



Experiment 3 : DNS-Sortierung auf FlashGel



Ziel

- Sich mit der Genetik befassen.
- DNS manipulieren
- DNS-Fragmente mittels der Elektrophorese vergleichen



Voraussetzung

Die Eigenschaften der Lebewesen, die Zelle, das DNS-Molekül (was, wo, wie), die Gene, die Chromosomen und die Erbinformationen.



Arbeitsform

4er-Gruppen



45'



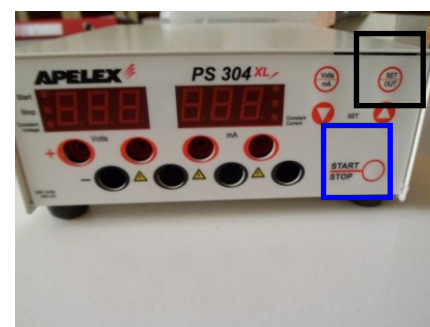
Material

- Generator
 - FlashGel-Behälter
 - Mikropipetten
 - DNS size markers
 - FlashGel-Kassette
 - Eppendorf-Röhrchen
 - Mikrozentrifuge
 - Mikropipetten-Konen
- Mehrere Eppendorf-Röhrchen mit DNS-Proben: Gen a normal (a_N), Gen a mutiert (a_m), Gen b normal (b_N), Gen b mutiert (b_m).
Das Gen a kann das BRCA1-Gen sein, das Gen b kann das p53-Gen sein.



Bemerkungen

- Eine FlashGel-Kassette kann zweimal verwendet werden. Um dies zu tun, müssen Sie die Proben bis zum Ende des Gels migrieren lassen. Dann können Sie die Ladungsgruben wiederverwenden.
- Die Eppendorf-Röhrchen nicht schütteln, da sich die Flüssigkeit an der Wand der Eppendorf-Röhrchen festsetzen kann. In diesem Fall ist die Flüssigkeit mit der Mikrozentrifuge nach unten zu bringen.
- Um den Generator zu starten, drücken Sie den schwarzen Knopf auf der Rückseite, dann "set" (in schwarz auf dem Bild) und schließlich "start" (in blau auf dem Bild). Es ist möglich, dass der Generator im Koffer etwas anders aussieht als jener auf diesem Bild. Die Bedienung bleibt gleich.

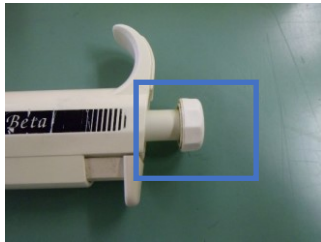




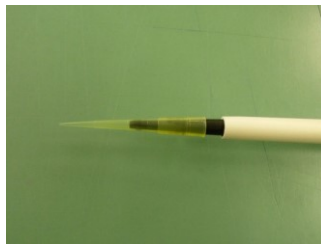
Experiment 3 : DNS-Sortierung auf FlashGel



- Um eine Flüssigkeitsprobe mit der Mikropipette zu nehmen :
 - 1) Drehen Sie die Dosierungsrolle, bis die gewünschte/angeforderte Dosierung erreicht ist.



- 2) Platzieren Sie einen Konus um die Mikropipette, indem Sie die Mikropipette mit Hilfe des Eppendorf-Halters in den Konus einklipsen. Den Konus nicht mit den Fingern aufsetzen.



- 3) Vergewissern Sie sich, dass der Konus richtig eingepasst ist.
- 4) Drücken Sie bis zur ersten Kerbe herunter, ohne die Flüssigkeit zu berühren (Luftvakuum).
- 5) In die Flüssigkeit eintauchen, dann die Kerbe loslassen: die Flüssigkeit befindet sich jetzt in der Mikropipette.
- 6) Entfernen Sie die Flüssigkeit aus der Mikropipette: drücken Sie bis zur zweiten Kerbe.



Sicherheit

Dieses Experiment stellt keine Gefahr dar.



Experiment 3 : DNS-Sortierung auf FlashGel



Vorgehensweise

Vor dem Experiment

Im Voraus bereitet die Lehrperson kleine 6 Mikroliter-Eppendorf-Röhrchen vor, die die DNS enthalten, die die Schüler*innen einfüllen sollen: entweder a_N oder a_m ODER b_N oder b_m.

Theoretische Wiederholung DNS/ Erbinformation und Erklärung des Ziels der Lektion. Erinnerung an die Beteiligung der mutierten Version der Gene P53, BRCA1 und BRCA2 an der Erhöhung des Risikos an bestimmten Krebsarten, darunter Brustkrebs, zu erkranken.

Bildung von Gruppen und Auslosung von Rollen (Karten finden Sie in der Schüler*innenanleitung).

Präsentation und Erläuterungen des sehr allgemeinen Prinzips der Restriktionsenzyme und der Elektrophorese.

Um zu erklären, was ein Enzym tut, wird die Verwendung der Powerpoint-Präsentation empfohlen. Die Erläuterungen sollten an die Klassenstufe angepasst werden, aber idealerweise sollten die Schüle*innen verstehen, dass man sich hier mit den Nukleotidsequenzen beschäftigt. Sobald ein Enzym eine bestimmte Nukleotidsequenz erkennt, d.h. eine Kette von Perlen einer bestimmten Farbe, schneidet das Enzym.

Verteilung eines Eppendorf-Röhrchens, die eines der 4 Profile enthält, an die Patienten aus den verschiedenen Gruppen.

Hinweise zur Ordnung und Sicherheit. Betonen Sie die Tatsache, dass die Ausrüstung teuer ist, insbesondere die Mikropipetten. Die Handhabung der Mikropipetten wird den Technikern während des Experiments erklärt.

Während des Experiments

Beginn des Rollenspiels: Die Patienten lesen die Einverständniserklärung und unterschreiben sie, falls dies nicht bereits in Experiment 2 geschehen ist. Sie stellen dem Arzt/der Ärztin alle Fragen, die sie haben.



Dokumente :

- Concept Maps Schüler*innen
- Theorieblätter
- Karten zum Rollenspiel in der Anleitung Experiment 3
- Powerpoint-Präsentation



Dokumente :

- Anleitung zum Experiment 3



Expérience 3 : migration de l'ADN sur FlashGel

Während des Experiments (Fortsetzung)

Die Techniker*innen erhalten die Eppendorf-Röhrchen mit der DNS ladebereit. Die Lehrperson erklärt ihnen, wie sie vorgehen müssen und wie sie die Mikropipetten halten sollen: immer senkrecht halten, wie einen Skistock. In der Zwischenzeit (10-15') bereitet sich der Arzt/die Ärztin anhand des Informationsblatts zur Einverständniserklärung und der Theorieblätter darauf vor, dem Patienten und seinem/r Freund*in die theoretischen Grundlagen einer genetischen Analyse und ihre Ziele zu erklären. Der/die Patient*in und sein/ihr Freund*in schreiben eine Frage an den Arzt/die Ärztin. Der Austausch findet zwischen den beiden Seiten statt.

Dann sieht die ganze Klasse zu, wie die DNS-Proben geladen werden :

1) Mit dem Einsetzen des DNS size marker in die erste Vertiefung beginnen, um dem Rest der Klasse zu zeigen, wie die Mikropipetten funktionieren. Schüler*innen, die nicht in der Rolle des Technikers/der Technikerin sind, können den Umgang mit den Mikropipetten mit Wasser üben, wenn es die Zeit erlaubt.

2) Die Lehrperson erklärt den Schüler*innen die Notwendigkeit des Markers, dann kommen die Techniker*innen und geben die DNS mit den Mikropipetten in die Vertiefungen. Auf einem Blatt Papier stellen sie das Gel mit den nummerierten Vertiefungen dar. Nach jeder Ablagerung schreibt der Techniker/die Technikerin auf das Papier, welchem Patienten die auf dem Gel abgelagerte Probe entspricht. Jedem Patienten muss eine Nummer zugewiesen werden, um die Anonymität der Ergebnisse zu gewährleisten: Nur Ärzte/Ärztinnen und Techniker/Technikerinnen haben Zugang zu den Ergebnissen der Patienten.

Die Lehrperson kann den Schüler*innen sagen, dass es genauer gewesen wäre, die Patientenprofile neben die bekannten Profile auf der Kassette zu setzen, dass aber aus Platz- und Organisationsgründen die bekannten Profile in der Schüleranleitung angegeben sind und dann mit den Patientenprofilen auf der Kassette verglichen werden können.

3) Während der DNS-Migration (etwa 10') führen die Gruppen die Debatte über personalisierte Medizin. Die Lehrperson beantwortet mögliche Fragen der Schüler*innen.

4) Sobald die Migration abgeschlossen ist, bleiben die Ärzt*innen und Techniker*innen, um das Profil ihres Patienten anhand des Bildes in ihrer Anleitung zu analysieren. Das Rollenspiel endet mit der vertraulichen Bekanntgabe des Ergebnisses an jede PatientIn (falls er/sie dies wünschte), d.h. ob er/sie Träger*in eines mutierten Gens ist, das an Brustkrebs beteiligt sein könnte.



Dokumente :

- Anleitung zum Experiment 3
- Theorieblätter
- Einverständniserklärung (Ende Übung 2)



Experiment 3 : DNS-Sortierung auf FlashGel

Nach dem Experiment

Eventuell Fotos machen

Am Ende des Experiments werden die Konen und Eppendorf-Röhrchen in die Biotonne gegeben.

Zusammenfassung von Analyseergebnissen von den Patienten, die ihre Zustimmung zur Weitergabe ihrer genetischen Daten an die wissenschaftliche Gemeinschaft und/oder Versicherungsgesellschaften gegeben haben.

Zusammenfassung der während der Debatte angestellten Überlegungen.

Institutionalisierung: Es ist wichtig, die Schüler*innen darauf hinzuweisen, dass die so gestellte Diagnose das Ergebnis in Form von Wahrscheinlichkeiten darstellt. Hierbei handelt es sich um ein prozentuales Risiko, basierend auf einem in großen Populationen erstellten genetischen Profil, in Zukunft Krebs zu entwickeln. Darüber hinaus kann die Umwelt diese Vorhersagen stark beeinflussen. Umweltursachen spielen eine sehr wichtige Rolle bei der Entstehung von Krebs. Die Lehrperson kann die wichtigsten umweltbedingten Krebsursachen (Tabak, Sonnenexposition, ...) erwähnen.



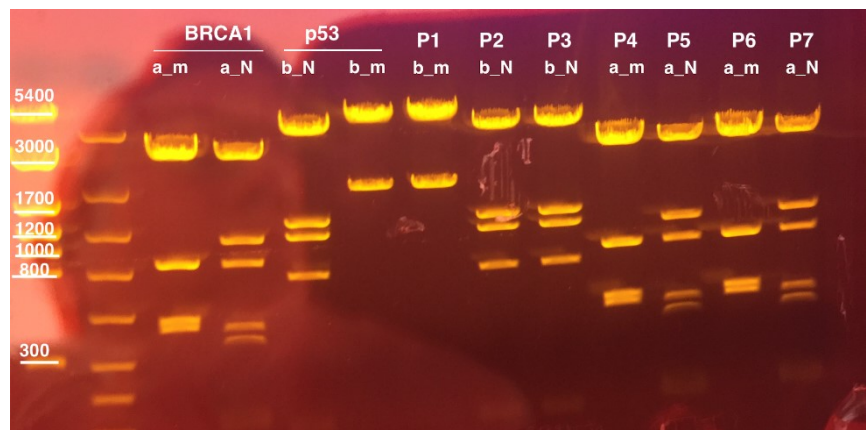
Dokumente :

- Concept Maps für Schüler*innen
- Theorieblätter
- Powerpoint-Präsentation



Erwartete Ergebnisse

Die verschiedenen DNS-Fragmente haben auf den FlashGel entsprechend ihrer Grösse zum positiven Pol (Unterseite des FlasgGels) migriert: die grösseren Fragmente sind weniger weit gewandert als die kleineren Fragmente. Die Anordnung dieser Fragmente ermöglicht es, die Profile zu unterscheiden.



Von links nach rechts: DNS size marker, die 4 Profile der normalen und mutierten a- und b-Gene sowie die Profile der Patienten 1-7. Durch den Vergleich der Patientenprofile mit denen der normalen/mutierten Gene kann eine Diagnose gestellt werden.