



empfohlenes Lernvideo zur Zusammenfassung (3:48 min): <https://youtu.be/4FK7Agf8Mgo>

Im Jahr 1920 wütete die spanische Grippe erneut in Europa, nachdem sie schon in der ersten Welle zwei Jahre zuvor, im Schatten des ersten Weltkriegs wenig beachtet, viele Todesopfer gerade unter den jungen Erwachsenen gefordert hatte. Viele Patienten starben an bakteriellen Lungenentzündungen. Die durch das Virus angegriffene Lunge und das geschwächte Immunsystem konnten den Bakterien nur wenig Widerstandskraft entgegenbringen. FREDERICK GRIFFITH (1871-1941) forschte deshalb an Impfstoffen gegen die krankheitsauslösenden *Pneumokokken*. Ein in diesem Zusammenhang durchgeführtes Grundlagenexperiment aus dem Jahr 1928 gab große Rätsel auf. GRIFFITH nutzte für dieses Experiment zwei verschiedene Pneumokokken-Stämmen:

- Bakterien des **S-Stamms** (von *smooth*, glatt) sind krankheitserregend. Sie sind in der Lage Schleimkapseln zu bilden und erscheinen daher im Lichtmikroskop glatt.
- Bakterien des **R-Stamms** (von *rough*, rau) sind nicht pathogen. Da sie die Fähigkeit zur Bildung der schützenden Schleimkapsel verloren haben, werden sie vom Immunsystem erkannt und bekämpft. Unter dem Lichtmikroskop erscheinen sie rau.

Das GRIFFITH-Experiment bestand aus vier Teilversuchen:

1.1 Welche Schlussfolgerungen ziehen Sie aus den Versuchsergebnissen?

1. Mäuse, denen Pneumokokken des R-Stamms injiziert wurden, blieben gesund.
2. Mäuse, denen Pneumokokken des S-Stamms injiziert wurden, erkrankten tödlich an Pneumonie.
3. Injizierte man durch Hitze abgetötete Pneumokokken des S-Stamms, erkrankten die Tiere nicht.
4. Wurden Mäusen die abgetötete S-Form zusammen mit der lebenden R-Form injiziert, erkrankten sie und starben. Im Blut der Mäuse konnten lebende Bakterien der S-Form nachgewiesen werden.

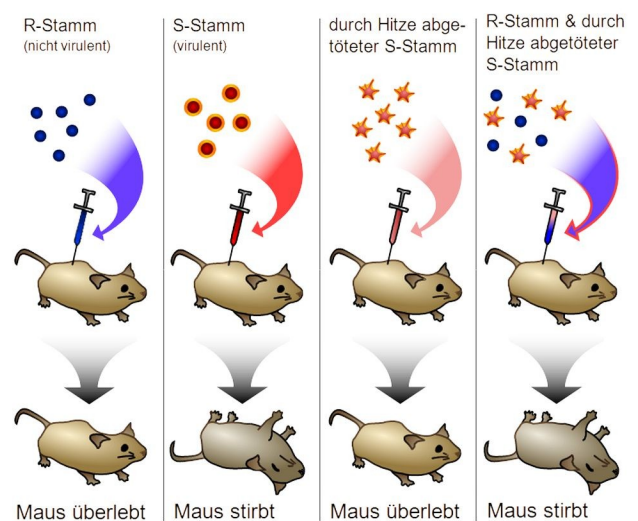


Abb. 1.1: Zusammenfassung. Q: wikimedia.org, Autor: Madprime, Jiver

Definition *vertikaler Gentransfer*:

Definition *horizontalen Gentransfer*:

Definition *Transformation*:

Das Experiment von GRIFFITH konnte nicht klären, aus welchen Stoffen die Erbinformation besteht. Allgemein wurden Proteine favorisiert, da diese in der Zelle allgegenwärtig und an allen Stoffwechselfunktionen beteiligt sind. Die ebenfalls in großen Mengen in den Chromosomen

vorhandene DNA erschien als Erbsubstanz weniger geeignet, da sie zur Informationscodierung nur vier variablen Monomeren („Buchstaben“) kennt, Proteine hingegen zwanzig Aminosäuren.

OSWALD AVERY und einige seiner Kollegen führten auf den Erkenntnissen von GRIFFITH aufbauend, ergänzende Experimente durchzuführen. Nach jahrelanger Forschung konnten Sie im Jahr 1944 folgende Zusammenfassung präsentieren: Nach Abtötung des S-Stamms wurden die Biomolekül-Bestandteile, also Proteine, Lipide, Polysaccharide und Nucleinsäuren so gut es die Methoden damals zuließen voneinander getrennt. Die Verabreichung der Protein-, der Lipid- und der Polysaccharid-Fraktion an Bakterien des R-Stamms und anschließende Infektion der Mäuse erwies sich für letztere als harmlos. Eine Fraktion

führte jedoch dazu, dass der damit behandelte R-Stamm der Pneumokokken virulent wurde und sich auch lichtmikroskopisch zu einem S-Stamm umwandelte. Infizierte man Mäuse damit, führe dies zu deren Tod.

Die chemische Zusammensetzung des Gemisches in dieser Fraktion war nicht genau bekannt und musste durch weitere Experimente und Aufreinigungsschritte mühsam herausgefunden werden. Dazu verfeinerten sie das Reinigungsverfahren, bis sie als Ergebnis einen Zellextrakt erhielten, dessen Mengenanteile an Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Phosphor denen von DNA entsprachen.

1.2 AVERY lies auf die isolierte DNA-Fraktion proteinspaltende Enzyme, wie Chymotrypsin oder Trypsin, RNA-spaltende Enzyme und auch andere Spaltungsenzyme einwirken. Begründen sie, was damit gezeigt werden sollte.

1.3 AVERY wiederholten den Versuch auch mit Nachkommen der durch Transformation virulent gewordenen Stämmen mit den gleichen Ergebnissen. Die isolierte DNA-Fraktion führte bei der Transformation auch hier zur Virulenz. Was konnte damit bewiesen werden?

[nicht relevant für KAs aber sehr interessant.]: Wikipedia-Artikel zu Kompetenz (Bakterien). Stand: 2022_02_15

Kompetenz ist die Fähigkeit von Zellen, im umgebenden Medium frei vorhandene DNA aufzunehmen; sie ist damit Voraussetzung für die Transformation von Bakterien.

Nur bestimmte Bakterienarten, wie z. B. *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* oder *Neisseria gonorrhoeae* zeigen eine natürliche Kompetenz. Das Genom dieser Bakterien verfügt über spezifische Gene, deren Genprodukte für die Erkennung von DNA, deren Aufnahme in die Zelle und Integration durch Rekombination in das Genom verantwortlich sind (die sogenannten *com*-Gene).

Natürliche Kompetenz wurde zuerst 1928 von Frederick Griffith an "Pneumokokken" (*Streptococcus pneumoniae*) entdeckt, die durch Transformation Erbinformation aus einem durch Hitzebehandlung abgetöteten Stamm aufnahmen (Griffiths Experiment)

1944 nutzte Oswald Avery die Kompetenz bei seinen berühmten Versuchen zum Nachweis der DNA als Träger der Erbinformationen. John Spizizen entdeckte 1961 die Kompetenz in *B. subtilis* und beschrieb ein spezielles Nährmedium: Bei der Kultivierung von *B. subtilis* in diesem Medium zeigt die wachsende Bakterienkultur innerhalb eines Zeitfensters von etwa 30 Minuten maximale Expression der Kompetenzgene. Diese Entdeckung erleichterte die Entwicklung von Genkarten für *B. subtilis* und führte letztendlich dazu, dass *B. subtilis* ein Modellorganismus für die Genetik der grampositiven Bakterien wurde.

Jedoch ist die Kompetenz streng reguliert, ist demnach nicht konstitutiv vorhanden und kann in bestimmten Arten, z. B. *B.*

subtilis über Quorum sensing gesteuert werden. Bei Kultivierung in Spizizens Spezialmedium zeigen die *B. subtilis*-Zellen eine Heterogenität ihrer Kompetenzeigenschaften, zum Zeitpunkt der maximalen Kompetenz sind nur etwa 30 % der Zellen in einer Kultur tatsächlich kompetent.

Nicht natürlich kompetent ist das Darmbakterium *Escherichia coli*, das heißt, im Genom von *E. coli* ist kein kompletter Satz Kompetenzgene vorhanden. Mit Hilfe einer Calciumchlorid-Behandlung und anschließendem Hitzeschock kann jedoch durch einen im Detail noch nicht bekannten Mechanismus künstliche Kompetenz erreicht werden, wenn auch zu einer geringeren Rate. Alternativ kann in so genannten elektrokompetenten Bakterien (z. B. *Agrobacterium tumefaciens*) DNA mittels Elektroporation eingeschleust werden. Die so hergestellte künstliche Kompetenz der *E. coli*-Zellen wird in der Molekularbiologie in Form der Transformationseffizienz gemessen. Sie ist definiert als die Anzahl der Bakterienkolonien die pro µg Plasmid-DNA aus der Transformation hervorgehen. Sie liegt üblicherweise zwischen 10^7 und $10^{10}/\mu\text{g}$. Als Test-DNA dienen Vektoren wie zum Beispiel pUC18 oder pBR322.

In der Natur dient Kompetenz im Wesentlichen der Reparatur mutierter DNA-Abschnitte und der Evolution durch Aufnahme von Fremdgenen durch Horizontalen Gentransfer. Bei pathogenen Bakterien wie *S. pneumoniae* und *N. gonorrhoeae* ist die Kompetenz auch für die Übertragung von Antibiotikaresistenzgenen verantwortlich. *E. coli* kann mit Hilfe des nicht kompletten Reservoirs der Kompetenzgene DNA als C-, N- und P-Quelle verwerten.