

Vorläufige Übersicht der Experimentalkurse

(Stand: 01/10)

Ab Jahrgang 10 (Schuljahr 2010/2011)

EIN ENZYM BEKENNT FARBE (1/2 oder 1Tag, unter Mitwirkung der Lehrkraft!)

-> Merkblatt für Lehrkräfte (pdf)

Als Biokatalysatoren bewirken Enzyme eine Absenkung der für eine chemische Reaktion erforderlichen Aktivierungsenergie und damit eine beachtliche Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit.

In unserem Experiment untersuchen wir die Enzymaktivität einer β -Glucosidase aus Mandeln in Abhängigkeit von der Zeit, der Substratkonzentration, dem pH-Wert und der Temperatur. Außerdem untersuchen wir die Substratspezifität dieses Enzyms und die Wirkung von Schwermetall-Ionen auf die Enzymaktivität. Das bei der Reaktion entstehende Produkt kann schon durch Gelbfärbung mit bloßem Auge gesehen werden, seine Menge wird mit dem Spektralfotometer genau gemessen. Die Messdaten werden in Form von Graphen dargestellt.

Methoden: - Abhängigkeiten der Enzymaktivität von Zeit, Substratmenge, Temperatur und pH-Wert
- Untersuchung der Substratspezifität und Hemmbarkeit (arbeitsteilige Gruppenarbeit)
- Erstellen von Graphen

Dauer des Kurses: ca. 4-5h ohne ausführliche Auswertung der Graphen (montags ab 12.00 Uhr mittags)
ca. 7-8h mit ausführlicher Datenauswertung (Ganztagskurs mit Mittagspause)

DNA AUF DER SONNENBANK

DNA kann durch Umwelteinflüsse (z.B. erhöhte UV-Anteile im Sonnenlicht) auf verschiedene Weisen geschädigt werden. In der Regel werden diese Schäden durch Reparaturenzyme behoben, können aber auch zu krankhaften Veränderungen der Zelle führen. Am Beispiel von Plasmid-DNA aus *Escherichia coli* werden Strukturveränderungen in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdauer mit UV-Licht aufgezeigt.

Methoden: - Isolierung von Plasmid-DNA aus *E. coli* (GVO) mit Silica-Technologie
- UV-Bestrahlung der Plasmid-DNA
- Kontrolle durch Elektrophorese und Auswertung

Dauer des Kurstages: ca. 7-8h (einschl. Mittagspause)

HAARFEINE UNTERSCHIEDE...

Polymorphe DNA-Sequenzen liefern die Basis für die Diagnose von genetisch bedingten Krankheiten, für die Identifizierung von Personen sowie für die Feststellung von Verwandtschaftsverhältnissen. Ein Merkmal dieser DNA-Bereiche ist die unterschiedliche Länge von Repetitivsequenzen, deren Kombination auf den homologen Chromosomen individuell variiert.

Für unsere "DNA-Profil-Analyse" isolieren wir DNA aus Zellen der Mundschleimhaut bzw. Haarwurzelzellen und amplifizieren daraus eine nicht kodierende repetitive Region auf dem Chromosom 1.

Methoden: - Isolierung von DNA aus Mundschleimhaut- oder Haarwurzelzellen (Silica-Technologie)
- Amplifizierung einer repetitiven Sequenz (VNTR) auf Chromosom 1
- Kontrolle durch Elektrophorese und Auswertung

Dauer des Kurstages: ca. 8h (einschl. Mittagspause)

Ab Jahrgang 10 (Schuljahr 2010/2011)**BAKTERIEN – FREUND ODER FEIND**

(Bitte ca. 4 Wochen vorher anmelden!)

Bakterien sind nicht nur Auslöser von Krankheiten oder Bestandteile von probiotischen Joghurtsorten, sondern sie sind auch wichtige Forschungsobjekte und spielen eine tragende Rolle in der Entwicklung der modernen Biotechnologie.

In unseren Experimenten werden Bakterien mikroskopisch oder anhand ihrer morphologischen und biochemischen Eigenschaften charakterisiert. Mit Antibiotika-Gruppen, die in der Medizin bei der Bekämpfung von bakteriellen Infektionen verwendet werden, führen wir einen Resistenz- und Empfindlichkeitstest durch.

Methoden:

- Färben und Mikroskopieren von Bakterien
- Experimentieren mit Bakterien
- Photometrische Messung
- Steriles Arbeiten
- Miniaturisierte Testsysteme zu Bakterien-Identifizierung

Dauer des Kurstages: 3 h -1,5 Tage (abhängig von der Modul-Kombination)

DNA – EASY, QUICK AND DIRTY

Die Erbsubstanz DNA ist in allen Zellen eines Organismus enthalten, auch in Gemüse oder Obst, das wir täglich im Rahmen gesunder Ernährung zu uns nehmen.

In unserem Experiment wird mit einfachsten Mitteln DNA aus gut verfügbaren Früchten gewonnen und für das bloße Auge sichtbar gemacht.

Methode: - Isolierung von DNA aus Früchten mit Spülmittel, Salz und Alkohol
Versuchsdauer: 1h

Ab Jahrgang 11 (Schuljahr 2010/2011)**PLASMIDEN AUF DER SPUR**

Die in der Gentechnik verwendeten, künstlich hergestellten Plasmide (s.o.) unterscheiden sich in der Größe sowie im Bau (Promotoren, Antibiotikaresistenzgene u.a.). Solche strukturellen Unterschiede nutzen wir in unserem Experiment zur Identifizierung verschiedener Plasmide in *Escherichia coli*-Kulturen.

Methoden:

- Isolierung von Plasmid-DNA aus *E. coli* (GVO) mit Silica-Technologie
- Kontrolle durch Elektrophorese
- Restriktionsverdau durch eine Restriktionsendonuclease,
- Kontrolle durch Elektrophorese und Auswertung

Versuchsdauer: ca. 8h (einschl. Mittagspause)

PLASMID-PUZZLE MIT PBIOS14

In der Gentechnik werden Plasmide als Transportmittel (Vektoren) für die DNA-Klonierung genutzt. Hierfür ist es unbedingt notwendig, bestimmte strukturelle Merkmale des Plasmids zu kennen. Am Beispiel des Vektors 'pBioS14' aus einem gentechnisch veränderten Bakterienstamm von *Escherichia coli* wird eine einfache Restriktionskarte erstellt.

Methoden:

- Isolierung von Plasmid-DNA aus *E. coli* (GVO) mit Silica-Technologie (1h)
- Kontrolle durch Elektrophorese
- Restriktionsverdau und anschließende Restriktionskartierung des Plasmids
- Kontrolle durch Elektrophorese und Auswertung

Versuchsdauer: ca. 8h (einschl. Mittagspause)

DNA – IM RICHTIGEN LICHT BETRACHTET

Zu den wichtigsten Eigenschaften eines Moleküls gehört seine spektrale Absorption. Diese wird im Laboralltag zur Bestimmung der DNA-Konzentration genutzt.

In unserem Experiment wird dieses Messverfahren verdeutlicht und durchgeführt, so dass die unbekannte Konzentration einer vorgegebenen bzw. selbst isolierten DNA bestimmt werden kann.

Methoden: - Erstellen einer Eichkurve mit Hilfe einer Verdünnungsreihe
 - Aufnahme eines Absorptionsspektrums von DNA mit Hilfe eines Spektralphotometers
 - Konzentrationsbestimmung der DNA-Proben anhand ihrer Extinktion (2 Methoden)

Versuchsdauer: ca. 4h
 Dieser Kurs eignet sich auch für das Themengebiet „Photosynthese“

Alternativ: - Isolierung von Plasmid-DNA aus *E.coli* (GVO) mit Silica-Technologie
 - weiter s.o.

Versuchsdauer: ca. 7h (einschließlich Mittagspause)

GRÜNES LICHT FÜR BAKTERIEN

Für viele molekularbiologische Untersuchungen eignen sich Plasmide in besonderem Maße als Vektormoleküle. Über sie gelangt das Fremdgen in die Bakterien (Transformation), deren Kolonien dann als Klone die rekombinierte DNA enthalten und als Lieferanten für das gewünschte Gen-Produkt dienen.

In unserem Experiment verwenden wir ein Plasmid, in dem ein Teil des Arabinose-Operons durch ein eukaryotisches Gen ersetzt wurde, das für ein grün fluoreszierendes Protein (GFP) kodiert. Durch dessen Anregung mit UV-Licht können die erfolgreich transformierten Bakterienkolonien auf einfache Weise sichtbar gemacht werden.

Methoden: - Isolierung der Plasmid-DNA aus *E. coli* (GVO) mit Silica-Technologie
 - Transformation durch Hitzeschock
 - Steriles Arbeiten an einer Clean-bench, Ansetzen einer Bakterienkultur
 - Auswertung des Transformationsergebnisses unter UV-Licht (2.Tag)
 - Restriktionsverdau des Plasmids (2.Tag)
 - Kontrolle durch Elektrophorese und Auswertung (2.Tag)

Dauer des Kurses: 1,5 Tage; 1.Tag ca. 7-8h (einschl. Mittagspause); 2.Tag ca. 5h

BACK TO OUR ROOTS?

Stabile genetische Marker könnten einen Baustein liefern, mit dessen Hilfe sich Aufschlüsse über die Wurzeln der Menschheit gewinnen lassen. So genannte Alu-Elemente sind kurze, sich wiederholende Sequenzen, die in großer Zahl über das menschliche Genom verteilt sind. Beim Menschen gibt es spezifische Alu-Elemente, die bei unseren nächsten Verwandten, den Menschenaffen, fehlen. Darüber hinaus findet man über die Kontinente hinweg interessante Verteilungsmuster dieser Mutation.

In unserem Experiment überprüfen wir bei jedem Schüler das Vorhandensein eines Alu-Elements auf dem Chromosom 8.

Methoden: - Isolierung von DNA aus menschlichem Wangenepithel mit Silica-Technologie
 - Amplifizierung eines bestimmten DNA-Fragments aus Chromosom 8 durch PCR
 - (evtl. Restriktionsverdau des PCR-Produkts)
 - Kontrolle durch Elektrophorese und Auswertung

Dauer des Kurstages: ca. 8h (einschl. Mittagspause)

DER NEANDERTALER IN DIR?

Die Abstammung des Menschen und seine Verwandtschaft zu Hominiden, von denen es nur Fossilfunde gibt, sind schon seit Darwins Lebenszeit Gegenstand des Interesses und der Forschung. Neue Ansätze ergaben sich durch die Möglichkeit, DNA aus fossilen Knochen eines Neandertalers zu isolieren und zu sequenzieren.

In unserem Experiment verwenden wir eine Region innerhalb der mitochondrialen DNA (mtDNA) eines Neandertalers sowie der Kursteilnehmer, die für einen Vergleich auf genetischer Grundlage geeignet ist, und überprüfen daran das Vorhandensein einer humanspezifischen Schnittstelle für die Restriktionsendonuclease *MseI* (*TruI*).

Methoden: - Isolierung von DNA aus Mundschleimhautzellen mit Silica-Technologie
- Amplifizierung einer DNA-Sequenz auf der mtDNA durch PCR
- spezifischer Restriktionsverdau des PCR-Produktes
- Auswertung durch Elektrophorese und Sequenzvergleich (mit vorgegebenem Material)

Dauer des Kurses: ca. 9h (einschl. Mittagspause)

SPENDER GESUCHT ...

Der Erfolg einer Transplantation von Knochenmark hängt im Wesentlichen davon ab, inwieweit das Transplantat vom Immunsystem des Empfängers toleriert wird. Dabei spielen Moleküle auf der Zelloberfläche eine Rolle, mit deren Hilfe das Immunsystem „fremd“ und „selbst“ erkennt und gegebenenfalls eine Immunantwort auslöst. Da sich diese Oberflächenmoleküle von Mensch zu Mensch durch eine hohe Variabilität auszeichnen, ist die Suche nach einem passenden Spender oft schwierig.

In unserem Experiment wird diese Variabilität mit sequenz-spezifischen DNA-Sonden nachgewiesen und durch ein „Immunassay“-Verfahren sichtbar gemacht.

Methoden: - Isolierung von DNA aus Mundschleimhautzellen mit Silica-Technologie
- Amplifizierung eines bestimmten DNA-Abschnittes auf Chromosom 6 durch PCR
- Kontrolle durch Gelelektrophorese
- Hybridisierung der PCR-Produkte mit sequenz-spezifischen DNA-Sonden (SSO) (2.Tag)
- Auswertung am Computer (2.Tag)
- Besuch der Abt. Transfusionsmedizin oder Gespräch zum Thema Knochenmarkspende mit dem Ltd. Arzt der Abteilung Herrn Dr. Garritzen (2.Tag; nur nach Absprache)

Dauer des Kurses: 1,5 Tage; 1.Tag ca. 9 h (einschl. Mittagspause); 2.Tag ca. 4,5h (ohne Besuch/Gespräch)

LE COEUR DU ROI

Auf Grund ihrer besonderen Struktur ist mitochondriale DNA (mtDNA) im Vergleich zu Kern-DNA (nDNA) viel unempfindlicher gegenüber DNA-abbauenden Einflüssen. Zudem wird mtDNA nur über die mütterliche Linie an die Nachkommen weiter gegeben und bleibt dadurch über Generationen relativ konstant. Daraus ergibt sich die Möglichkeit, Identitätsnachweise an sehr geringen und/oder sehr alten (fossilen) Geweberesten durchzuführen.

In unserem Experiment verwenden wir eine Region innerhalb der mtDNA, die für einen Sequenzvergleich geeignet ist. Auf diese Weise wird die rechtsmedizinische Vorgehensweise nachvollziehbar gemacht, die z.B. die tatsächliche Abstammung von Personen aufklärt, die behaupten, Nachkommen aus hohen Herrscherhäusern zu sein.

Methoden: - Isolierung von DNA aus Mundschleimhautzellen / Thrombozyten mit Silica-Technologie
- Amplifizierung einer DNA-Sequenz auf der mtDNA durch PCR
- Kontrolle durch Elektrophorese
- Vorbereitung der PCR-Produkte für die Sequenzierung nach Sanger
- Auswertung der Sequenzierung (2.Tag)
- Führung durch die Abteilung Genomanalyse (2. Tag; nur nach Absprache)

Dauer des Kurses: 1,5 Tage; 1.Tag ca. 9h (einschl. Mittagspause); 2. Tag ca. 3h (ohne Führung)
Die Kurstage müssen ca. 1 Woche auseinander liegen

Ab Jahrgang 11 (Schuljahr 2010/2011)

HIER GEHT'S UM DIE WURST

Mit unserer Nahrung nehmen wir täglich DNA verschiedenster Organismen auf, ohne dass uns richtig bewusst wird, wie viele Arten von Lebewesen zur Herstellung des Produktes beigetragen haben.

Am Beispiel von verschiedenen Wurstsorten untersuchen wir in unserem Experiment, welche Tierarten das Fleisch dafür geliefert haben.

Methoden: - Isolierung von DNA aus Wurst und Fleisch mit Silica-Technologie
 - Amplifizierung eines Gens aus der mtDNA durch PCR
 - Restriktionsverdau des PCR-Produktes
 - Auswertung (Herkunft des Fleisches) mit Hilfe von Gelelektrophorese

Versuchsdauer: ca. 9-10h (einschl. Mittagspause) oder 2 halbe Tage

GENTECHNISCH VERÄNDERTES SOJA ODER NEIN?

Viele unserer Lebensmittel enthalten Bestandteile der Sojabohne, z.B. Fette, Lecithine, Vitamin E, Sojaproteine oder -mehl. Die „Standard-Sojarohstoffe“, wie sie auf den internationalen Agrarmärkten gehandelt werden, bestehen bereits zu einem gewissen Anteil aus gentechnisch veränderten Sojabohnen, die tolerant gegen das Herbizid „Roundup®“ sind. Dieser Anteil darf nach deutschem Recht 0,9% des Sojaanteils im Lebensmittel nicht überschreiten.

Wie auch im amtlich vorgeschriebenen Untersuchungsverfahren untersuchen wir in unserem Experiment verschiedene Lebensmittel, ob sie Soja enthalten und ob ein gentechnisch veränderter Soja-Anteil dabei ist.

Methoden: - Isolierung von DNA aus Lebensmitteln und Referenzmehl mit Silica-Technologie
 - Amplifizierung eines Soja-spezifischen Lectin-Gens durch PCR
 - Amplifizierung des gentechnisch veränderten Konstruktes RR(RoundupReady) durch PCR
 - evtl. spezifischer Restriktionsverdau des PCR-Produktes
 - Auswertung mit Hilfe von Gelelektrophorese

Versuchsdauer: ca. 9-10h (einschl. Mittagspause, ohne Restriktion) oder 2 halbe Tage á 5h

GVOs DURCH „REPORTER“ AUFGESPÜRT

(Bitte ca. 4 Wochen vorher anmelden!)

Mit Hilfe verschiedener Strategien kann Fremd - DNA in das pflanzliche Genom integriert werden. Gemeinsam mit der Fremd - DNA integrierte Gene, sog. „Reporter“-Gene, werden zur Überprüfung einer gelungenen Transformation genutzt. Ihr Genprodukt kommt natürlicherweise in der Pflanzenzelle nicht vor, ist aber leicht detektierbar und gut quantifizierbar.

Zur Unterscheidung einer gentechnisch veränderten Pflanze (GVO) von ihrem Wildtyp werden Blätter von Tabakpflanzen auf das Vorhandensein eines solchen Reporter-Gens überprüft.

Methoden: - Isolierung von DNA aus Tabak mit Silica-Technologie
 - Amplifizierung eines Teils des Reporter-Gens durch PCR
 - Kontrolle durch Elektrophorese und Auswertung

Dauer des Kurstages: ca. 8h (einschl. Mittagspause)

Ab Jahrgang 11 (Schuljahr 2010/2011)

EIN ENZYM BEKENNT FARBE – HOHES NIVEAU

In lebenden Organismen werden fast alle Reaktionen des Stoffwechsels von Enzymen katalysiert, deren Aktivität stark von der Temperatur sowie der Ionenzusammensetzung der umgebenden Lösung abhängig ist.

In unserem Experiment isolieren wir ein Protein-Gemisch aus Blättern des Kautschukbaumes (*Hevea brasiliensis*) und untersuchen Eigenschaften des Enzyms β -Glucosidase, indem wir ein spezifisches Substrat anbieten. Im Verlauf der enzymatischen Reaktion entsteht ein Produkt, dessen Absorptionsmaximum bei 400 nm liegt. Die dadurch bedingte Gelbfärbung ist schon mit bloßem Auge zu erkennen.

Methoden:

- Isolierung eines Enzym-Rohextraktes aus Blättern des Kautschukbaumes
- Charakterisierung des Enzyms β -Glucosidase mit Hilfe des Spektralphotometers:
- Abhängigkeiten der Aktivität von Zeit, Substratmenge, Temperatur und pH-Wert
- Untersuchung der Substratspezifität
- Wirksamkeit eines Hemmstoffes
- Erstellen von Graphen und Auswertung

Dauer des Kurstages: ca. 9h bei arbeitsteiliger Gruppenarbeit (einschl. Mittagspause)

ZUCKER IM VISIER

Zucker ist eine wesentliche Energiequelle für den Menschen, kann aber im Übermaß genossen auch Ursache von hohen Gesundheitsrisiken werden. Übergewicht und Mangel an körperlicher Bewegung können zu einer Reihe von alarmierenden Gesundheitsproblemen führen.

In unseren Experimenten werden mit Hilfe unterschiedlich komplexer Methoden verschiedene Zuckerlösungen identifiziert. Die benutzten Methoden bieten vielfältige Ansätze biochemischer und stoffwechselphysiologischer sowie auch gesundheitspolitischer Art.

Methoden:

- Nachweis mit Fehling
- Nachweis mit Lugol
- Nachweis durch saure Hydrolyse/enzymatische Spaltung
- Glucose-Nachweis durch enzymatische Reaktion mit NADPH-Bildung,
- photometrische Messung von NADPH

Dauer des Kurstages: 5 -9 h (einschl. Mittagspause);
je nach Modulauswahl und Anforderungsniveau

PROTEINE- MUSTER DES LEBENS

Unter dem Begriff „Proteom“ wird die Gesamtheit aller Proteine eines Lebewesens verstanden, die Ausdruck der Struktur und Organisation des Genoms dieses Lebewesens ist.

In unserem Experiment trennen wir Muskelproteine verschiedener Fischarten auf, um im Vergleich der Proteinprofile auf Verwandtschaftsgrade zu schließen. Mit einem Western Blot wird eines der Muskelproteine identifiziert.

Methoden:

- Protein-Extraktion
- SDS-PAGE (Proteinauftrennung)
- Färbung mit Coomassie
- Western Blot (Immunodetektion)

Dauer des Kurstages: 6 -9 h (einschl. Mittagspause) bis 2 Tage;
je nach Modulauswahl und Anforderungsniveau