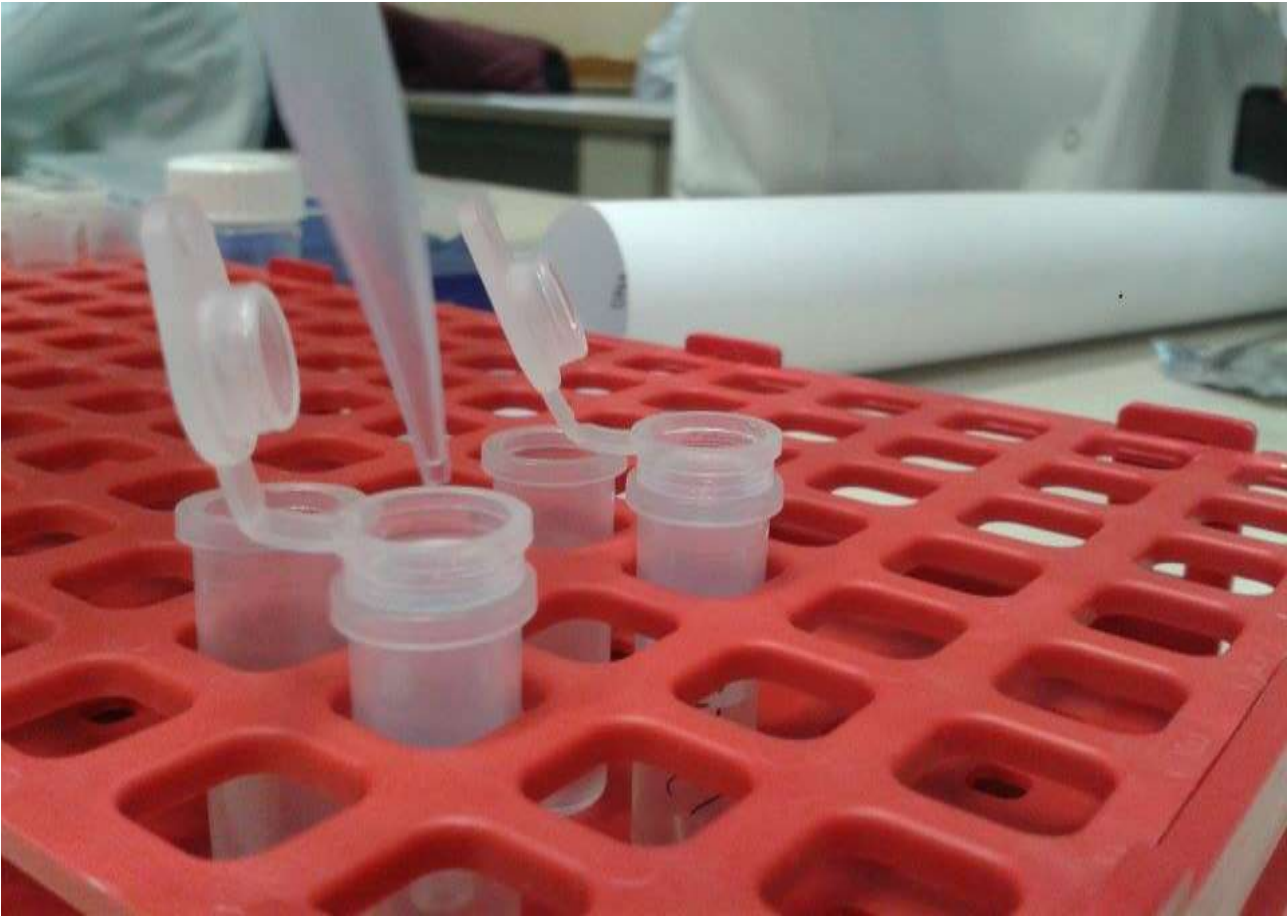


Praktikumsprotokoll



Tag 1

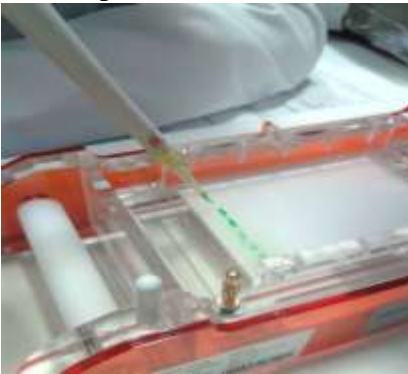
Wir, die 12b, haben an zwei Tagen im Januar unter Anleitung von Dr. Witt und Frau Ausborm ein zweitägiges Praktikum zum Thema Genetik, genauer PCR (Polymerase Chain Reaction) und Analyse der Proben mittels Elektrophorese, durchgeführt. Am Morgen des ersten Tages wurden zuerst die Arbeitsplätze im Nawiraum desinfiziert und die Gerätschaften (ein Thermocycler, eine Zentrifuge, ein Wasserbad, zwei Vibrationsmischer, mehrere Pipetten sowie Reaktionsgefäße und Probematerialien) an ihren Plätzen installiert. Danach haben wir uns einen Film über die praktische Anwendung der Verfahren in der Kriminalistik angesehen. Dann begannen wir damit, die Fleischproben zu zerkleinern und in die Reaktionsgefäße zu geben, nach und nach gaben wir mehr Enzyme zu und zentrifugierten die kleinen Proberöhrchen immer wieder. Faszinierend waren dabei besonders die winzigen Mengen, die verwendet wurden, alles spielte sich im Bereich von 2-20µl ab, mit dem Auge nur schwer zu erkennen. Als wir dann bereit waren, die PCR durchzuführen, war der Tag leider schon vorbei, also mussten die Proben in den Kühlschrank und die Tische aufgeräumt werden, abschließend gab es noch die Aufgabe sich zuhause im Internet über die Programmierung des **Thermocyclers** zu informieren. →



Tag 2

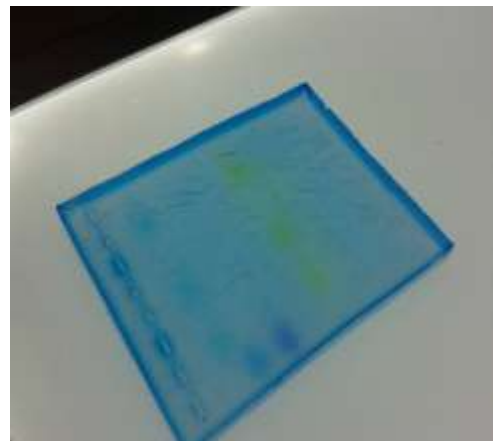
Die isolierte DNA konnte nun per PCR (Polymerase Chain Reaction) vervielfältigt werden. Dazu haben wir Ansätze aus einem Reaktionsmix bestehend aus Pufferlösung, Magnesiumchlorid, Taq-Polymerase und dNTPs, den PCR-Primer und der zu untersuchende DNA-Probe hergestellt. Wir haben je drei Ansätze erstellt, einmal mit der DNA, die wir untersuchten, eine mit positiver Kontroll-DNA und eine Negativprobe mit destilliertem Wasser. Alle Ansätze wurden nun in den Thermocycler, programmiert von Sören und Finn, gegeben. Nach knapp zwei Stunden, in denen wir zwischenzeitlich die Theorie zur DNA-Vervielfältigung erarbeiteten, hat der Thermocycler 45 Zyklen von Denaturierung, Annealing und Elongation durchlaufen und die DNA wurde soweit vervielfältigt, dass wir nun problemlos eine Elektrophorese durchführen konnten.

Für die Gel-Elektrophorese mussten wir zuerst das Agarose-Gel gießen. Dazu mischten wir das Agarose-Pulver mit destilliertem Wasser und stellten es bei ca. 80°C ins Wasserbad. Nach einiger Zeit konnten wir das Gel in die Elektrophorese-Träger gießen und mit einem Plastikkamm kleine Kammern schaffen. Nach ca. 20 Minuten war das Gel erstarrt, sodass es mit TAE-Puffer (25-fach konzentrierter TAE-Elektrophoresepuffer verdünnt mit destilliertem Wasser) überschichtet und der Kamm entfernt werden konnte. Der Glycerin-Anteil im Puffer beschwert die DNA-Lösung, sodass diese nicht aus den Gelstaschen herausdiffundieren kann, sein Farbstoff macht den Verlauf der Elektrophorese sichtbar.



← Ein Mitglied aus jeder Gruppe hat die verschiedenen DNA-Proben in die Taschen gespritzt, wobei man sehr vorsichtig sein musste, um das Gel nicht zu zerreißen oder zu zerstechen (was bei einer Gruppe auch geschehen ist). Jetzt konnten wir eine Gleichspannung an den Elektrophorese-Träger anschließen und nach einiger Zeit warten konnte man deutlich den Wanderungsverlauf der einzelnen Proben erkennen. Unglücklicherweise konnte man keine Banden oder Unterschiede zwischen den einzelnen Proben erkennen, vermutlich weil ein Teil der Enzyme vorher schon zerstört oder zumindest in ihrer Funktion stark eingeschränkt waren.

Trotzdem hat uns allen das Projekt sehr gefallen, wir erhielten Einblicke in praktische Anwendungsverfahren, die wir so nur theoretisch aus dem Unterricht kannten. Eine Kurzfassung der beiden Projektstage ist auch anderen Klassen zu empfehlen, da vor allem die Elektrophorese interessant und aufschlussreich ist. Auch, wenn wir in Endeffekt kein klares Ergebnis zu unseren Untersuchungen erhielten, war das Experiment ein voller Erfolg, denn ein Wissenschaftler muss häufig auch mit Fehlversuchen rechnen, auswerten und mit damit umgehen können, um in Zukunft bessere Ergebnisse zu erzielen.



Gel nach Einfärben →

Glossar

Elektrophorese: Auftrennung der einzelnen Bestandteile von Stoffen oder Gemischen aufgrund ihrer unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld

PCR: Polymerase Chain Reaction, Polymerase-Kettenreaktion, in vitro Vervielfältigung der DNA per DNA-Polymerase durch Denaturierung, Primerhybridisierung und Elongation

Denaturierung: strukturelle Veränderung von Biomolekülen, meist mit Funktionsverlust, hier:

Aufspaltung der DNA-Doppelhelix, trennen der Einzelstränge

Annealing: Primerhybridisierung, Anlagerung des Primers an die DNA-Sequenzen des Einzelstranges

Elongation: Erstellen eines komplementären Einzelstranges zur Vervollständigung einer „neuen“ DNA-Doppelhelix

Taq-Polymerase: thermostabile DNA-Polymerase (*thermus aquaticus*)

dNTPs: Nukleosidtriphosphate, Vorstufenbausteine der Nukleidsäuren

Primer: Startsequenz für DNA-replizierende Enzyme (hier: Polymerase)

Agarose: Polysaccharid (Vielfachzucker) aus Galaktose

TAE-Puffer: TRIS-Acetat-EDTA-Puffer (Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan; Essigsäureanion; Ethylendiamintetraessigsäure)

Ein Bericht von Nils und Sophie, 12b