

-
- Genetic map of the 100 Mb region on chromosome 1p36.3. The map shows various genes and markers along a horizontal line. Genes shown include PHYA, SRP44A, M236, U-0, MS_1, ARR3, ADR1, HGA_1, MS1, M142, ER, LIP, M19A, CA1, MNSOD, DWF, ARB, S11, NIT1, A8N1, AP3, J, M151, SA1, HY4, M405, AG, RP62, M143, AP2, TFL1, CHS, NG2439, PHYC, DFR, M558A, LFY3, M556. Markers are indicated by vertical lines, and some genes have blue boxes indicating specific features.

Kartierungen



Beispiel: KKWW und kkww

K: normales Wachstum

k: langes Hypokotyl

W: weißes Hypokotyl

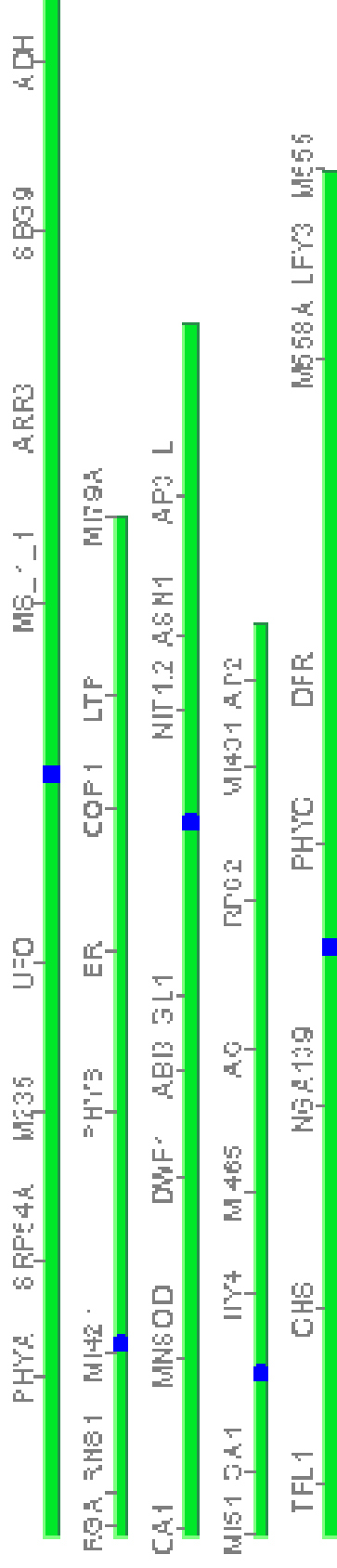
w: lila Hypokotyl

Durch den Erbgang soll ermittelt werden, ob die Gene gekoppelt vererbt werden. Wenn ja, soll ihr genetischer Abstand quantifiziert werden.

Genisolierung



- Kartierung des Gens auf den Chromosomen



- Abstand zwischen zwei Markern ergibt sich aus der **Rekombinationshäufigkeit**

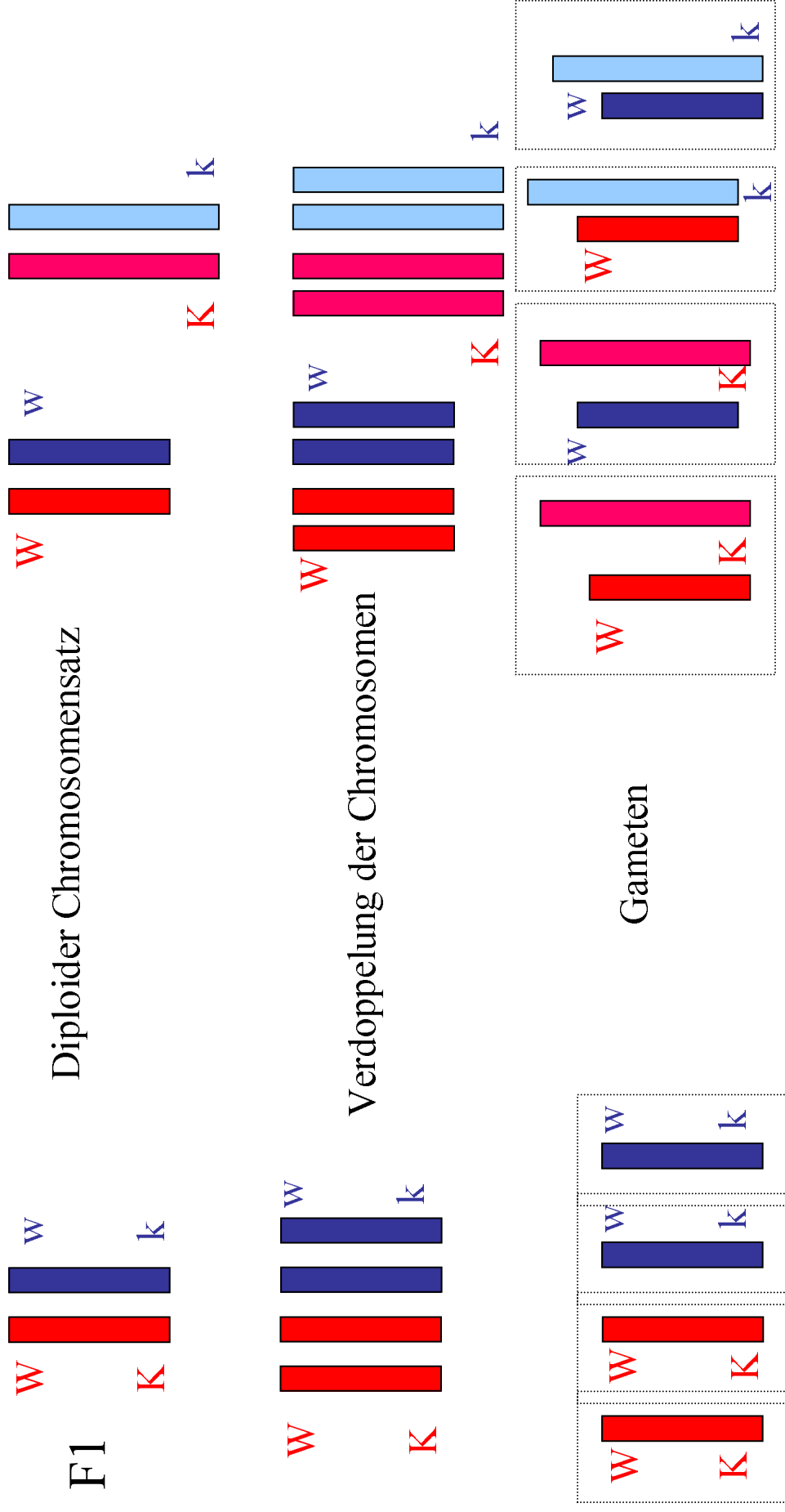
Kreuzungen



Eltern **KKWW** x **kkww** (normal, weiß) (lang, lila)

F1: **KkWw** (normal, weiß)

Gekoppelte und unabhängige Vererbung



Kreuzungen



Eltern **KKWW** x **kkww** (**normal, weiß**) (lang, lila)

F1: **KkWw** x **kkww** (**normal, weiß**)

Wenn Eigenschaften gekoppelt vererbt werden:

KW **kw**

kw **KkWw** **kkww**

(**normal, weiß**) (lang lila)

nur parentale Phänotypen,
keine Rekombination

Wenn Eigenschaften nicht gekoppelt vererbt werden:

KW **Kw** **kw**

kw **KkWw** **Kkww** **kkWw** **kkww**

1

1

1

1

(**normal, weiß**) (**normal, lila**) (**lang, weiß**) (lang lila)

Rekombinationshäufigkeiten



Realität:

(normal, weiß)	(lang, lila)	(lang, weiß)	(normal, lila)
(1139)	(1194)	(151)	(154)

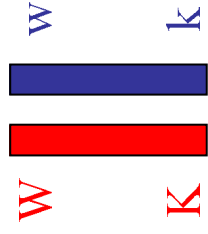
Gesamtzahl der Keimlinge: 2839

Rekombinante Phänotypen: 305

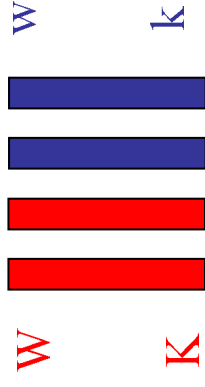
10,7 % (10 cM)

Jedes Chromosom hat ca. 100 cM

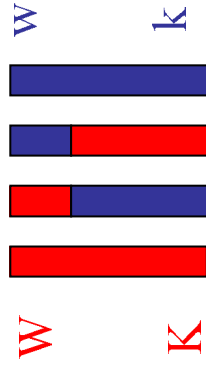
Rekombination bei der Meiose



Diploider Chromosomensatz



Verdoppelung der Chromosomen



Crossing-over

Rekombinationshäufigkeiten



Realität:

(normal, weiß)	(lang, lila)	(lang, weiß)	(normal, lila)
(1139)	(1194)	(151)	(154)

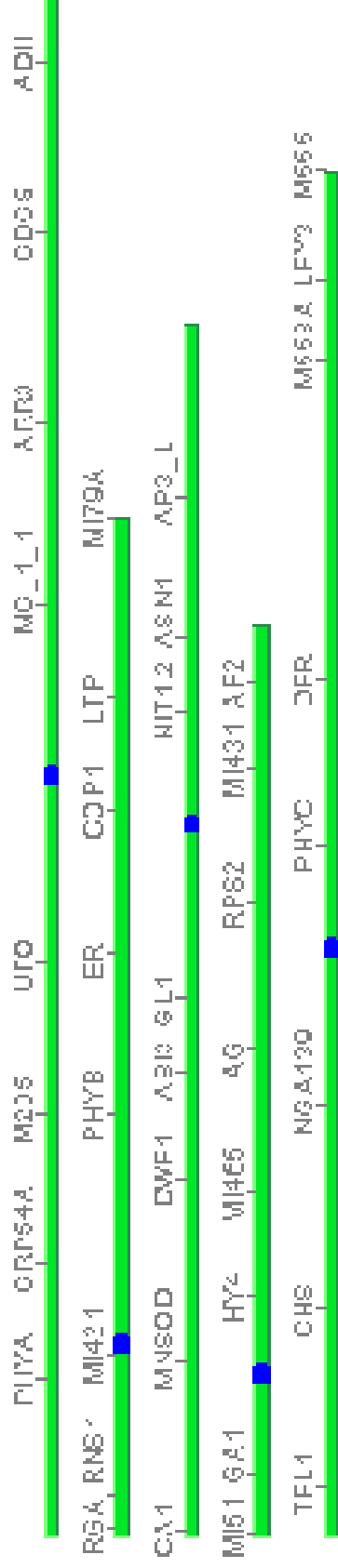
Gesamtzahl der Keimlinge: 2839

Rekombinante Phänotypen: 305

10,7 % (10 cM)

Jedes Chromosom hat ca. 100 cM

Kartierungen



Chromosom 1:30 000 000: 1 cM entsprechen 300 000 bp.

1. Vorteil von Arabidopsis

kleines Genom: 100 Millionen bp

Mais: 2500 Millionen bp

Mensch: 3500 Millionen bp

Arabidopsis als Modellpflanze



- Kleines Genom
- Kurze Generationszeit (6 Wochen)
- Geringe Größe
- Viele Samen
- Selbstbestäubend



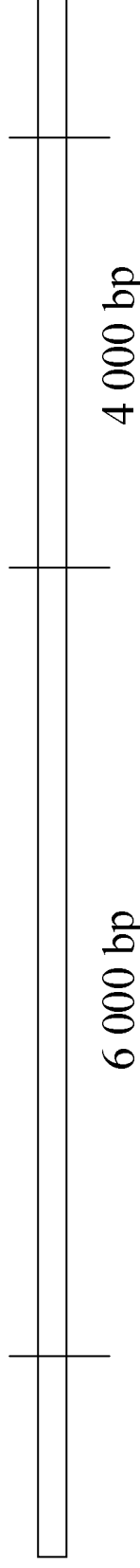
Molekulare Marker



Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus RFLP

Restriktionsfragmente entstehen durch die Inkubation der DNA mit bestimmten Enzymen, den Restriktionsendonukleasen

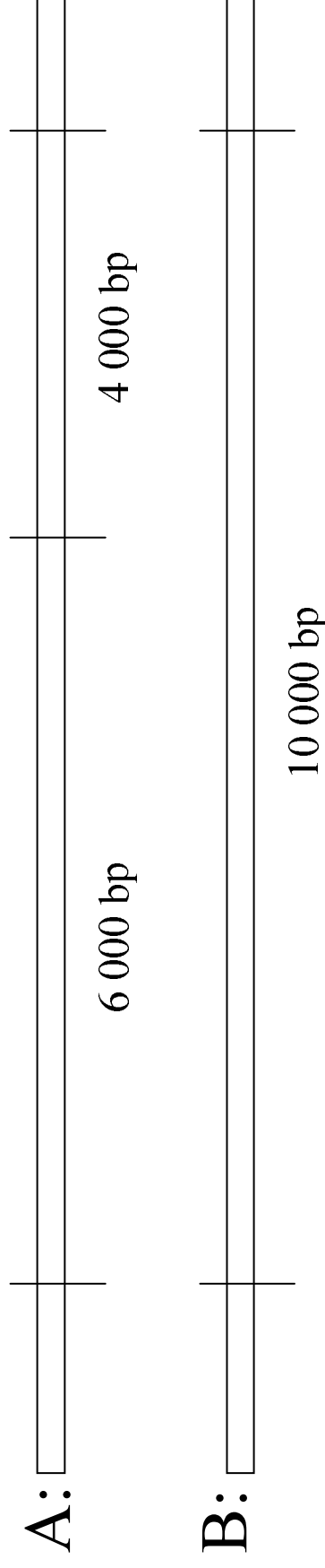
Zum Beispiel: *EcoRI* schneidet die Sequenz GAATTC



Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus

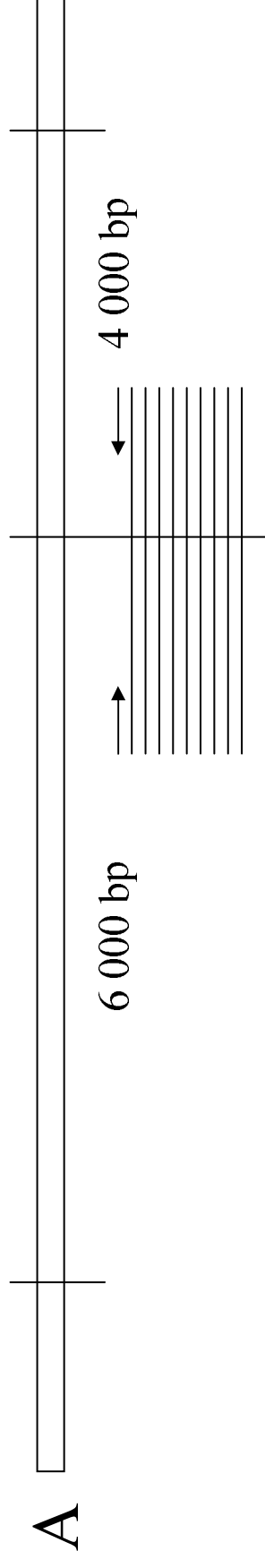


In zwei getrennten Populationen treten verschiedene Mutationen auf, die eine Restriktionsschnittstelle löscht oder generiert.

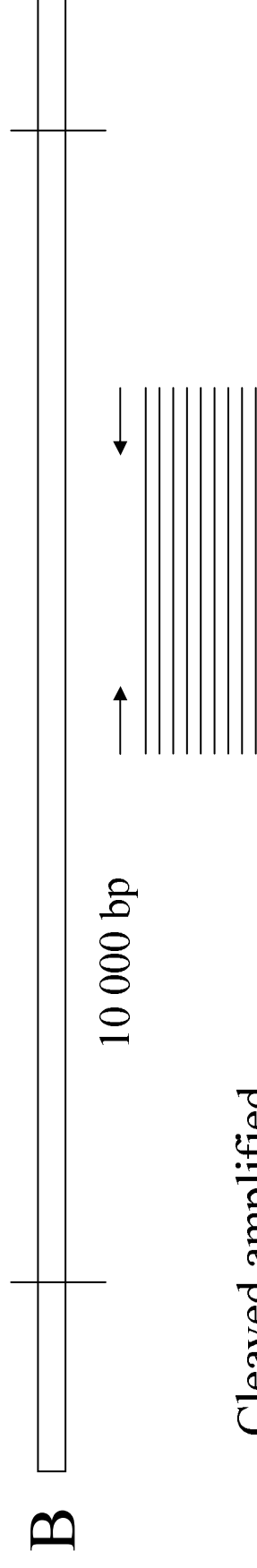


A und B sind verschiedene Ökotypen (A: in Schweden gesammelt und geselbstet, damit die Population reinerbig wird; B: in Afrika gesammelt und geselbstet, damit die Populaition reinerbig wird.

Polymerasekettenreaktion



2 Fragmente



Cleaved amplified
polymorphic sequences

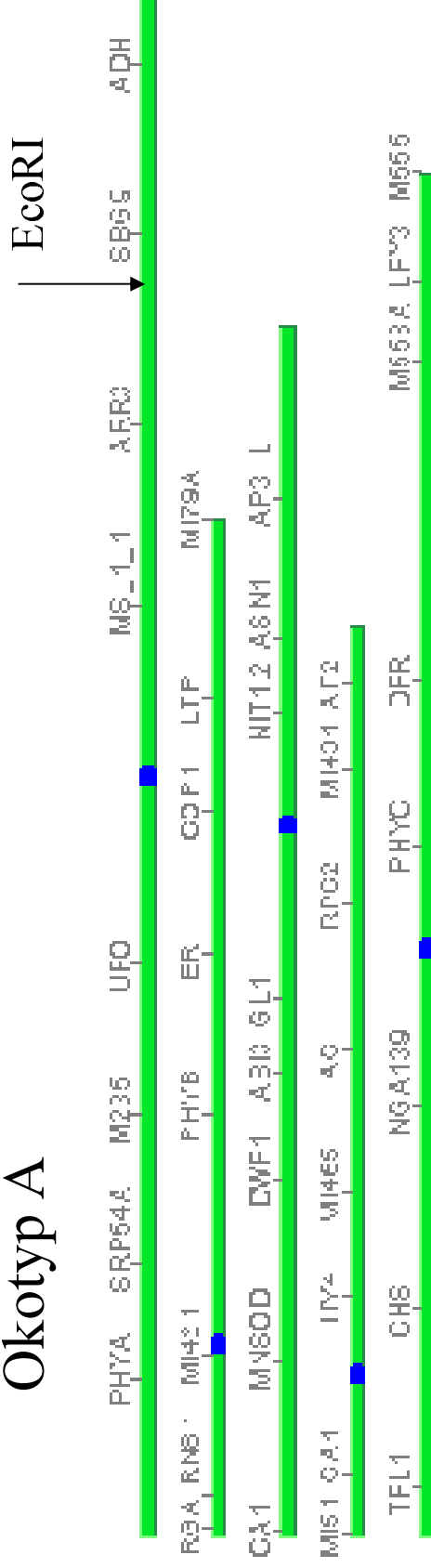
CAPS

1 Fragment

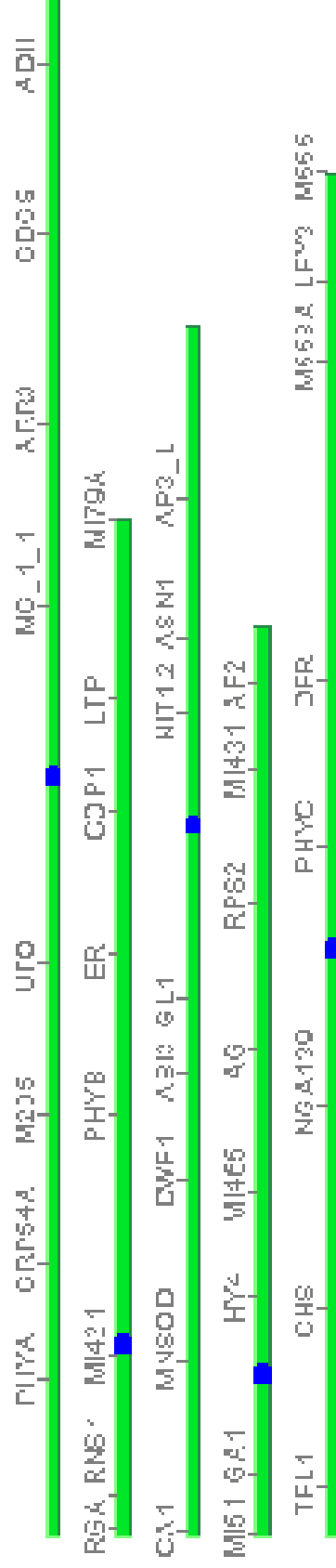
Kartierung von molekularen Markern



Ökotyp A



Ökotyp B



Genisolierung



- Liegt das betroffene Gene GNOM in der Nähe des RFLP-Markers (EcoRI)?

Kartierung



Ökotyp A (gn gn EE) x Ökotyp B (GN GN ee)

gnom

normal

2 Fragmente

1 Fragment

F1:

gn GN / Ee

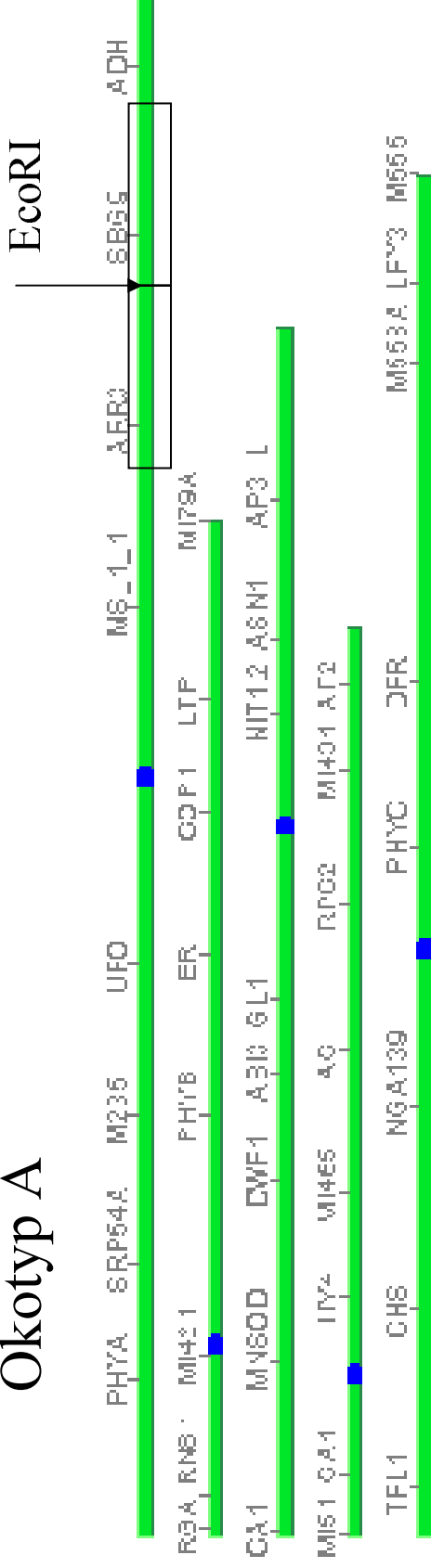
normal

3 Fragmente

Kartierung von molekularen Markern



Ökotyp A



Chromosom 1: 30 000 000: 1 cM entsprechen 300 000 bp.

10cM entsprechen 3 Millionen bp

Weitere Analysen der DNA der Rekombinanten mit weiteren CAPS-Markern, bis man auf 1 cM genau kartiert hat.

Analyse der 300 000 bp

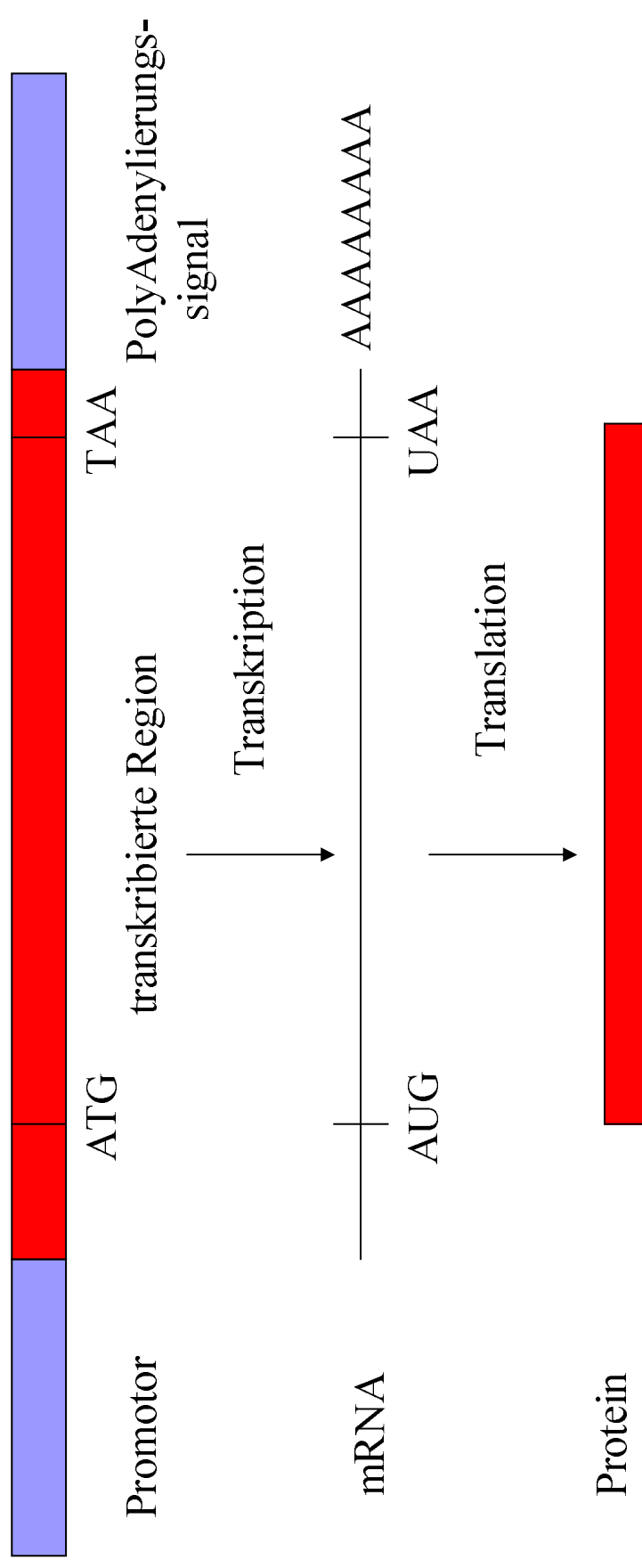


- Sequenz im Netz zeigt „Open reading frames“ an
- ggtaaacggtaaccctcctaggagATG GAC TCC GCC
... .. TAAcccttgggggattgcctaaa
- Datenbank: Expressed Sequence Tags (ESTs)
Gibt Sequenzen an, die in mRNA umgeschrieben werden.

Expressed sequence tags



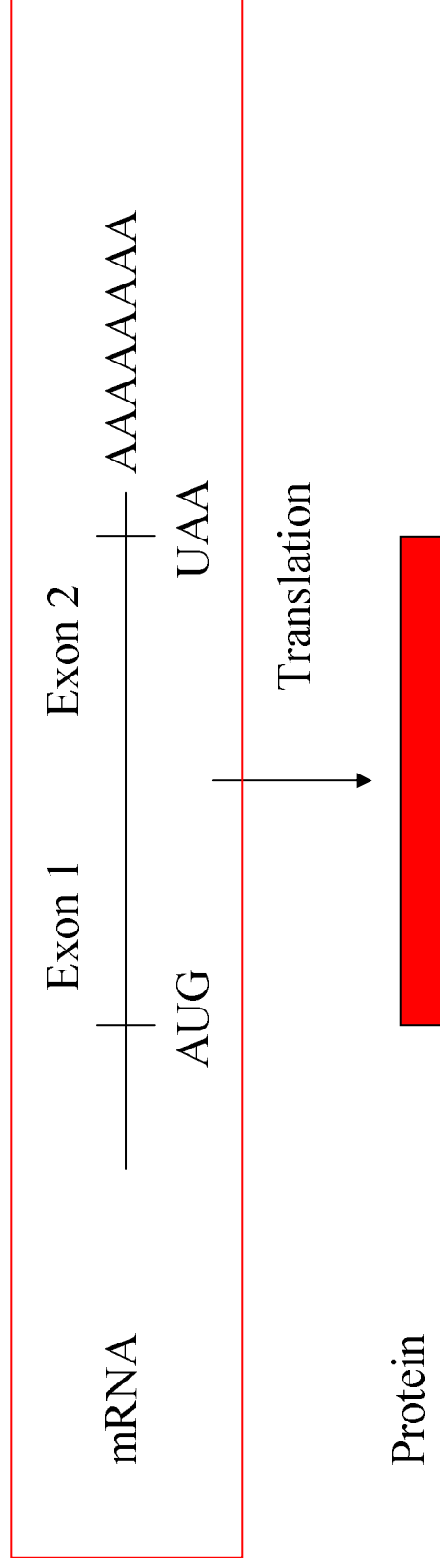
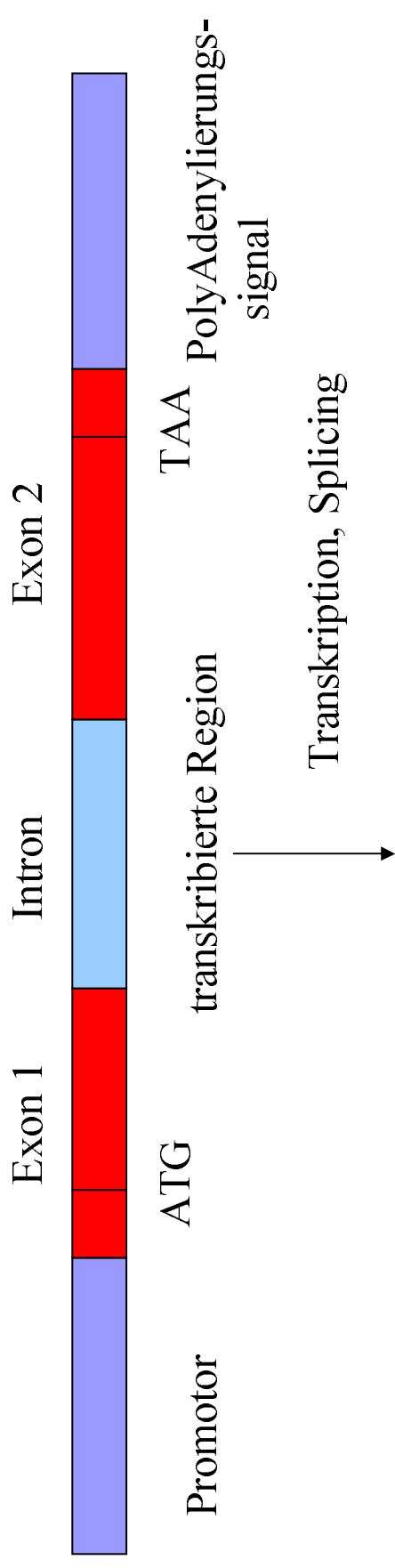
Genstruktur



Expressed sequence tags



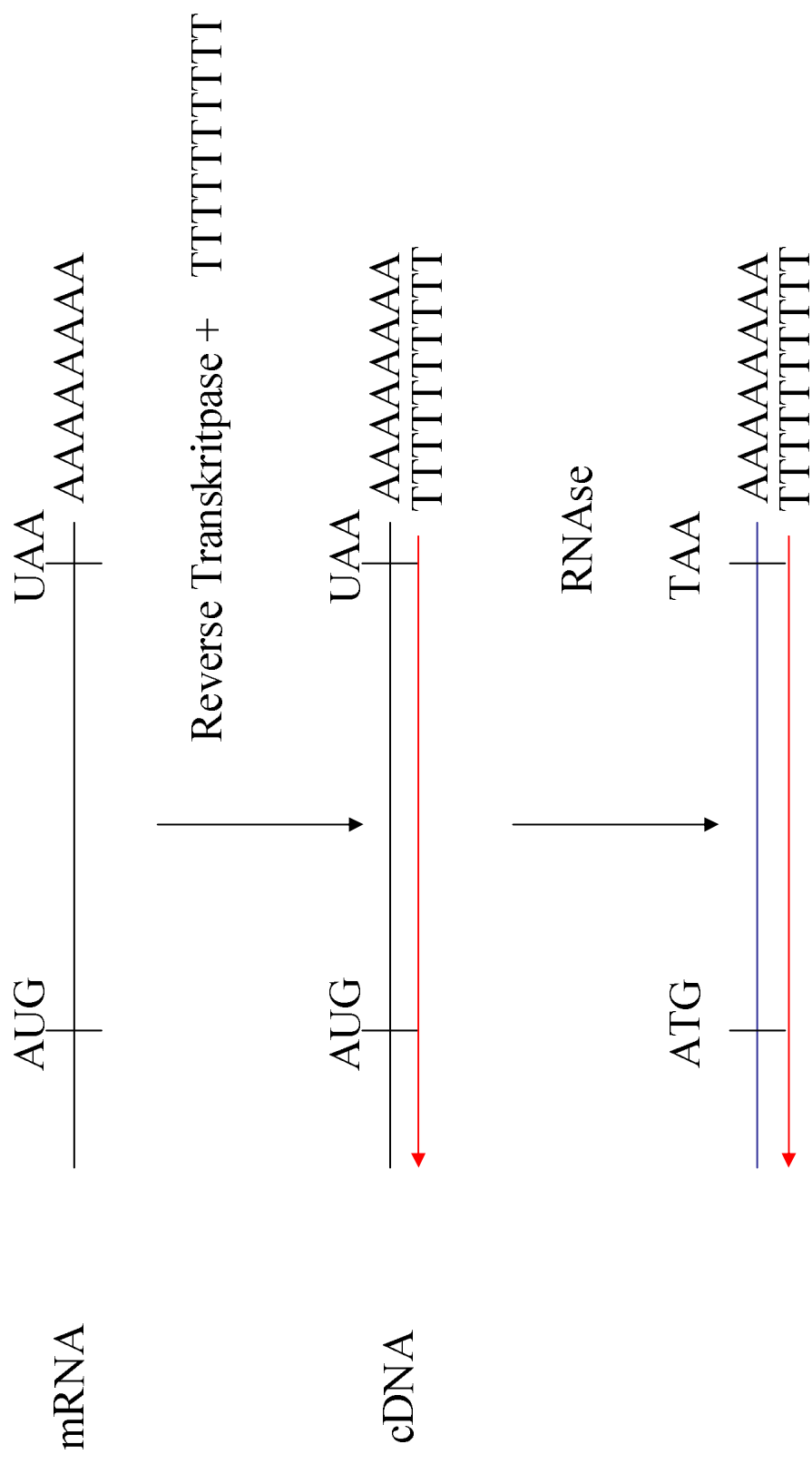
Genstruktur



Protein



Expressed sequence tags

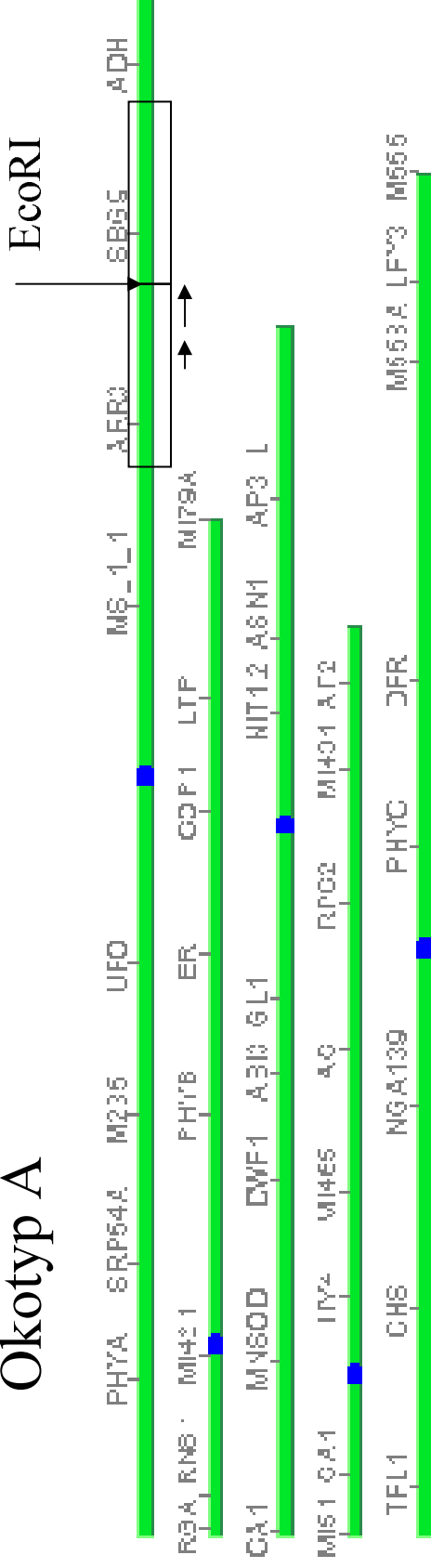


Sequenzierung

Kartierung von molekularen Markern



Ökotyp A

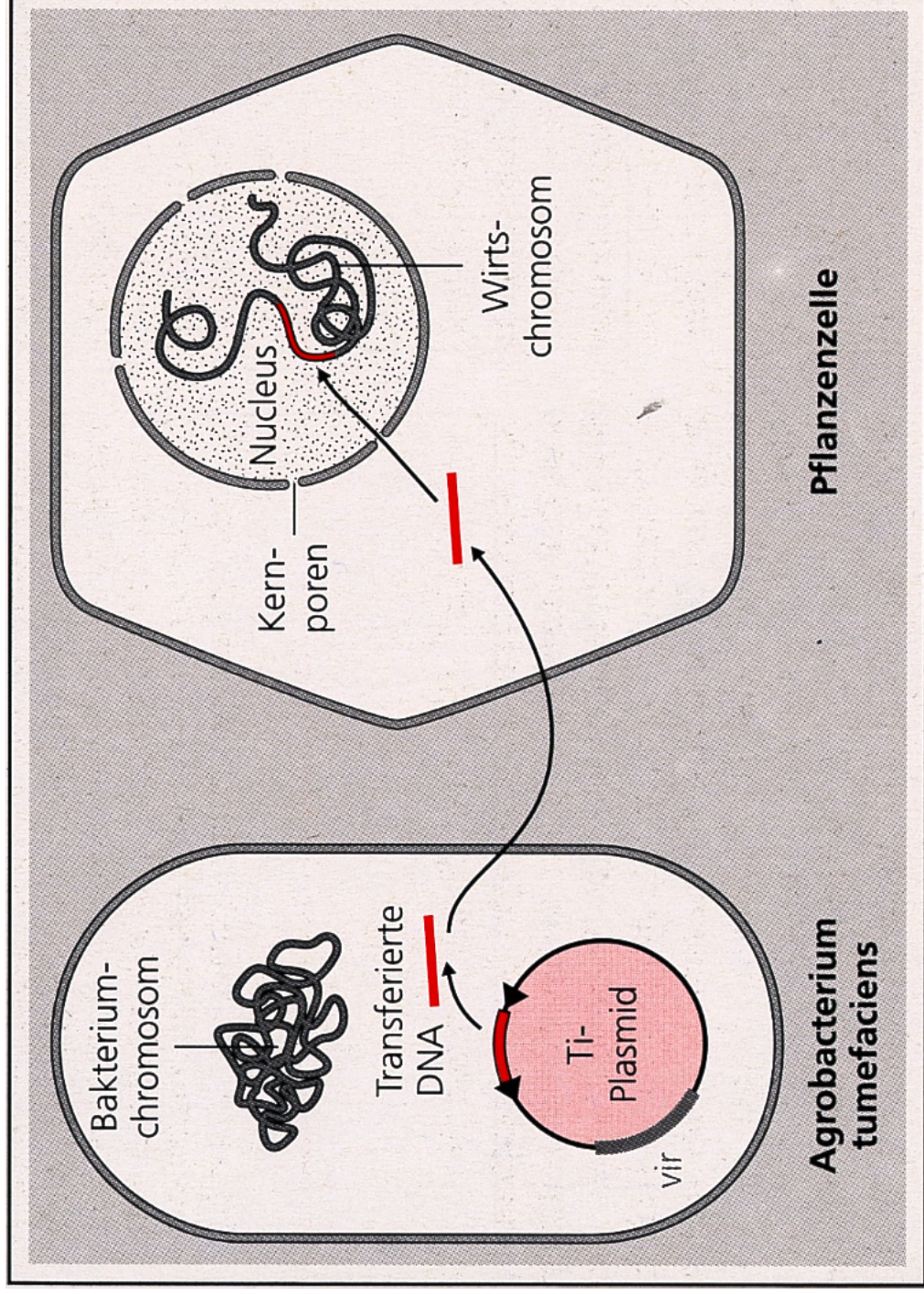


Chromosom 1: 30 000 000: 1 cM entsprechen 300 000 bp.

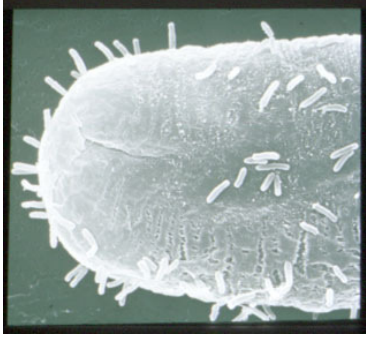
Komplementation

Transformation der Mutante mit dem geeigneten genomischen Abschnitt.

Gentransfer in der Natur

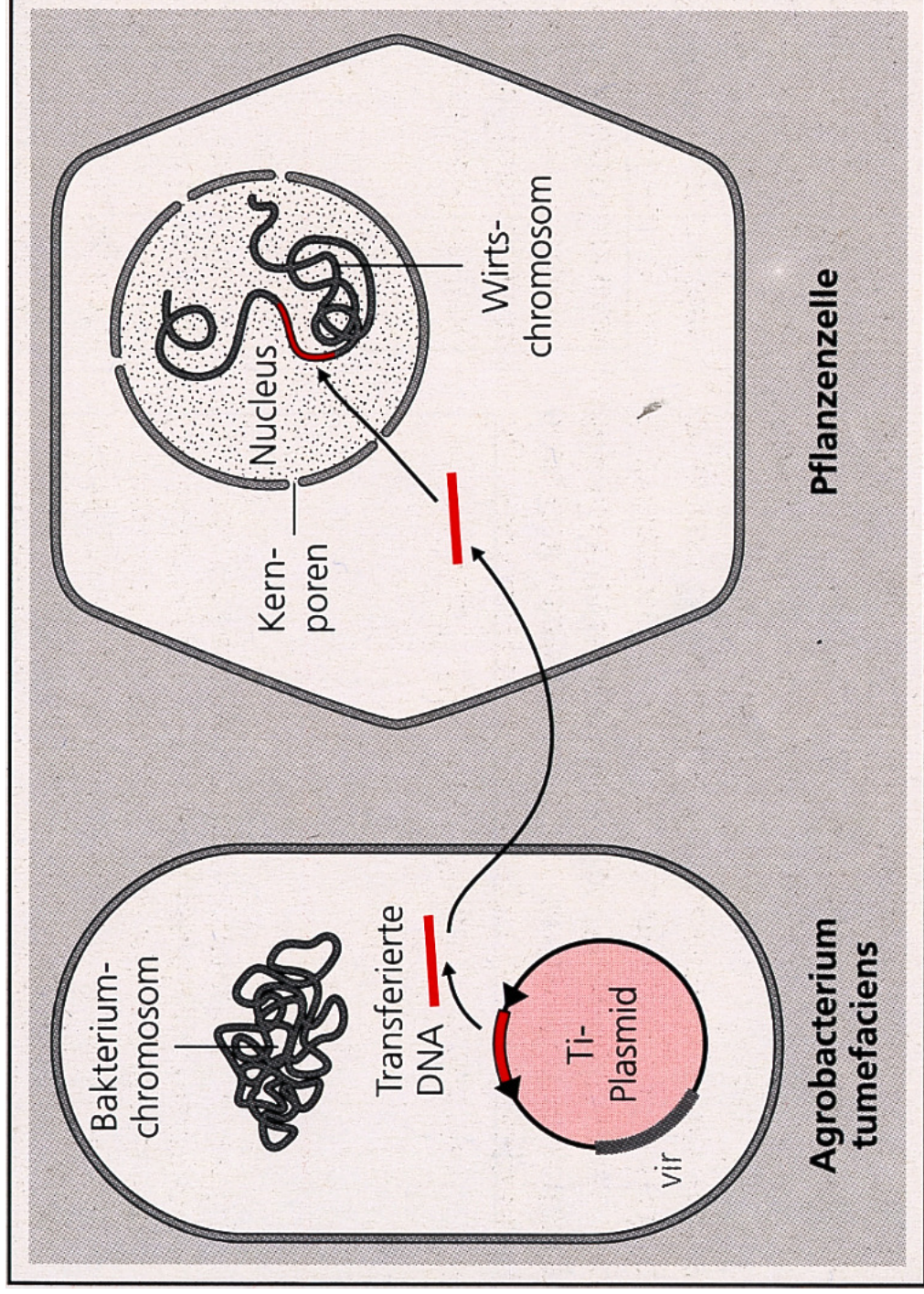


Agrobacterium tumefaciens Infektion führt zur Bildung von Tumoren

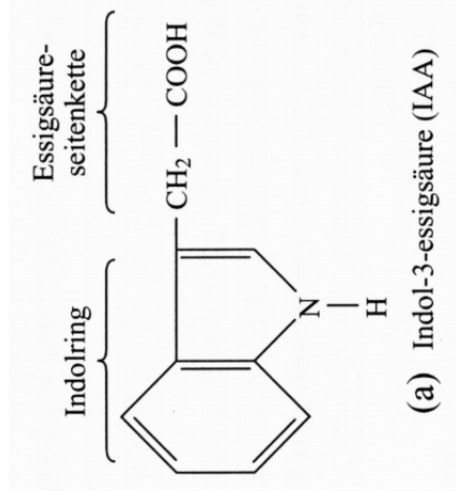
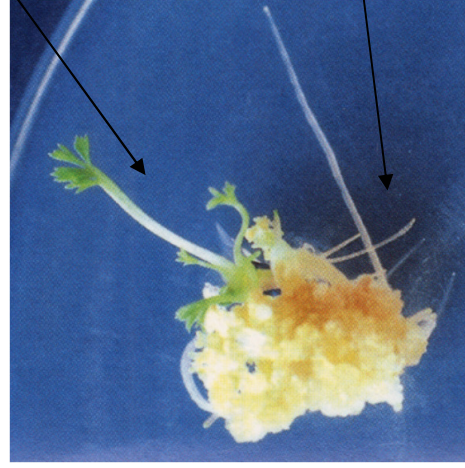


- Tumoren wachsen auch in Abwesenheit der Bakterien.
- Tumorzellen enthalten bestimmte DNA-Abschnitte des Bakteriums (T-DNA)

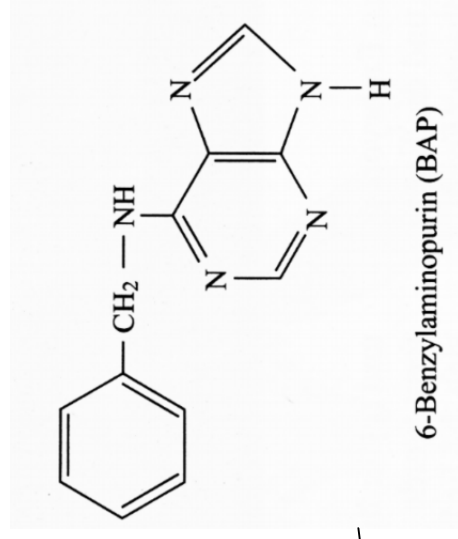
Gentransfer in der Natur



Agrobacterium tumefaciens Infektion führt zur Synthese von Pflanzen- hormonen

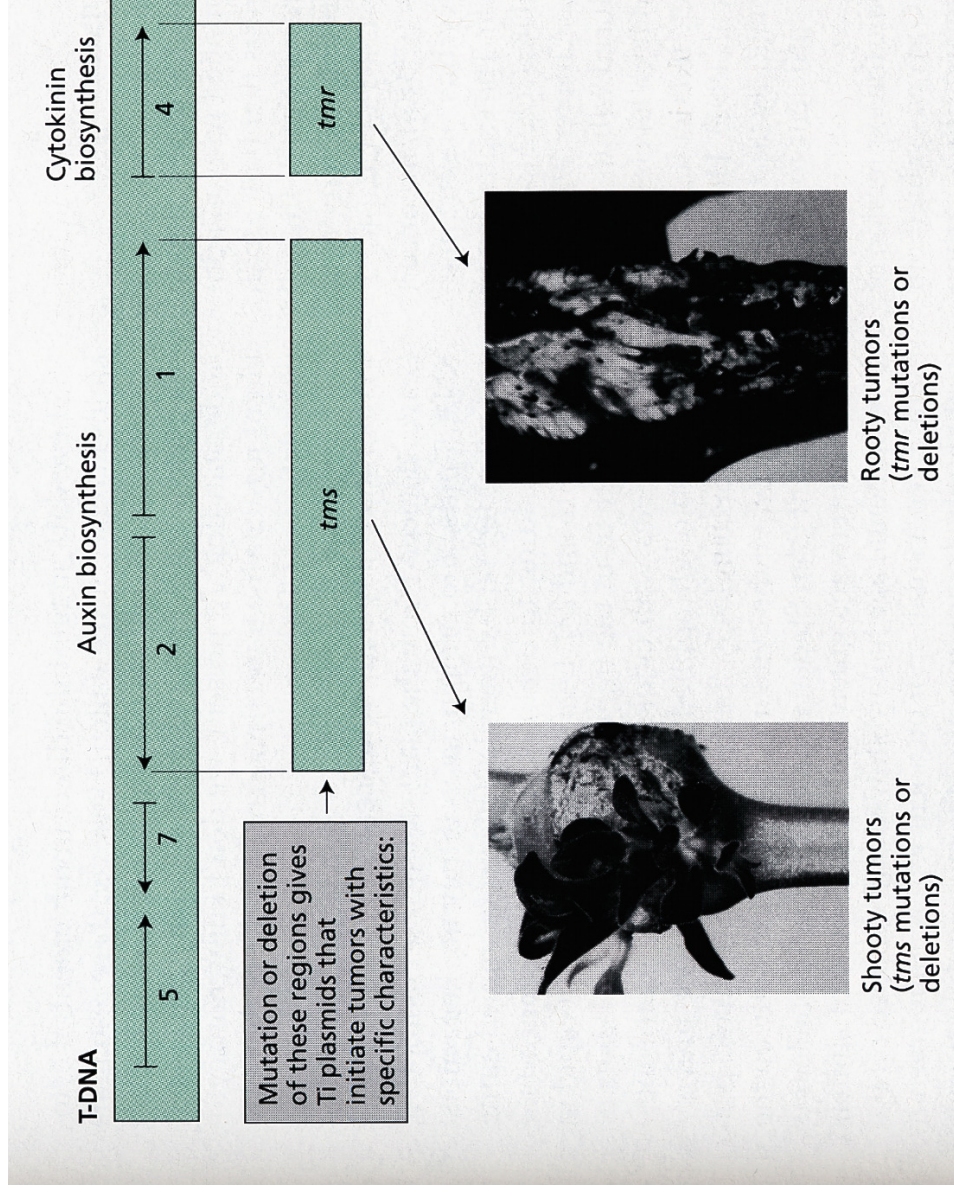


Auxin

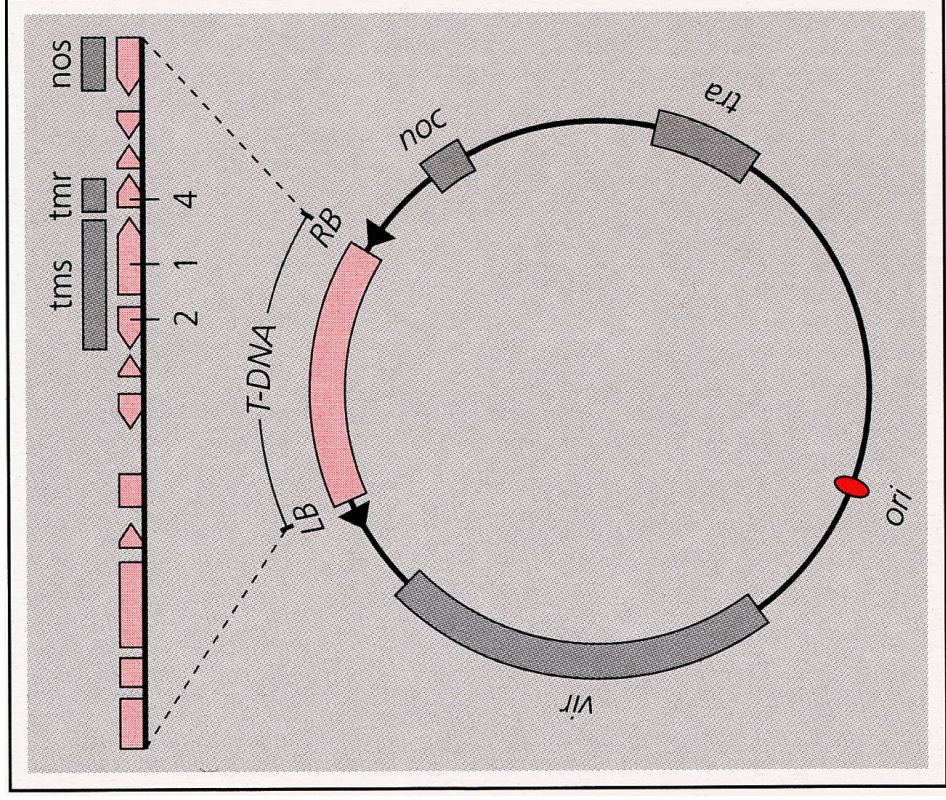


Cytokinin

T-DNA kodiert für Tumor-Gen

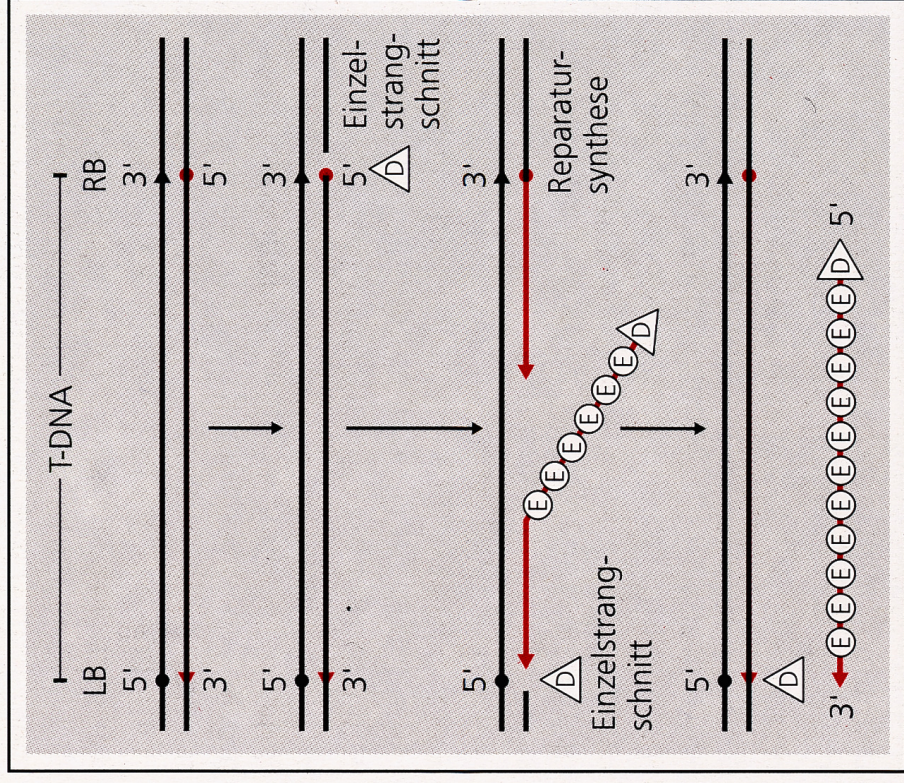


Das Ti-Plasmid



- Ti-Plasmid:
 - Tumor-induzierendes Plasmid
- T-DNA
 - Transferierte DNA
 - Border-Sequenzen (Left border LB, right border RB)
- Tumorgene
 - Gene für Opinsynthese
- Virulenz-Region
 - Gene, die den Transfer der T-DNA ermöglichen

Transfer der T-DNA

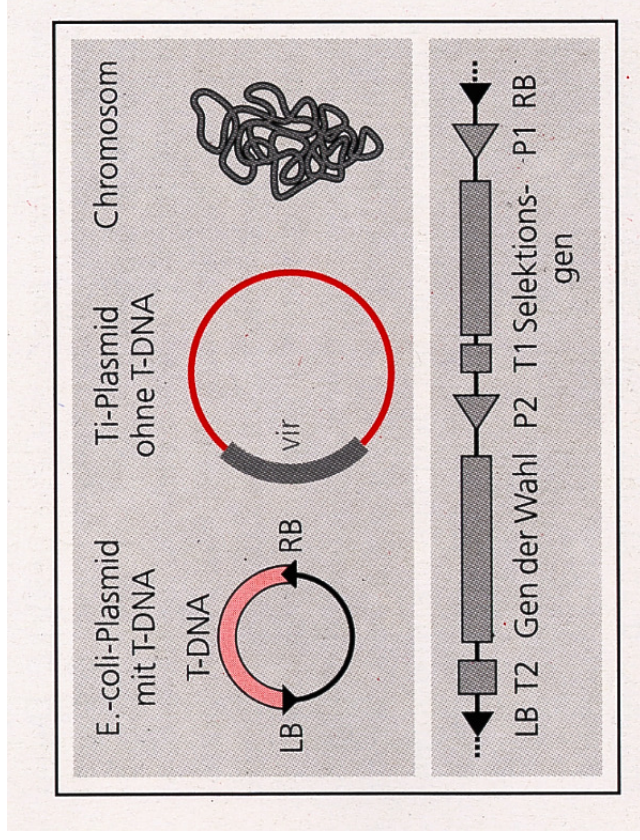


- Einzelstrangbruch an der Right border durch VirD
- Reparatur durch DNA-Neusynthese
- Verpackung des Einzelstranges durch VirE
- Transfer des verpackten T-DNA-Stranges

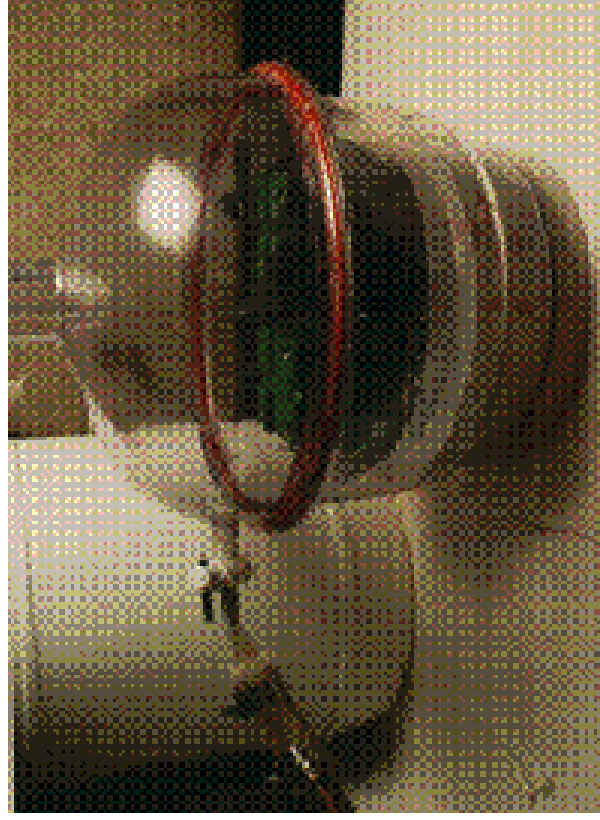
Veränderungen des Ti-Plasmids zum Gentransfer



- Verteilung der Funktionen des T-Plasmids auf zwei Plasmide
 - Ti-Plasmid ohne T-DNA
 - Zweites Plasmid mit Bordersequenzen.
- Tumorgene wurden deletiert.
- Einfügen anderer Gene zwischen die Bordersequenzen



Transformation von *Arabidopsis*



Transformation von *Arabidopsis*



Transformation von *Arabidopsis*

