al. (2012) Thermostable DNA Polymerase from a Viral Metagenome Is a Potent RT-PCR Enzyme. PLoS ONE 7(6). Verfügbar unter: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0038371 (Zugriff am 20.05.2020)
- Alle weiteren Materialien und Abbildungen wurden im Auftrag des IQB erstellt, unter Verwendung folgender Sekundärquellen:
  - Aerzteblatt.de (2014). Warum viele Inuit keinen Haushaltszucker vertragen. Verfügbar unter: http://www.aerzteblatt.de/nachrichten/61084/Warum-viele-Inuit-keinen-Haushaltszucker-vertragen (Zugriff am 03.11.2015)
  - Lehrerinnnen Fortbildung Baden-Württemberg. Stammbaumanalyse und Vererbungsmuster. Verfügbar unter: https://lehrerfortbildung-bw.de/u_matnatech/bio/gym/bp2004/fb3/4_klasse9_10/9_stamm/309_stammbaumanalyse_vererbungsmuster.pdf (Zugriff am 01.07.2019)
  - Marcadier J. L. et al. (2014). Congenital sucrase-isomaltase deficiency: identification of a common Inuit founder mutation. Canadian Medical Association Journal 187, 102–107.
  - Opitz, H. & Schmid, F. (1965). Handbuch der Kinderheilkunde (Bd. 4). Springer Verlag: Berlin/Heidelberg, S. 211 (Abb. 1)
  - Spektrum (2001). Lexikon der Ernährung: Saccharose-Isomaltose-Malabsorption. Verfügbar unter: http://www.spektrum.de/lexikon/ernaehrung/saccharose-isomaltose-malabsorption/7758 (Zugriff am 03.11.2015)