



AUF DEN SPUREN DES EIGENEN GENOMS

In welchem Zusammenhang steht unsere DNA mit einem Mordfall?

Um diese Frage zu beantworten, hat sich der Biologie – Leistungskurs der Theodor – Heuss – Schule Wetzlar auf den Weg nach Gießen an die Herderschule gemacht. Am Genlabor angekommen, teilte sich die Klasse in mehrere Gruppen auf, um einen Kurs zum Thema genetischen Fingerabdruck zu absolvieren. Ziel davon sollte es sein, seine eigene DNA extrahieren zu können und seine sogenannten Allele sichtbar zu machen.

Der Kursleiter Herr Meiß führte die Gruppe in die Tätigkeiten und Thematik des Tages ein, danach folgte der praktische Teil. Dabei war die erste Hauptaufgabe, die eigenen Mundschleimhautzellen aus dem Speichel zu gewinnen. Aus diesen



1: In Wasser gelöste Mundschleimhautzellen, vor dem Zentrifugieren

Mundschleimhautzellen sollte nun im weiteren Verfahren die individuelle DNA gewonnen werden. Als Erstes galt es dabei den Speichel mit Hilfe einer Pipette in ein sogenanntes „Eppendorfgefäß“, kurz „Eppi“ genannt, umzufüllen.

Anschließend wurden die Gefäße in die Zentrifuge gestellt und auf 5 Minuten programmiert.

Währenddessen wurde uns erklärt, welche Funktion die Zentrifuge ausübt und warum eine spezielle Anordnung der Gefäße indessen von Nöten ist.

Hierbei spielt vor Allem die Physik eine große Rolle!

Im Anschluss konnte das Zellpellet, darunter versteht

man eine Ansammlung von Zellmolekülen, begutachtet werden. Dort wurde der Lysepuffer hinzugefügt, welches hier verwendet wurde, um die Ansammlung von Zellen im Eppendorfgefäß

aufzulösen, bzw. die Zellmembran

lösbar zu machen. Ähnlich wie die Funktion eines Waschmittels. Des

Weiteren wurde eine Lösung (*Fällungspuffer*) bestehend aus Salz und Eiweißen (*Proteine*) zum

Zellgemisch hinzugegeben. Das gesamte Eppendorfgefäß mit beiden Lösungen wurde anschließend noch für 15 Minuten zentrifugiert.

Nach dem Zentrifugieren bilden die nichtgewünschten Proteine das Pellet und die Flüssigkeit darüber enthält unsere DNA. Dieser Überstand wird in ein neues Eppi überführt und mit Isopropanol vermischt. Das Isopropanol hat die Funktion eines Reinigungsmittels und wird deshalb auch unter Anderem zur Desinfektion in Krankenhäusern verwendet. Im Anschluss dessen wurde das Gefäß der Lösung erneut in die Zentrifuge gegeben.

Als dies beendet war, wurde zusätzlich noch 70 % Ethanol hinzugegeben, womit die DNA „gewaschen“ werden soll.

Grob gesagt soll mittels des Alkoholes einfach nur das noch übrig gebliebene Salz



Die Zentrifuge

Eine Zentrifuge ist ein technisches Gerät, welches Bestandteile durch die unterschiedlichen Massen voneinander trennen kann. Angewendet wird sie unter anderem in der Raumfahrtmedizin, um Beschleunigungskräfte zu simulieren. Man kann sich ein solches Gerät wie eine Wäscheschleuder vorstellen: Nasse Wäsche wird an die Trommelinnenseite gepresst und durch Drehbewegungen durch Löcher getrocknet.



2: denaturierte Proteine aus unseren Mundschleimhautzellen

der Lösung entzogen werden. Danach wurde der gesamte Inhalt des Eppendorfgefäßes bei 60°C auf einem Heizblock getrocknet, um anschließend die DNA besser in destilliertem Wasser lösen zu können. Dieser Vorgang ist besonders wichtig, um schließlich nur noch die isolierte DNA vorliegen zu haben. Hat man dies geschafft, sieht man nun endlich die jeweils eigene DNA – Probe.

Anschließend fand der theoretische Teil statt, bei dem vor Allem die Polymerase – Kettenreaktion, kurz PCR – Methode, im Vordergrund stand.



3: Heizblock

PCR – Methode

Unter der Polymerase – Kettenreaktion versteht man ein künstliches Verfahren zur Vervielfältigung der DNA. Man verwendet sie unter anderem in der Vaterschaftsbestimmung und Kriminaltechnologie. Dabei lassen sich spezielle Abschnitte der DNA vervielfältigen, was in einem Zyklus von Denaturierung, Hybridisierung und Polymerisation abläuft.

Als dieser Teil beendet war, wurde die Methode zur DNA – Kopie selber durch die Schüler durchgeführt. Dabei musste man besonders vorsichtig bei der Entnahme der DNA sein, denn ein sogenannter PCR – Mix musste zunächst erstellt werden. „Mix“ bedeutet hier, dass zusätzlich zur DNA noch Moleküle hinzugefügt werden mussten, die natürlicher Weise bei einer Kopie der DNA in unseren Zellen schon vorhanden sind. Da man sich hier in einem Labor befindet und Zellstoffe chemisch hinzugefügt werden, muss man noch *Nukleotide*, *taq-Polymerase* und die sogenannten Primer (*kurze DNA – oder RNA Stück, die bei der Vervielfältigung der DNA als Startmoleküle dienen*), zu der DNA hinzugeben.



5: Schüler beim Pipettieren

Eigene DNA und PCR – Mix werden nun in einen sogenannten Thermocycler gegeben. Dies ist ein Gerät, welches in der Lage ist, die Temperaturzyklen einer Polymerase-Kettenreaktion selbständig durchzuführen. Hat der Thermocycler den Vorgang der Polymerase – Kettenreaktion beendet, startete die



4: Schüler beim Pipettieren der DNA kurz vor der PCR

Agarosegelelektrophorese. Dabei trennt man die von der PCR – Methode vervielfältigten DNA – Fragmente und macht sie sichtbar. Das zu verwendende Agarosegel besteht aus einem Pulver der Rotalge und wird benötigt, um den pH – Wert konstant halten zu können. (*Die Agarose jedoch wird später durch Erhitzen im Wasser gelöst. Um die DNA, bzw. die Allele des jeweiligen Schülers sichtbar machen zu können, wurde das Agarose – Gel selber hergestellt.*) Dabei wird die Agaroselösung in eine Elektrophorese – Apparatur gefüllt und für 15 Minuten abgekühlt. Dieses Erstarren führt zu einer sogenannten

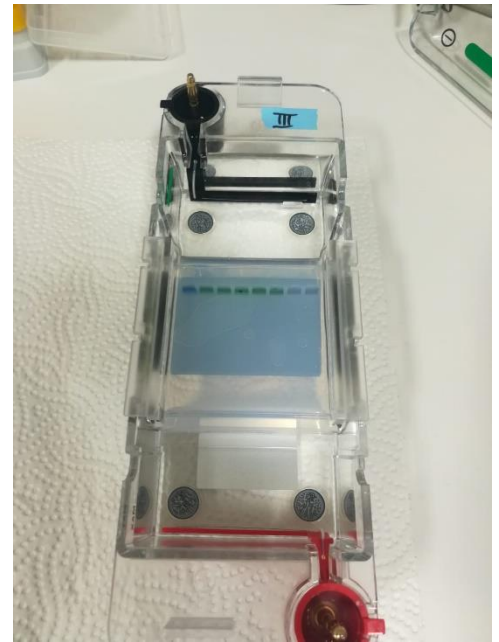


6: Thermocycler, in dem die PCR abläuft

Kammerbildung, damit ist ein Taschenbildung im Gel gemeint, in die die Schüler letztendlich ihre jeweiligen isolierten DNA – Fragmente pipettieren können. Zusätzlich wurde eine Standardlösung (*Bromphenolblau*) in eine der Kammern hinzugefügt, um das Platzieren der anderen Geltaschen zu erleichtern. Danach konnte jeder Schüler ca. 20 Mikroliter seiner eigenen Probe in eine der Geltaschen pipettieren.

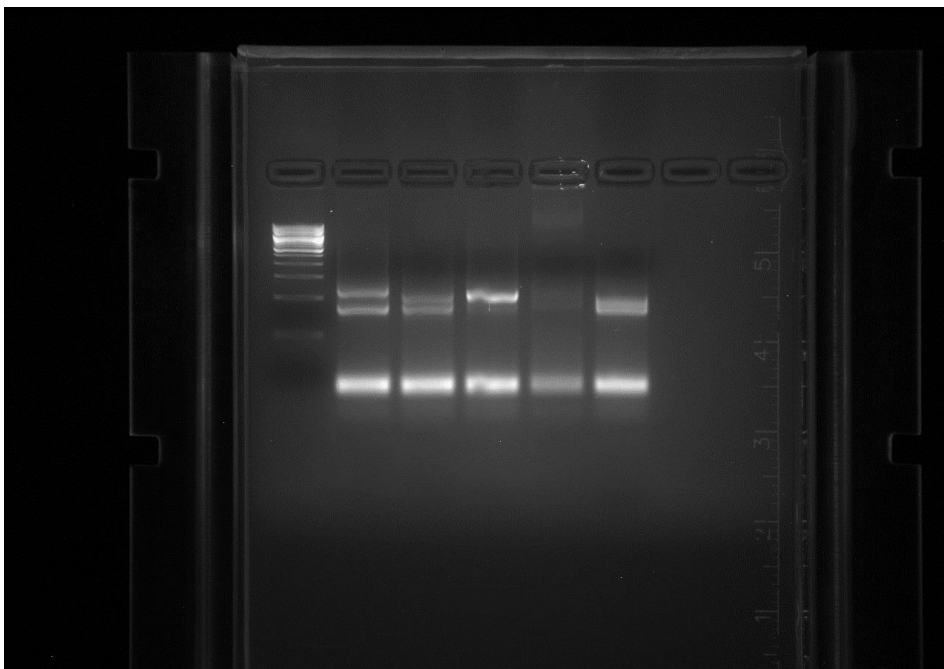
Die Gelelektrophorese

Die Gelelektrophorese wird angewendet, um eine DNA aufzulösen. Sie lässt sich durch ein dreidimensionales Netz nach ihren unterschiedlichen Größen auftrennen. Die Elektroden am Apparat sorgen dafür, dass sich negativ geladene DNA – Stückchen zu einem positiven Pol bewegen. Dadurch werden die Allele zwischen den Genen sichtbar.

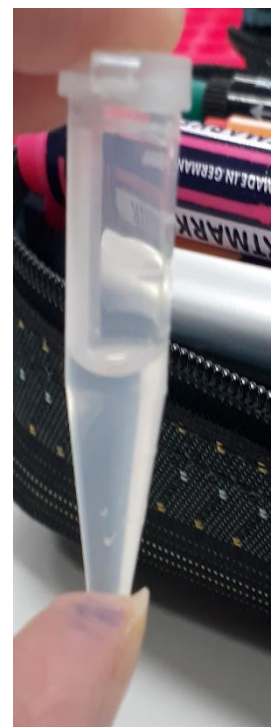


7: Gelelektrophorese

Am Ende konnte schließlich jeder Kursbeteiligte seine Allele unter einer speziellen Kamera erkennen. Somit war das Ziel der Exkursion erreicht und die Arbeit im Genlabor ein voller Erfolg. Im Anschluss bedankten wir uns recht herzlich bei unserem Kursleiter Herr Meiß und bei Frau Bende, unsere LK – Lehrerin, für diesen sehr interessanten Tag. Wir konnten dank des Lehrausflugs sehr wertvolle Einblicke in die Welt der Gentechnik erhalten und wissen nun wie ein genetischer Fingerabdruck erstellt wird und wieso man daraus einen Mörder identifizieren kann, denn bei keinem Menschen sind die inaktiven DNA-Sequenzen gleich. Sie sind unverkennbar und helfen dabei, einen Menschen ausfindig machen zu können.



8: Ergebnis der Gelelektrophorese: Man erkennt das Bandenmuster



9: Eppi, welches die gelöste DNA enthält



10: Werkzeuge im Genlabor



11: Mikropipetten: wichtiges Werkzeug für den Genetiker

Autoren: Judith Hofmeier, Jannik Friedrich, Wassilios Koumpoulidis, Lucas Schröder, Anna Stauzebach