Kursankündigung Biologie: Genetik im Schülerlabor

Kursleitung: PD Dr. K. Jahreis, Universität Osnabrück, und M. Derkes, Gymnasium „In der Wüste"

Die Genetik in der Biologie gewinnt zunehmend an Bedeutung. Um einen ersten Einblick in diesen komplexen Themenkreis zu bekommen, der ja oft als sehr Abstrakt wahrgenommen wird, werden im neuen Schülerlabor der Universität Osnabrück die nachstehenden Versuche durchgeführt werden:

- Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks;
- Isolierung eines rekombinanten Proteins aus Bakterien;
- Genetische Schalter: Regulation des Laktoseoperons;
- Nachweis transgener Pflanzen in Lebensmitteln.

Ein fundiertes Wissen in Molekulargenetik ist eine Grundvoraussetzung für die Teilnahme an diesem Kurs.

Abschlussbericht Herbstakademie 2009: Biologisches Schülerlabor

Sabine Bambynek, Christoph Berg, Stella Bergmann, Corinna Bolte, Johannes Ebken, Esther Knopp, Caroline Obermeyer, Ema Radoncic, Svenia Runkel, Sophia Scheidemann, Jasmin Schön, So-Kumneth Sim, Lena Thöle, Nina-Marie Tiemeyer, Wiebke Vinke, Wolfgang Wicker

Während der Herbstakademie wurde vier verschiedene genetische Versuche durchgeführt:

1. Funktion genetischer Schalter am Beispiel der Regulation des Lactose-Operons aus E. coli

Um das Prinzip der genetischen Schalter am Beispiel des Laktose-Stoffwechsels besser zu verstehen, führten wir eine phänotypische und enzymatische Untersuchung von *lac*-Regulationsmutanten durch.

Dazu wurden verschiedene *lac*-Mutanten von *Escherichia coli* und ein Wildtyp mit und ohne Laktose im Wuchsmedium angezogen und anschließend bezüglich ihrer jeweiligen β-Galactosidaseaktivität, welche für den Laktoseabbau notwendig ist, untersucht. Mit den Ergebnissen konnten die *lac*-Genotypen der Mutanten abgeleitet und die Regulation der Herstellung dieses Enzyms veranschaulicht werden.

Die Abstufungen einer Gelbfärbung nach Umsetzung eines farblosen Substrates in ein gelbes Produkt zeigte die Stärke der Enzymaktivität. Beim Wildtyp auf dem Nährboden mit Laktose wies die starke Gelbfärbung auf eine hohe Enzymaktivität hin. Die sehr schwache Gelbfärbung beim Wildtyp ohne Laktose zeigte eine verschwindend geringe Enzymaktivität, woraus wir schließen konnten, dass der Wildtyp die *lac*-Gen je nach Bedarf ein- und ausschalten kann.

Auch bei den *lac*-Mutanten ließen sich verschiedene Abstufungen der Gelbfärbung erkennen, die sich allerdings von denen des Wildtypes unterscheiden. Auf Grund dieser Ergebnisse konnten wir Vorhersagen machen, wo genau die jeweilige Mutation liegt und weshalb die *lac*-Gen teilweise nicht reguliert werden können.

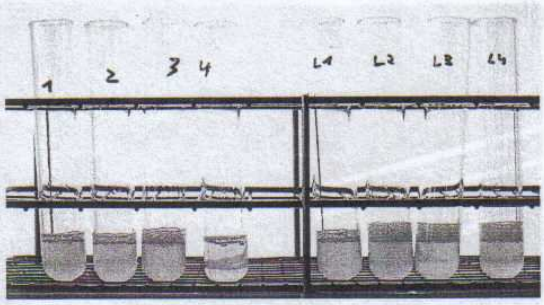

Abb. 1: ß-Galaktosidase-Aktivitäten verschiedener *E. coli* Stämme

2. Herstellung von laktosefreier Milch

Viele Menschen leiden an einer Laktoseunverträglichkeit (Laktoseintoleranz). Das bedeutet, dass sie den Zweifach-(Milch-)zucker Laktose nicht in die Einfachzucker Glucose und Galaktose spalten können. Für die Spaltung der Laktose beim Menschen ist das Enzym Laktase verantwortlich, welches bei einer Intoleranz nicht oder nur mangelhaft vorhanden ist. Deshalb gibt es Milchprodukte, in denen die Laktose schon aufgespalten ist. Auch mit einer Laktoseintoleranz kann man die Spaltprodukte verwerten.

In unserem Versuch ging es darum, laktosefreie Milch herzustellen, indem wir ß-Galaktosidase (das ist das laktosespaltende Enzym der *E.coli* Bakterien) aus den Zellen isoliert haben. Da allerdings bei diesem Vorgang auch andere Proteine extrahiert wurden, musste das Enzym ß-Galaktosidase gereinigt werden. Dieser Reinigungsvorgang wurde über eine Säulenchromatographie erreicht.

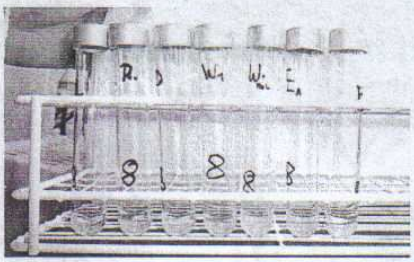

Abb. 2: Nachweis der ß-Galaktosidase-Aktivität des gereinigten Enzyms

Der nächste Schritt zur laktosefreien Milch war die Vermischung des Enzyms mit der Milch. Zuletzt haben wir normale Milch und laktosefreie Milch mit Teststreifen auf ihren Glucosegehalt überprüft, um feststellen zu können, ob die Laktose in unserer Milch gespalten wurde. Der positive Glucosetest zeigt, dass die Milch nach Zugabe des Enzyms laktosefrei wurde.

3. Bakteriophagen und Evolution

Wir führten zu diesem Thema zwei Versuche durch. Einmal wurde mit Hilfe eines sogenannten Tropftests die Mutationsrate für ein bestimmtes Gen in *E. coli* bestimmt. Zum zweiten führte der Kurs ver-

schiedene Wachstumsmessungen durch, die Rückschlüsse auf das Verhalten der *E. coli* Bakterien nach einer Bakteriophageninfektion zuließen. In dem ersten Versuch haben wir Bakterien eines *E. coli*-Stammes auf eine Nährplatte ausgestrichen und in drei Kreisen Vollmedium zur Kontrolle und zwei verschiedene Lambda Bakteriophagen (Viren von Bakterien) hinzugefügt. Nach zwei Nächten war ein Bakterienrasen mit zwei kreisförmigen Besonderheiten entstanden. Dort, wo wir den Wildtyp des Lambda Bakteriophagen aufgetropft hatte, hatte sich ein trüber Plaque gebildet. Das bedeutet, dass sich dort ein Loch im Rasen gebildet hat, da nur etwa 50% der Bakterien sich entwickelt hatten. Das lag dran, dass etwa die Hälfte der Bakterien durch die Infektion lysiert wurden, d.h. sie sind geplatzt. Bei den restlichen Bakterien haben sich die Phagen in das Bakterienchromosom integriert, sodass sie dann gegenüber einer weiteren Infektion immun geworden sind. Bei der Bakteriophagen-Mutante $Lambda_{vir}$, die nach einer Infektion immer die Bakterienzellen lysiert, war ein klarer Plaque, also ein vollständiges Loch zu sehen. Allerdings wuchsen auch vereinzelt Bakterienkolonie. Diese Bakterienzellen haben aufgrund einer spontanen Mutation keinen Phagenrezeptor mehr und sind daher Lambda-resistent.

Für das entsprechende Gen berechneten wir eine Mutationsrate von $5x10^{-6}$.

Über die Wachstumskurven konnten wir den Verlauf einer Phageninfektion direkt beobachten.

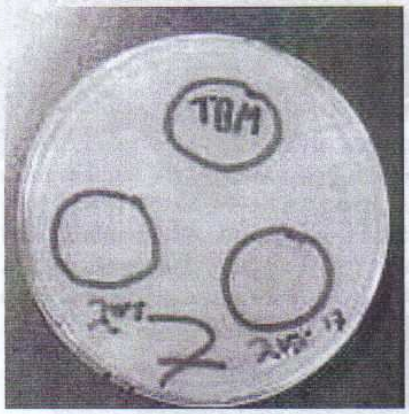

Abb. 3a: Agarplatte mit Plaques

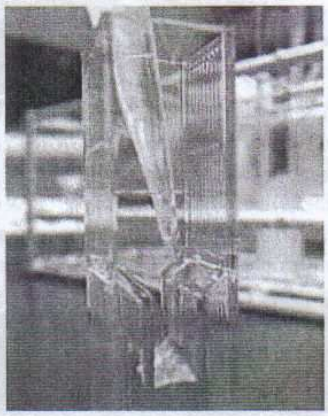

Abb. 3b: Küvette zum Messen des Bakterienwachstums

4. Genetischer Fingerabdruck

Der genetische Fingerabdruck wird oft zur Täterermittlung bzw. zur Vaterschaftsklärung verwendet. Jeder Mensch hat ein individuelles DNA-Profil, welches sich als Genetischer Fingerabdruck darstellen lässt.

Zur Bestimmung des genetischen Fingerabdrucks wird zunächst eine Gewebe-Probe aus Epithelzellen der Mundschleimhaut entnommen. Die DNA wird über verschiedene Extraktionsverfahren aus den Zellen isoliert. Da es sich nur um eine geringe DNA Menge handelt, muss die zu analysierende DNA-Sequenz durch die Polymerasekettenreaktion (PCR) vervielfältigt werden. Anschließend werden die verschieden großen DNA-Fragmente durch eine Gelelektrophorese aufgetrennt und die Größe ihrer Banden bestimmt. Das PCR- Muster ist bei jedem Menschen individuell.

Bei einem Vaterschaftstest beispielsweise werden die individuellen Bandenmuster des potentiellen Vaters und der Kinder verglichen. Die Vaterschaft ist ausgeschlossen, sobald das Kind eine Bande aufweist, die sich nicht bei den potentiellen Eltern wiederfindet.

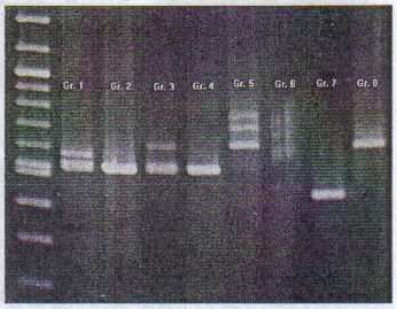

Abb. 4: Agarosegel mit den DNA Proben des Kurses