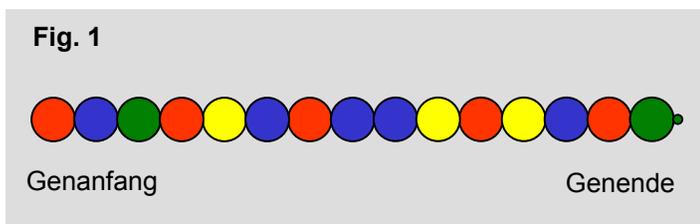


Aufgabe

Vor Ihnen stehen vier Behälter mit bunten, zusammensteckbaren Perlen (= Nucleotide). Jeder Behälter enthält nur eine Farbsorte an Perlen, vermischt mit ca. 15% markierten Nucleotiden (siehe Hintergrundinformationen). Ausserdem erhalten Sie einen Strang aus etwa 15 bunt gemischten Perlen (= unbekanntes Gen). Das erste Nucleotid dieses Gens ist jene Perle, bei der an der Aussenwand ein kleines Loch sichtbar ist. Das letzte Nucleotid des Gens stellt jene Perle dar, die an ihrer Aussenwand einen kleinen Fortsatz hat, an dem theoretisch eine weitere Perle befestigt werden könnte (Fig. 1).



1. Bauen Sie mit Hilfe der Perlen in den 4 Behältern einen Perlenstrang auf, der komplementär zu dem abgebildeten Gen ist. Zögern Sie nicht, wenn Sie eine Perle aus dem passenden Behälter herausnehmen, sondern greifen Sie „spontan“ zu. Fahren Sie so fort, bis Sie das Gen vollständig „nachgebaut“ haben oder bis Sie zufälligerweise eine Perle wählen, die keinen Fortsatz besitzt und mit einem „Fluoreszenzfarbstoff“ markiert ist. An eine solche Perle lässt sich keine weitere Perle mehr befestigen. Dies führt zu einem Kettenabbruch. Wie eine echte Polymerase beginnen Sie jetzt mit einer neuen Reaktion, indem Sie das Gen wieder von der ersten Base an komplementär nachbauen.

Farbe der Perle	Nucleotid mit der Base	komplementäres Nucleotid mit der Base
rot	Adenin	Thymin
blau	Thymin	Adenin
grün	Guanin	Cytosin
gelb	Cytosin	Guanin

UNTERRICHTSMATERIAL GENTECHNIK

AUFGABE 1 SEQUENZIEREN MIT POP-IT BEADS

2. Wiederholen Sie den Schritt 1, bis Sie etwa 10-15 unterschiedlich lange Stränge haben.
3. Mittels einer „Gelelektrophorese“ trennen Sie anschliessend Ihre Nucleotid(Perlen-)stränge auf. Dabei können Sie sich das Gel als ein Maschennetz vorstellen, an welches eine Spannung angelegt wird. Da die DNA negativ geladen ist, wandern die DNA-Stücke zum positiven Pol. Die kleinen DNA-Stücke werden bei ihrer Wanderung durch das Maschennetz weniger behindert als die grossen. Sie kommen deshalb schneller vorwärts und können in der gleichen Zeit eine längere Strecke zurücklegen als die grösseren DNA-Stücke.
Zur praktischen Umsetzung: Die Gelelektrophorese können Sie selber nicht durchführen. Sie können nur das Ergebnis darstellen. Zu diesem Zweck ordnen Sie Ihre Perlenketten so an, dass sie entsprechen ihrer Größe untereinander liegen. Die längsten Ketten befinden sich oben, die kleinsten unten.
4. Am unteren Ende des Gels müssen Sie sich nun ein Fluoreszenz-Messgerät vorstellen. Es analysiert die jeweilige Fluoreszenzfarbe der einzelnen DNA-Stücke, welche im Gel an ihm vorbeiziehen, und gibt diese Information direkt an einen angeschlossenen Computer weiter. Jene Nucleotide, die eine Fluoreszenzmarkierung aufweisen, unterscheiden sich in der Art ihrer Markierung und damit in ihrer Fluoreszenzfarbe; denn jeder der 4 Nucleotidtypen ist durch eine andere Fluoreszenzfarbe gekennzeichnet. Auf diese Weise kann man anhand des Computerausdrucks die Sequenz des zu untersuchenden Gens direkt ablesen. Jemand aus Ihrer Gruppe kann diese Fluoreszenzmessung nachahmen. Das heisst, er bzw. sie liest bei jeder Nucleotid(Perlen-)kette ab, mit welchem fluoreszierenden Nucleotid-Typ diese gekennzeichnet ist. Die Ergebnisse teilt er/sie einem anderen Gruppenmitglied (= Computer) mit, das diese dann schriftlich festhält.
5. Es kann sein, dass Sie unter Ihren Nucleotid(Perlen-)ketten zwei gleich lange Exemplare haben. Mehrere gleich lange Ketten mit einer identischen Fluoreszenzmarkierung geben dem Computer ein stärkeres Signal. Zu einer Veränderung der wahrgenommenen Fluoreszenzfarbe kommt es jedoch nicht. Es kann ebenfalls sein, dass sich Ihre verschiedenen Nucleotid(Perlen-)ketten in der Länge nicht immer nur um eine Perle, sondern gleich um mehrere Perlen unterscheiden. Es fehlen somit Nucleotid(Perlen-)ketten von einer bestimmten Länge und somit auch ganz bestimmte Fluoreszenzsignale. Eine fehlende Nucleotidkette kommt im Labor im Allgemeinen nur dann vor, wenn der zu sequenzierende DNA-/Gen-Bereich grösser als ca. 700-1000 Basen ist. Der Grund dafür ist, dass die Reaktion, mit der die zahlreichen Nucleotidketten von unterschiedlicher Länge erzeugt werden, viel häufiger stattfindet als es in diesem Beispiel gezeigt wird. Zudem wird das Sequenzieren eines Genbereichs mindestens



UNTERRICHTSMATERIAL GENTECHNIK

AUFGABE 1 SEQUENZIEREN MIT POP-IT BEADS

zweimal durchgeführt. Simulieren Sie diesen doppelten Versuchsansatz. Vergleichen Sie hierzu Ihre Nucleotid- bzw. Basensequenz mit derjenigen von einer Nachbargruppe. Vervollständigen Sie dann anhand der Ergebnisse der Nachbargruppe Ihre eigene Nucleotid-/Basensequenz.

6. Ihre ermittelten Sequenzierdaten sind noch nicht identisch mit der Originalsequenz des Gens.
 - a) Begründen Sie, warum dies so ist.
 - b) Was müssen Sie machen, um die Originalsequenz des Gens herauszufinden?