

Kursangebot Biologie: Experimente zur Genetik

Kursleitung: PD Dr. Knut Jahreis, Universität Osnabrück, und Marie 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:

- Genetische Schalter: Regulation des Laktoseoperons;
- Herstellung Laktose-freier Milch
- Wirkungsweise von Antibiotika und Mechanismen der Resistenz
- Erstellung eines genetischen Fingerabdrucks

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

Experimente zur Genetik

Dorothee Albers, Lennart Beckmann, Lina Derkes, Niklas Feldmann, Katharina Großheider, Hannah Haunhorst, Ricarda Kellermann, Nadine Kleinken, Sophie Richert, Jens Schepers, Katrin Schmitz,

Versuch 1: Regulation des Lactose (*lac*)-Operons

Bis zum 8-Zellstadium besteht ein menschlicher Embryo aus undifferenzierten Zellen. In der weiteren Entwicklung des Embryos sorgen verschiedene genetische Schalter für eine Spezialisierung der einzelnen Zellen (z.B. zu Nervenzellen oder Muskelzellen), wobei jede Zelle weiterhin das gesamte Erbgut besitzt. Das Operon-Modell ist eines der vielen Modelle, anhand dessen man die Genregulation gut nachvollziehen kann. In diesem sorgen spezifische Repressoren dafür, dass DNA-Sequenzen „gesperrt“ bzw. „freigegeben“ werden, sodass die Zelle verschiedene spezielle Funktionen ausführen kann.



In unserem Versuch untersuchten wir die Regulation der Transkription am Beispiel des *lac*-Operons verschiedener *E.coli*-Stämme. Wir kamen zu dem Ergebnis, dass der *E.coli*-Wildtyp bei Zugabe von Laktose die Produktion des laktosespaltenden Enzyms β -Galaktosidase von dem Basalniveau von 3% auf 100 % steigerte. Mithilfe verschiedener Mutanten, die unterschiedliche Defekte im Lactosestoffwechsel aufweisen, haben wir das Regulationsmodell überprüft.

Versuch 2: Herstellung von Lactose-freier Milch

Lactose ist der Hauptzuckerbestandteil in der Milch. Um diesen Zucker verwerten zu können, muss er durch das Enzym Lactase bzw. β -Galaktosidase gespalten werden. Kleinkinder besitzen immer die Fähigkeit, die in der Muttermilch vorhandene Lactose zu spalten, jedoch wurde das dafür vorgesehene Gen im Alter von ca. 5 Jahren abgeschaltet. Durch eine Mutation wurde es für den Menschen möglich, Lactose auch in späteren Entwicklungsstadien zu verwerten. Deshalb können Menschen erst seit ungefähr 6000 Jahren auch im Erwachsenenalter Milchzucker spalten. Eine weitere Mutation ist die Ursache dafür, dass in den letzten Jahren vermehrt eine Lactose-Intoleranz in der Bevölkerung aufgetreten ist. Personen mit einer Lactose-Intoleranz müssen sich daher Lactose-frei ernähren. In unserem Versuch haben wir Laktose-freie Milch gentechnisch hergestellt. Dafür wurde zuerst eine Kultur des Bakteriums *E. coli* gezüchtet, deren Genmaterial so verändert wurde, dass eine große Menge an Erbmateri-

al zur Codierung des Enzyms β - Galactosidase vorhanden ist. Die Zellen wurden genetisch verändert, so dass viel Erbmateriale zur Codierung des Enzyms vorhanden ist. Im weiteren Verlauf wurde das Enzym β -Galaktosidase isoliert. Dabei ist ein vorher in das Enzym eingefügter Marker von Nutzen. Das produzierte Enzym wird zum Schluss der Milch beigefügt, so dass es die Lactose in die Einfachzucker Galactose und Glucose spalten kann. Diese entstandenen Produkte kann der Körper problemlos verwerten.

Versuch 3: Konjugation und Antibiotika

Heutzutage sind wir daran gewöhnt, jede bakterielle Erkrankung mit Antibiotika zu behandeln. Kinder spielen mit Lungenentzündung draußen Fußball, denn sie nehmen Antibiotika. Daraus folgt jedoch eine immer höhere Resistenz der Bakterien gegenüber Antibiotika. Das neuste Beispiel dafür ist die EHEC-Epidemie. Die zunehmende Resistenz der Bakterien ist auf den Austausch genetischer Informationen auf den Plasmiden in Form von Transformation und Konjugation zurückzuführen.

Des Weiteren ist zu beachten, dass natürliche Resistenzen aufgrund der Eigenproduktion von Antibiotika zur Konkurrenzabkämpfung bestehen. Antibiotika töten die Bakterien ab oder hemmen sie in ihrem Wachstum.

Dies haben wir auf folgende Weise untersucht: Unser erster Versuch beschäftigte sich mit dem Nachweis der Antibiotikawirkung. Dazu haben wir einen Bakterienstamm auf ein Vollmedium aufgetragen und an manchen Stellen verschiedene Antibiotika hinzugefügt. Nach zwei Tagen im Inkubatorschrank haben sich Hemmhöfe um die Antibiotika gebildet. Ein weiterer Versuch sollte die DNA-Übertragung unter verschiedenen Bakterienkulturen zeigen. Hierzu haben wir eine Vollmediumplatte mit zwei Antibiotika versetzt und auf ihr zwei Bakterienstämme, die jeweils gegen eines der Antibiotika resistent sind, aufgetragen. In den Bereichen, wo beide Bakterien miteinander in Kontakt kommen, fand ein Genaustausch statt, sodass sich ein Bakterienstamm entwickelt hat, der gegenüber beiden Antibiotika resistent war.

Versuch 4: Genetischer Fingerabdruck

Der genetische Fingerabdruck hat heutzutage eine große Bedeutung. Die bekannteste Anwendung ist die Personenidentifizierung, wie z.B. bei Vaterschaftstests, bei Täterüberführungen oder nach Umweltkatastrophen, da die Leichen dann oftmals nicht mehr zu erkennen sind.

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) ist bei der Bestimmung des genetischen Fingerabdrucks eine große Hilfe, da durch diesen Prozess Abschnitte der DNA in kurzer Zeit vervielfacht werden können. Dies passiert so: Zuerst werden die DNA Stränge bei 95°C voneinander getrennt. Danach werden Primer zu der Lösung gegeben und diese wird auf 50°C abgekühlt, damit sich die Primer an die DNA anlagern können. Primer sind Basensequenzen, die komplementär zur genomischen DNA sind. Anschließend wird die Lösung auf 72°C erhitzt, wodurch neue DNA-Moleküle gebildet werden. Diesen Prozess wiederholt man 30-40 Mal und die DNA wird bei jedem Durchgang verdoppelt. Durch die PCR ist es möglich, aus einer geringen Menge DNA einen interessanten hochvariablen Abschnitt zu vervielfältigen.

Im Rahmen der Herbstakademie haben wir unsere eigene genomische DNA isoliert und mit Hilfe der PCR unseren eigenen genetischen Fingerabdruck erstellt.

