

**Vorgesehene Bearbeitungsdauer für diese Aufgabe:**

**90 Minuten**

Gesamtdauer der Klausur gemäß VV zu § 14 Absatz 1 APO-GOST: 225 Minuten (Q2.1)

300 Minuten (Q2.2)

inclusive 30 Minuten Auswahlzeit

## **Thema: Resistenzen gegen Akarizide**

Akarizide sind Gifte zur Bekämpfung von Spinnentieren wie Milben und Zecken. Sie wirken auch auf viele Insektenarten. Bei einigen Arten wurden Resistenzen gegenüber bestimmten Wirkstoffen der Akarizide entdeckt. Die resistenten Tiere können nicht wirksam mit diesen Mitteln bekämpft werden.

### **Aufgabenstellung:**

1. Beschreiben Sie drei Typen von Genmutationen und deren mögliche Auswirkungen auf das Genprodukt. *(8 BE)*
2. Geben Sie für die in Tabelle 1 dargestellten Aminosäuresequenzen der Wildtypen von Taufliege und Gemeiner Spinnmilbe jeweils einen möglichen codogenen DNA-Strang an (M 1). Leiten Sie ausgehend von diesen DNA-Sequenzen den vorliegenden Mutationstyp ab (M 1 und M 4). *(8 BE)*
3. Stellen Sie eine Hypothese zur Erklärung der unterschiedlichen Wirksamkeit von Fipronil und Fluralaner bei allen in Tabelle 1 angegebenen Arten auf (M 1 und M 2). *(10 BE)*
4. Stellen Sie die Unterschiede dar zwischen einem phylogenetischen Stammbaum zur Darstellung der Verwandtschaft von Lebewesen und einem phylogenetischen Stammbaum zur Darstellung der Evolution von Proteinen (M 3). *(3 BE)*
5. Analysieren Sie den Stammbaum in Abbildung 2 bezüglich der Evolution der Chloridionen-Kanalproteine (M 3). Stellen Sie auf dieser Basis eine Hypothese auf, weshalb Fluralaner sowohl auf GABA-gesteuerte Chloridionen-Kanäle als auch auf Glutamat-gesteuerte Chloridionen-Kanäle wirkt (M 2 und M 3). *(11 BE)*

## M 1 Resistenzen gegen Akarizide

Die Akarizide Fipronil und Fluralaner wirken als Nervengifte. Sie binden an Chloridionen-Kanäle, die mit dem Liganden  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) gesteuert werden.

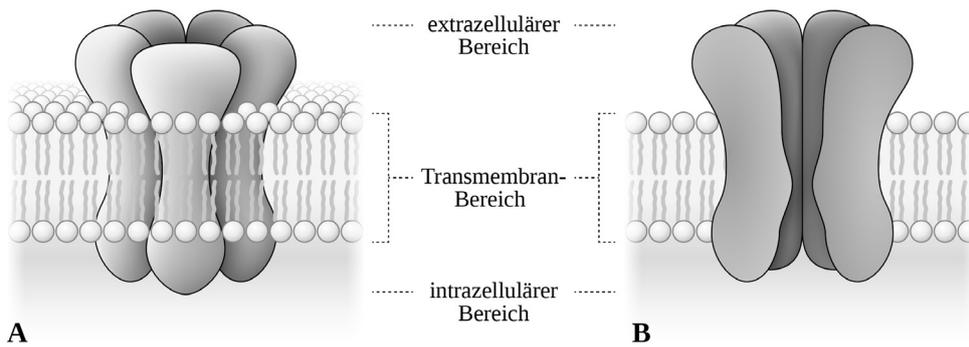
Bei einigen Insekten und Spinnentieren wie der Gemeinen Spinnmilbe wurden Resistenzen gegenüber Fipronil und Fluralaner entdeckt. Auf der Suche nach den Ursachen für diese Resistenzen wurden die GABA-gesteuerten Chloridionen-Kanäle genauer untersucht. Dazu wurden für die Wildtypen und resistenten Mutanten verschiedener Insektenarten sowie für die Gemeine Spinnmilbe die Aminosäuresequenzen des Chloridionen-Kanalproteins ermittelt und verglichen (Tabelle 1).

**Tabelle 1** Ausschnitt aus der Aminosäuresequenz des GABA-gesteuerten Chloridionen-Kanalproteins von Wildtyp und Mutante verschiedener Arten. Die angegebenen Aminosäurepositionen entsprechen der Nummerierung des Proteins der Taufliege (*Drosophila melanogaster*). Die Empfindlichkeit der Wildtypen und Mutanten gegenüber einer hohen Dosis Fipronil oder Fluralaner ist angegeben.

	Aminosäureposition	- 299 - 300 - 301 - 302 - 303 - 304 -	Empfindlichkeit gegen	
			Fipronil	Fluralaner
<b>Taufliege</b> ( <i>Drosophila melanogaster</i> )	Wildtyp	-Arg-Val-Ala-Leu-Gly-Val-	ja	unbekannt
	Mutante	-Arg-Val-Ser-Leu-Gly-Val-	gering	unbekannt
<b>Stubenfliege</b> ( <i>Musca domestica</i> )	Wildtyp	-Arg-Val-Ala-Leu-Gly-Val-	ja	ja
	Mutante	-Arg-Val-Ser-Leu-Gly-Val-	gering	ja
<b>Wanderspornzikade</b> ( <i>Laodeolpax striatellus</i> )	Wildtyp	-Arg-Val-Ala-Leu-Gly-Val-	ja	ja
	Mutante	-Arg-Val-Asn-Leu-Gly-Val-	gering	ja
<b>Gemeine Spinnmilbe</b> ( <i>Tetranychus urticae</i> )	Wildtyp	-Arg-Val-His-Leu-Gly-Val-	gering	ja
	-	-		

## M 2 Aufbau des GABA-gesteuerten Chloridionen-Kanals

Die GABA-gesteuerten Chloridionen-Kanäle bestehen aus fünf Polypeptid-Untereinheiten, die gemeinsam eine Kanalpore umschließen. Jede Untereinheit umfasst einen Transmembranbereich, einen extrazellulären und einen intrazellulären Bereich (Abbildung 1). Durch die Bindung des Liganden GABA an den extrazellulären Bereich des Chloridionen-Kanals wird dieser geöffnet. Wenn Fipronil oder Fluralaner an diesen Ionenkanal binden, wird er in seiner Funktion gestört. Der in Tabelle 1 gezeigte Abschnitt der Aminosäuresequenz liegt im Transmembranbereich des Chloridionen-Kanalproteins.



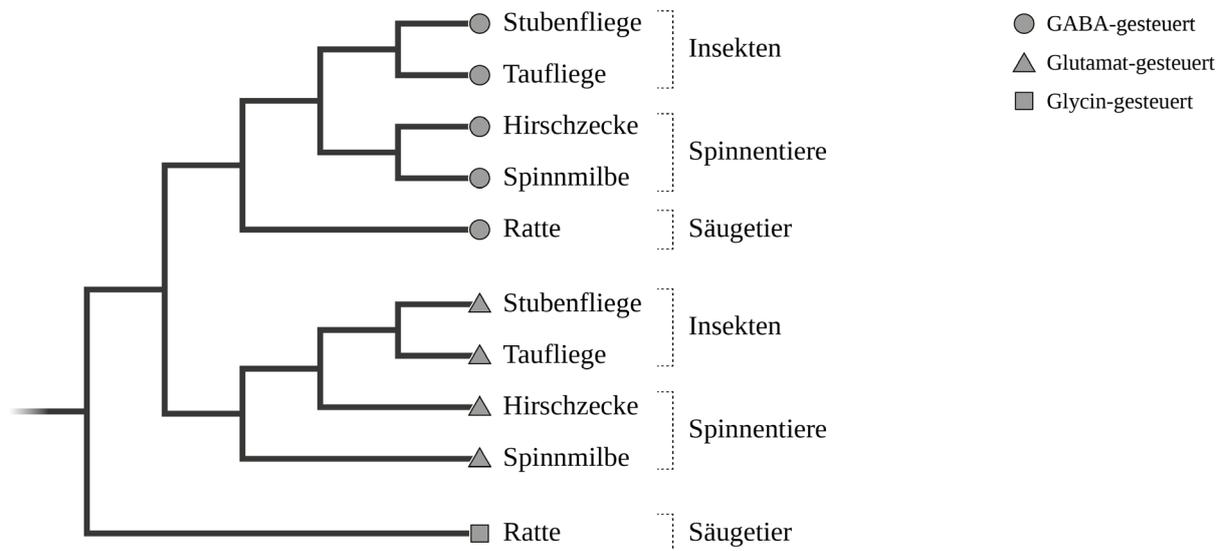
**Abbildung 1** GABA-gesteuerter Chloridionen-Kanal.

**A** Schematischer Aufbau; **B** Längsschnitt durch den Kanal

### M 3 Stammbaum von Chloridionen-Kanalproteinen

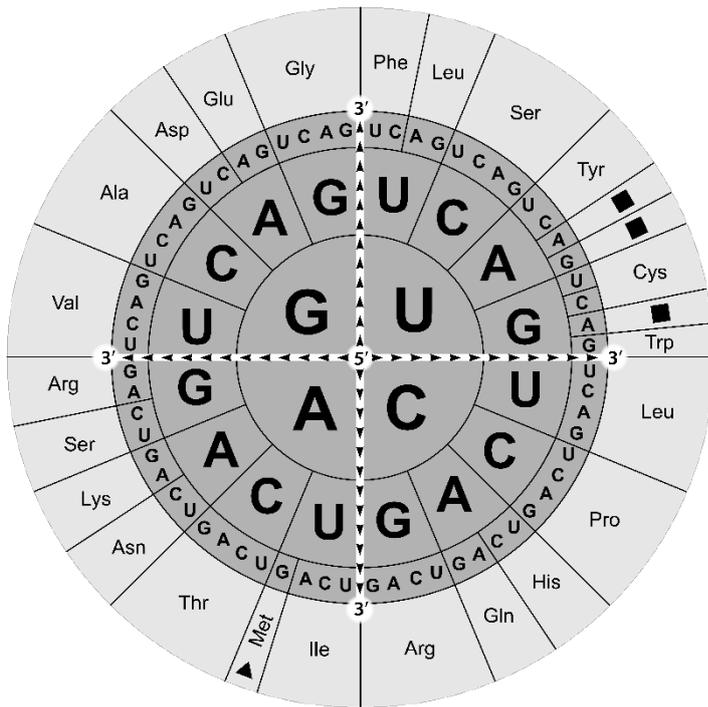
Es gibt verschiedene Typen von ligandengesteuerten Chloridionen-Kanalproteinen. Neben GABA-gesteuerten Chloridionen-Kanalproteinen gibt es auch Chloridionen-Kanalproteine, die von Glutamat und von Glycin gesteuert werden. Säugetiere besitzen sowohl GABA- als auch Glycin-gesteuerte Chloridionen-Kanalproteine. Glutamat-gesteuerte Chloridionen-Kanalproteine kommen nur bei wirbellosen Tieren vor. Die Aminosäuresequenzen einer Untereinheit verschiedener ligandengesteuerter Chloridionen-Kanalproteine unterschiedlicher Tierarten wurden miteinander verglichen und daraus ein Stammbaum abgeleitet (Abbildung 2).

Fluralaner wirkt nicht nur auf GABA-gesteuerte Chloridionen-Kanäle von Insekten und Spinnentieren, sondern etwas schwächer auch auf Glutamat-gesteuerte Chloridionen-Kanäle.



**Abbildung 2** Ausschnitt aus einem Stammbaum von Chloridionen-Kanalproteinen. Der Stammbaum basiert auf Aminosäuresequenzvergleichen einer Untereinheit verschiedener ligandengesteuerter Chloridionen-Kanäle.

**M 4 Code-Sonne**



- |     |   |                |
|-----|---|----------------|
| Ala | A | Alanin         |
| Arg | R | Arginin        |
| Asn | N | Asparagin      |
| Asp | D | Asparaginsäure |
| Cys | C | Cystein        |
| Gln | Q | Glutamin       |
| Glu | E | Glutaminsäure  |
| Gly | G | Glycin         |
| His | H | Histidin       |
| Ile | I | Isoleucin      |
| Leu | L | Leucin         |
| Lys | K | Lysin          |
| Met | M | Methionin      |
| Phe | F | Phenylalanin   |
| Pro | P | Prolin         |
| Ser | S | Serin          |
| Thr | T | Threonin       |
| Trp | W | Tryptophan     |
| Tyr | Y | Tyrosin        |
| Val | V | Valin          |
- 
- |   |             |
|---|-------------|
| ▶ | Start-Codon |
| ■ | Stopp-Codon |

**Vorgesehene Bearbeitungsdauer für diese Aufgabe:**

**90 Minuten**

Gesamtdauer der Klausur gemäß VV zu § 14 Absatz 1 APO-GOST: 225 Minuten (Q2.1)

300 Minuten (Q2.2)

inclusive 30 Minuten Auswahlzeit

Thema: Resistenzen gegen Akarizide Lösungsvorschlag	BE (AFB)	Erreichte BE																																
<b>1</b>																																		
<p><b>Beschreiben</b></p> <p>Genmutationen werden in Substitutionen, Insertionen und Deletionen unterteilt. Bei einer Substitution sind einzelne Nukleotide gegen andere ausgetauscht. Bei einer Insertion sind ein oder mehrere Nukleotide in die DNA eingefügt und bei einer Deletion fehlen ein oder mehrere Nukleotide.</p> <p>Eine Substitution kann zu einem veränderten Triplet führen, wodurch eine andere Aminosäure in die Polypeptidkette eingebaut wird. Es liegt dann eine Missense-Mutation vor. Alternativ kann sie zur Bildung eines Stoppcodons führen. Da die Translation am Stoppcodon abbricht, ist die Polypeptidkette verkürzt. Es handelt sich um eine Nonsense-Mutation. Wenn das durch die Substitution veränderte Triplet für die gleiche Aminosäure codiert, handelt es sich um eine stumme Mutation und die Aminosäuresequenz bleibt unverändert.</p> <p>Die Deletion von einem oder zwei Nukleotiden führt zu einer Veränderung des Leserasters. Durch diese Rasterschubmutation ändern sich alle nachfolgenden Triplets und somit die gesamte folgende Aminosäuresequenz. Das Gleiche gilt für die Insertion von einem oder zwei Nukleotiden. Wenn drei Nukleotide deletiert sind, fehlt eine Aminosäure bei ansonsten unveränderter Aminosäuresequenz. Ebenso führt die Insertion von drei Nukleotiden zum Einbau einer zusätzlichen Aminosäure.</p>	8 (I)																																	
<b>2</b>																																		
<p><b>Angeben</b></p> <p><b>Taufliege Wildtyp</b></p> <table border="1" data-bbox="204 1059 1034 1238"> <tr> <td>Aminosäuresequenz</td> <td colspan="3">- Arg - Val - Ala - Leu - Gly - Val -</td> </tr> <tr> <td>mRNA</td> <td>5'</td> <td>- CGG - GUG - GCC - CUU - GGG - GUG -</td> <td>3'</td> </tr> <tr> <td>nicht-codogener Strang</td> <td>5'</td> <td>- CGG - GTG - GCC - CTT - GGG - GTG -</td> <td>3'</td> </tr> <tr> <td>codogener Strang</td> <td>3'</td> <td>- GCC - CAC - CGG - GAA - CCC - CAG -</td> <td>5'</td> </tr> </table> <p><b>Gemeine Spinnmilbe Wildtyp</b></p> <table border="1" data-bbox="204 1317 1034 1496"> <tr> <td>Aminosäuresequenz</td> <td colspan="3">- Arg - Val - His - Leu - Gly - Val -</td> </tr> <tr> <td>mRNA</td> <td>5'</td> <td>- CGG - GUG - CAC - CUU - GGG - GUG -</td> <td>3'</td> </tr> <tr> <td>nicht-codogener Strang</td> <td>5'</td> <td>- CGG - GTG - CAC - CTT - GGG - GTG -</td> <td>3'</td> </tr> <tr> <td>codogener Strang</td> <td>3'</td> <td>- GCC - CAC - GTG - GAA - CCC - CAG -</td> <td>5'</td> </tr> </table> <p><i>(Andere, nach dem genetischen Code korrekte DNA-Sequenzen sind entsprechend zu werten. Die mRNA-Sequenz und der nicht-codogene Strang müssen nicht angegeben werden)</i></p>	Aminosäuresequenz	- Arg - Val - Ala - Leu - Gly - Val -			mRNA	5'	- CGG - GUG - GCC - CUU - GGG - GUG -	3'	nicht-codogener Strang	5'	- CGG - GTG - GCC - CTT - GGG - GTG -	3'	codogener Strang	3'	- GCC - CAC - CGG - GAA - CCC - CAG -	5'	Aminosäuresequenz	- Arg - Val - His - Leu - Gly - Val -			mRNA	5'	- CGG - GUG - CAC - CUU - GGG - GUG -	3'	nicht-codogener Strang	5'	- CGG - GTG - CAC - CTT - GGG - GTG -	3'	codogener Strang	3'	- GCC - CAC - GTG - GAA - CCC - CAG -	5'	6 (II)	
Aminosäuresequenz	- Arg - Val - Ala - Leu - Gly - Val -																																	
mRNA	5'	- CGG - GUG - GCC - CUU - GGG - GUG -	3'																															
nicht-codogener Strang	5'	- CGG - GTG - GCC - CTT - GGG - GTG -	3'																															
codogener Strang	3'	- GCC - CAC - CGG - GAA - CCC - CAG -	5'																															
Aminosäuresequenz	- Arg - Val - His - Leu - Gly - Val -																																	
mRNA	5'	- CGG - GUG - CAC - CUU - GGG - GUG -	3'																															
nicht-codogener Strang	5'	- CGG - GTG - CAC - CTT - GGG - GTG -	3'																															
codogener Strang	3'	- GCC - CAC - GTG - GAA - CCC - CAG -	5'																															
<p><b>Ableiten</b></p> <p>Im Vergleich zwischen Taufliege und Gemeiner Spinnmilbe zeigt die DNA-Sequenz an Triplet 301 zwei Punktmutationen in Form von Basensubstitutionen.</p>	2 (II)																																	
<b>3</b>																																		
<p><b>Hypothese aufstellen</b></p> <p>Alle gegen Fipronil resistenten Mutanten und der resistente Wildtyp der Spinnmilbe weisen einen Aminosäureaustausch an Position 301 des GABA-gesteuerten Chlorid-Ionenkanals auf. Eine Veränderung der Aminosäure an dieser Position scheint den entsprechenden Organismen eine Resistenz gegen Fipronil zu verleihen. Möglicherweise ist die Bindestelle von Fipronil betroffen, sodass Fipronil bei diesen Organismen nicht an den Kanal binden kann. Im Gegensatz dazu ist Fluralaner auch bei Vorliegen dieser Mutation wirksam. Fluralaner muss also an einer anderen Stelle des Kanalproteins wirksam werden.</p> <p>Die von der Mutation betroffene Aminosäure 301 ist Teil des Transmembranbereichs der Untereinheit und vermutlich im Bereich der Kanalpore lokalisiert. Die Bindung von Fipronil im Bereich der Kanalpore könnte deren Funktionsfähigkeit beeinträchtigen, zum Beispiel den Ionenstrom hemmen. Fluralaner könnte zum Beispiel an einer anderen Stelle innerhalb der Pore an den Transmembranbereich binden, wodurch eine ähnliche Wirkung wie bei Fipronil erzeugt wird. Denkbar wäre auch, dass Fluralaner</p>	5 (II) 5 (III)																																	

<b>Thema: Resistenzen gegen Akarizide</b> <i>Lösungsvorschlag</i>	<b>BE (AFB)</b>	<b>Erreichte BE</b>
an den extrazellulären Bereich der Untereinheit bindet und so zum Beispiel die Bindung von GABA verhindert.		
<b>4</b>		
<b>Darstellen</b> Ein phylogenetischer Stammbaum von Lebewesen ist eine grafische Darstellung der möglichen Verwandtschaftsbeziehungen, etwa von verschiedenen Arten. Dazu werden zum Beispiel Sequenzvergleiche homologer Gene oder auch andere Vergleiche, beispielsweise Vergleiche morphologischer Merkmale genutzt. Ein phylogenetischer Stammbaum von Proteinen vergleicht die Aminosäuresequenz verschiedener Proteine miteinander und stellt daher die Ähnlichkeit dieser Proteine untereinander grafisch dar. Dabei können sowohl Proteine unterschiedlicher Arten als auch verschiedene Proteine einer Art oder eines Individuums verglichen werden. Ein solcher Stammbaum stellt somit die Evolution der gezeigten Proteine, nicht aber die der betreffenden Lebewesen dar.	3 (I)	
<b>5</b>		
<b>Analysieren</b> Alle dargestellten Chloridionen-Kanalproteine gehen auf ein gemeinsames Vorläuferprotein zurück. Das Glycin-gesteuerte Kanalprotein zeigt die geringsten Ähnlichkeiten mit den anderen Kanalproteinen. Seine Entwicklung ist als erstes getrennt verlaufen. Parallel ist das gemeinsame Vorläuferprotein der GABA- und Glutamat-gesteuerten Kanalproteine entstanden. Dessen weitere Entwicklung führte zur Aufspaltung in die Familie der rezenten Formen der GABA-gesteuerten und die Familie der Glutamat-gesteuerten Kanalproteine. Alle GABA-gesteuerten Chloridionen-Kanalproteine sind untereinander ähnlicher als zu den Glutamat-gesteuerten Chloridionen-Kanalproteinen, unabhängig davon, ob sie aus Wirbeltieren wie der Ratte oder aus Wirbellosen wie Insekten und Spinnentieren stammen. Dies gilt auch für die Glutamat-gesteuerten Chloridionen-Kanalproteine im Vergleich zu den GABA-gesteuerten Chloridionen-Kanalproteinen. Somit sind alle GABA-Chloridionen-Kanalproteine näher evolutiv miteinander verwandt als mit den Glutamat-gesteuerten Chloridionen-Kanalproteinen. Innerhalb der Familie der GABA-gesteuerten Chloridionen-Kanalproteine trennte sich zunächst die Entwicklung der Proteine der Wirbeltiere vom jeweiligen Vorläuferprotein der Proteine in Insekten und Spinnentieren. Deren Entwicklung spaltete sich zu einem späteren Zeitpunkt auf und führte über getrennte Entwicklungslinien zu den Kanalproteinen der heutigen Insekten bzw. Spinnentiere. Bei den Glutamat-gesteuerten Kanalproteinen trennte sich vom gemeinsamen Vorläuferprotein zunächst die Entwicklungslinie ab, die zum Protein der Spinnmilbe führte, und später die, die zum Protein der Hirschzecke führte. Die Glutamat-gesteuerten Kanalproteine der gezeigten Insekten sind sich ähnlicher und stellen die jüngsten Entwicklungslinien dar. <i>(Allen Veränderungen von Merkmalen, die in Stammbäumen verglichen werden, liegen genetische Unterschiede zugrunde. Dies gilt genauso bei Proteinstammbäumen, die auf Genduplikationen und Mutationen in den jeweils codierenden Genen zurückzuführen sind.)</i>	7 (II)	
<b>Hypothesen aufstellen</b> Da der GABA-gesteuerte und der Glutamat-gesteuerte Chloridionen-Ionenkanal auf ein gemeinsames Vorläuferprotein zurückgehen, haben sie eine relativ ähnliche Aminosäuresequenz und bilden möglicherweise zumindest in Teilen die gleiche Struktur aus. Fluralaner könnte an einen Bereich des Ionenkanals binden, der bei GABA- und Glutamat-gesteuerten Chloridionen-Ionenkanälen ähnlich ist. Dann würde der Wirkstoff beide Typen von Ionenkanälen beeinflussen.	4 (III)	
		<b>40</b>

**KLP-Bezüge**

Inhaltliche Schwerpunkte und Aspekte	Molekulargenetische Grundlagen des Lebens - Zusammenhänge zwischen genetischem Material, Genprodukten und Merkmal: Genmutationen Entstehung und Entwicklung des Lebens - Stammbäume und Verwandtschaft
Konkretisierte Kompetenzerwartung	erklären die Auswirkungen von Genmutationen auf Genprodukte und Phänotyp analysieren phylogenetische Stammbäume im Hinblick auf die Verwandtschaft von Lebewesen und die Evolution von Genen
Übergeordnete Kompetenzerwartung	S1 beschreiben biologische Sachverhalte sowie Anwendungen der Biologie sachgerecht S4 formulieren zu biologischen Phänomenen sowie Anwendungen der Biologie theoriegeleitet Hypothesen und Aussagen S6 stellen Vernetzungen zwischen Systemebenen (Molekular- bis Biosphärenebene) dar, E9 finden in erhobenen oder recherchierten Daten Strukturen, Beziehungen und Trends, erklären diese theoriebezogen und ziehen Schlussfolgerungen K5 strukturieren und interpretieren ausgewählte Informationen und leiten Schlussfolgerungen ab, K9 nutzen geeignete Darstellungsformen für biologische Sachverhalte und überführen diese ineinander, K11 präsentieren biologische Sachverhalte sowie Lern- und Arbeitsergebnisse sach-, adressaten- und situationsgerecht unter Einsatz geeigneter analoger und digitaler K14 argumentieren wissenschaftlich zu biologischen Sachverhalten kriterien- und evidenzbasiert sowie situationsgerecht

**Literatur:**

Asahi, M., Kobayashi, M., Matsui, H. & Nakahira, K. (2015). Differential mechanisms of action of the novel  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor antagonist ectoparasiticide fluralaner (A1443) and fipronil. *Pest Management Science*, 71(1), 91–95.

<https://doi.org/10.1002/ps.3768>

Gassel, M., Wolf, C., Noack, S., Williams, H. & Ilg, T. (2014). The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: Selective inhibition of arthropod  $\gamma$ -aminobutyric acid- and l-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 45, 111–124. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2013.11.009>

Hosie, A. M., Baylis, H. A., Buckingham, S. D. & Sattelle, D. B. (1995). Actions of the insecticide fipronil, on dieldrin-sensitive and -resistant GABA receptors of *Drosophila melanogaster*. *British Journal of Pharmacology*, 115(6), 909–912.

<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1995.tb15896.x>

Lovinger, D. M. (2008). Communication Networks in the Brain. *Alcohol Research & Health*, 31(3), 196–214.

Ozoe, Y., Asahi, M., Ozoe, F., Nakahira, K. & Mita, T. (2010). The antiparasitic isoxazoline A1443 is a potent blocker of insect ligand-gated chloride channels. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 391(1), 744–749.

<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.11.131>