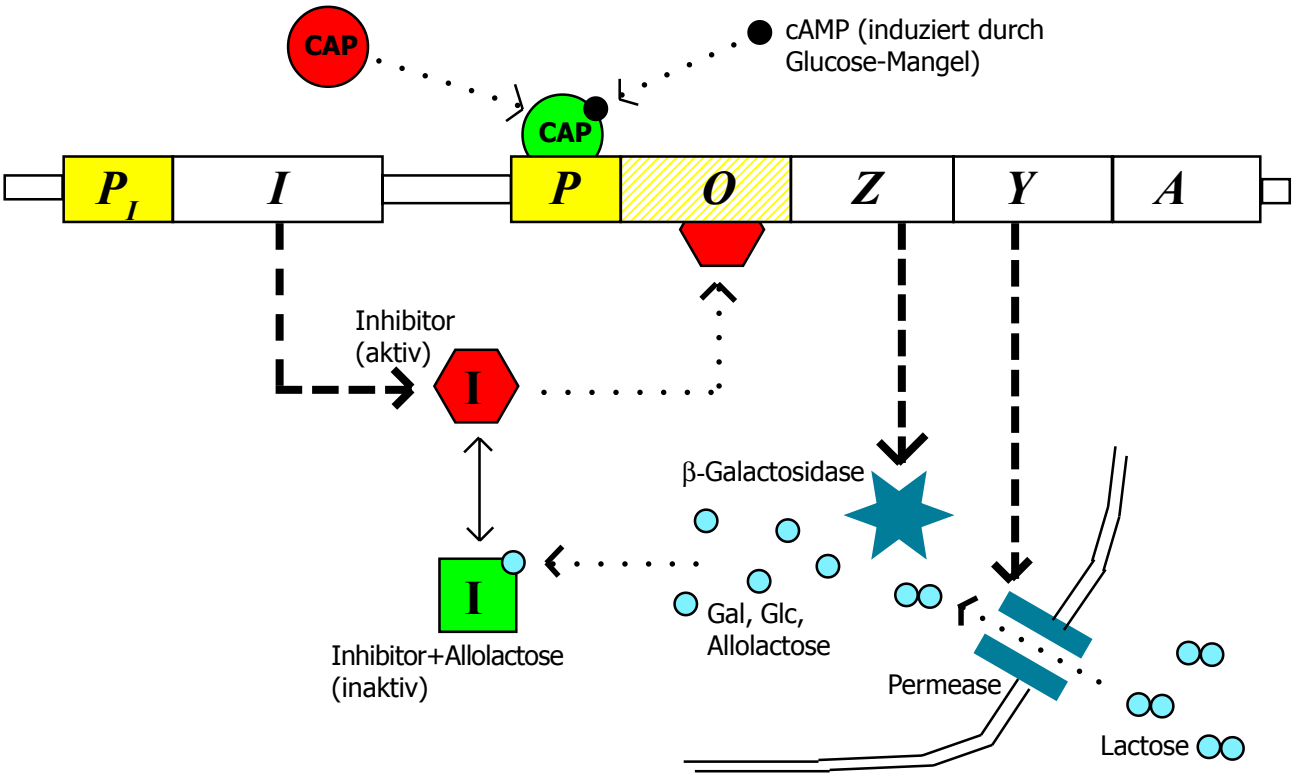
Auswertung zu V6 - Lac-Operon-Mutanten

Das Lac-Operon



Ergebnistabelle

Im Laufe des Versuches wurde insgesamt eine Reihe von Daten für jeden der Eltern- und Exkonjugantenstämme gesammelt:
a) Lac-Phänotyp, indirekt in der **Rotfärbung auf der MC-Lac-Platte** feststellbar
b) Expression einer funktionsfähigen β-Galactosidase. Dieser Befund ergibt sich aus einer Gelbfärbung im letzten Schritt.
c) Abhängigkeit der β-Galactosidase-Aktivität von induzierenden Bedingungen.
d) Zusatzinformation (gegeben): R1 bildet intakte Permease. Bei R1×D1 ist Permease induzierbar.

Zunächst die Ergebnisse im Einzelnen:

Stamm	**Färbung** (MC-Lac)	**Phänotyp** (+/ –)	**Gelbf.** induz.	**Gelbf.** nicht ind.	**Phänotyp** (+/C/–)	**Anm.** (gegeben)
R1	weiß	Lac–	–	–	Lac–	Permease+
R2	weiß	Lac–	±	±	Lac–	
D1	rot	Lac+	±	+	Lac+	
D2	rot	Lac+	+	+	Lac^C	
R1×D1	rot	Lac+	±	+	Lac+	Permease +
R2×D1	rot	Lac+	±	+	Lac+	
R1×D2	rot	Lac+	+	+	Lac^C	
R2×D2	rot	Lac+	±	+	Lac+	

Ermittlung der Eltern-Genotypen

Einige Informationen über den Genotyp der Eltern können sofort aus den Resultaten abgeleitet werden:
1) Stämme, die Lac+ gezeigt haben, besitzen mit Sicherheit intakte Gene für P, Z, Y. Das trifft für D1 und D2 zu.
2) Ist die β-Gal-Aktivität durch induzierende(nicht-ind. Bedingungen steuerbar, so muß auch der regulatorische Anteil (I, O) intakt sein. Das gilt für D1 (entspricht also WT).
3) Da bei R1 Permease gebildet wird (Zusatzinformation), muß das entsprechende Gen (Y) und der zugehörige Promotor (P) intakt sein.
Folgende Daten sind also bereits sicher:

R1	.	P+	.	.	Y+
R2	.	.	.	.	.
D1	I+	P+	O+	Z+	Y+
D2	.	P+	.	Z+	Y+

Für weitere Beobachtungen ergeben sich zum Teil zweideutige Schlußfolgerungen, die sich nur zusammen mit den Ergebnissen aus den Kreuzungen genau deuten lassen.
4) D2 zeigt Lac^C. Es findet keine Repression durch I mehr statt. Es muß also I oder O (oder beide) defekt sein. In der Kreuzung mit R2 (bildet offenbar Repressor) wird das Problem behoben. Damit muß der Operator von D2 intakt sein (O+), der Defekt am Inhibitor liegen (I–) und der Inhibitor von R2 intakt sein (I+).

R1	.	P+	.	.	Y+
R2	.	.	.	.	.
D1	I+	P+	O+	Z+	Y+
D2	I–	P+	O+	Z+	Y+

5) R2 zeigt Lac– und niemals volle β-Gal-Aktivität. Die Aktivität ist aber grundsätzlich vorhanden und deutet auf korrektes β-Gal-Gen (Z+) und Promotor (P+) hin. Der Grund für das Problem ist entweder eine fehlerhafte Permease (Y-) oder ein superreprimierender Inhibitor (I^S). Letzterer würde aber auch in der Kreuzung mit D2/D1 wirken. Da das nicht der Fall ist, schließt man auf Y–. Über I ist damit nichts gesagt; da aber der in I fehlerhafte Stamm D2 komplementiert wird, muß für R2 I+ gelten.

R1	.	P+	.	.	Y+
R2	I+	P+	.	Z+	Y–
D1	I+	P+	O+	Z+	Y+
D2	I–	P+	O+	Z+	Y+

6) Über den Operator von R2 wurde noch nichts gesagt. Wäre er defekt, so wäre R2 Lac^C, was man wegen Y– aber eventuell nicht feststellen könnte. Aber auch bei Vorhandensein intakter Permease, z.B. in R2xD1, stellt man kein Lac^C fest. Der Operator von R2 muß also intakt sein.
7) R1 zeigt grundsätzlich keine β-Gal-Aktivität. Da der Promotor intakt ist, muß der Defekt als Z– selbst vorliegen. Y wird in R1×D1 nicht konstitutiv, sonder induzierbar exprimiert; der Operator von R1 muß also intakt sein. R1 ist aber nicht in der Lage, den defekten Repressor von D2 zu ersetzen (R1×D2 ist Lac^C), das heißt R1 ist ebenfalls I–.
Insgesamt ergeben sich also folgende Genotypen:

R1	I–	P+	O+	Z–	Y+
R2	I+	P+	O+	Z+	Y–
D1	I+	P+	O+	Z+	Y+
D2	I–	P+	O+	Z+	Y+