

Das Gentechnik-Projekt der Biologie-Leistungskurse vom Juli 2011



Unsere Teams:

Der Leistungskurs von Herrn Metzner:



Der Leistungskurs von Herrn Sohmen:



Die genauen Details zum Versuch mag sich der wissensdurstige Leser auf den Seiten der Firma ROCHE gönnen ([Blue Genes ROCHE](#)).

Hier zeigen wir in Ausschnitten die entscheidenden Stationen der experimentellen Abläufe.

Vorsicht – Sauberkeit – Präzision – Teamwork: Das sind die leitenden Schlagworte für gelingendes gentechnisches Arbeiten.

Im Mikroliter-Bereich bewegen sich die Mengen an Erbsubstanz DNA, mit denen gearbeitet wird. In den kleinen Eppendorf-Gefäßen befinden sich also nur minimale Mengen klarer Flüssigkeit, die - z.T. herunterzentrifugiert - mit der Pipette aufgezogen und wieder abgelassen



werden müssen.

Gegen das Einbringen eigener DNA schützen Handschuhe.

Zunächst muss ein sog. „Plasmid-Ring“ mit Schneideenzymen (Restriktionsenzymen) aufgebrochen werden, damit das neue Gen eingepflanzt werden kann. Dieses neue Gen soll E.-coli-



Bakterien dazu veranlassen, später eine Substanz in ihrem Nährboden in einen blauen Farbstoff umzuwandeln.

Die Schneideenzyme sind Proteine, die nur bei exakt eingehaltenen Temperaturverhältnissen arbeiten, welche in Wasserbädern erzeugt werden. Um sehen zu können, ob diese Schneideenzyme richtig gearbeitet haben, schickt man die DNA-Fragmente durch ein Gel aus Agarose, das erst als heiße Flüssigkeit hergestellt und

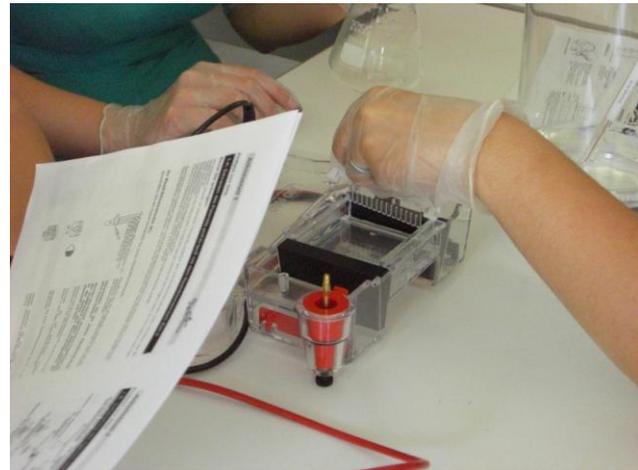




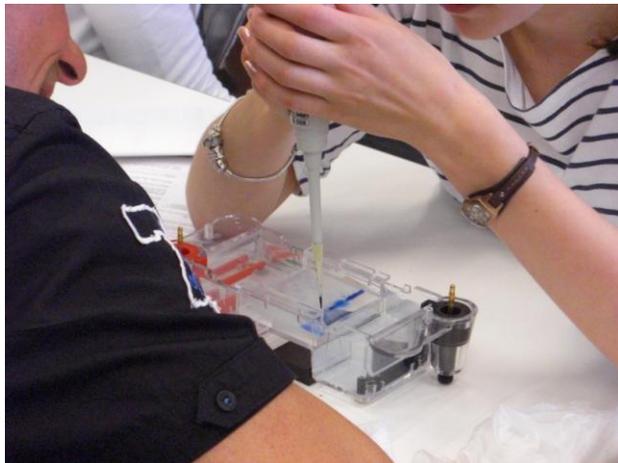
dann in eine elektrisch funktionierende Kammer gegossen wird.

Durch eingesetzte Kämme werden im Gel Taschen frei gehalten, in die später die angefärbten DNA-Lösungen gegeben werden.

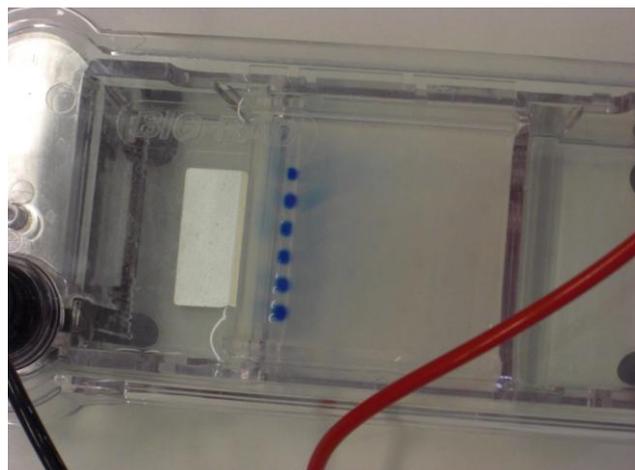
Das Einfüllen dieser Lösungen ist eine echte Konzentrationsleistung, denn man muss „unter Wasser“ die Tasche treffen, ohne das Gel kaputt zu machen.



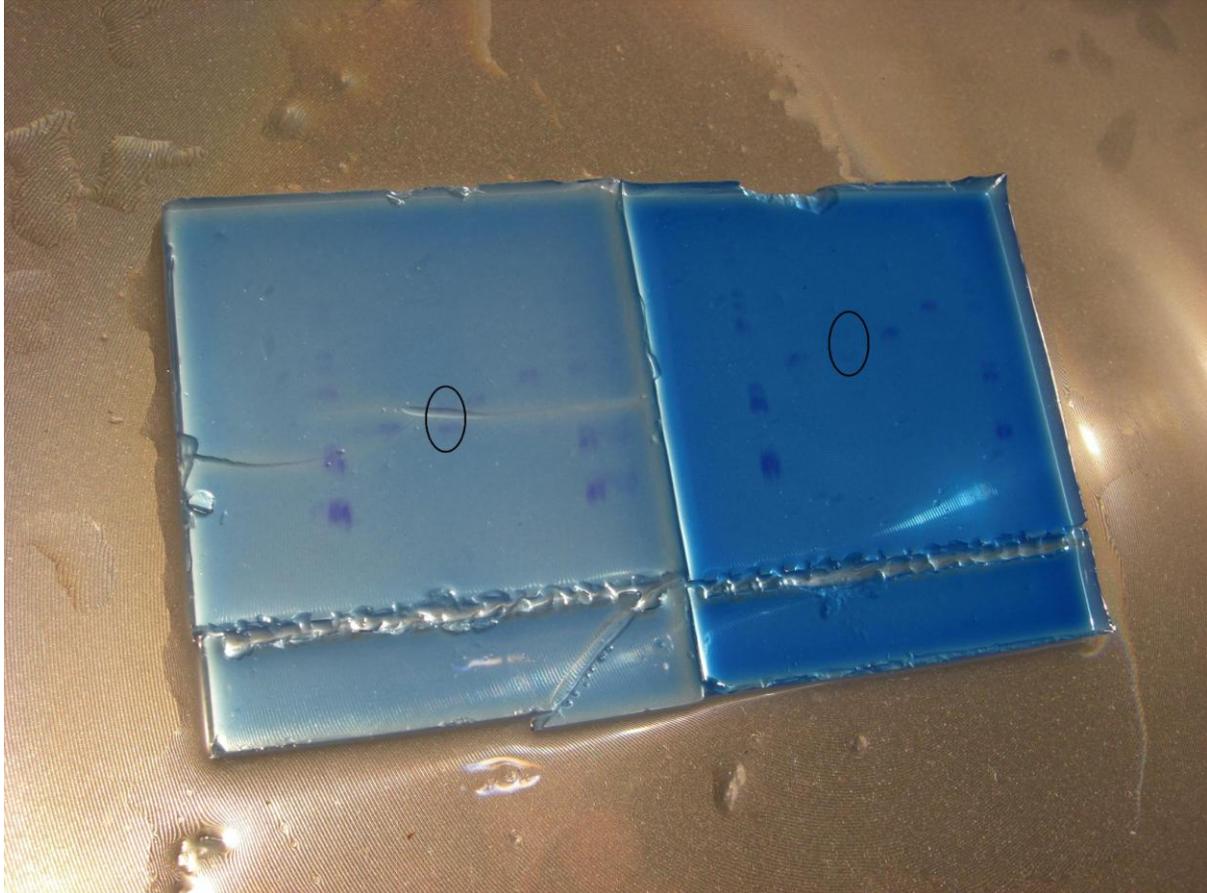
Dann wird eine Stromspannung angelegt und die DNA-Fragmente wandern zum Pluspol durch das Gel.



Je nach Größe wandern sie unterschiedlich weit.



Das Ergebnis ist ein Bandenmuster, wobei die Fragmente in der Mitte mit Hilfe eines Längenstandards außen links und rechts identifiziert werden können. In unserem Fall sind die zwei Fragmente des aufgebrochenen Plasmid-Ringes gut zu erkennen.



Da wir mit den Restriktionsenzymen nicht nur fertige Plasmid-Ringe kaputt gemacht haben, sondern auch unfertige und diese dann mit dem neuen Gen wieder zusammengesetzt haben, wollen wir wissen, ob E.-coli-Bakterien die neuen Plasmid-Ringe aufnehmen, das neue Gen ablesen und das Genprodukt, die Galaktosidase, herstellen, damit ein blauer Farbstoff im Nährboden produziert wird.

Es werden Petrischalen vorbereitet, auf die später unterschiedlich konzentrierte Bakterienlösungen gegeben werden. Manche Platten dienen als Kontrolle, ob überhaupt Bakterien wachsen können.



Dann wird der Nährboden als heiße Flüssigkeit angerührt und mit einem Antibiotikum geimpft – ungewollte Bakterien von außen und „unfähige“ Bakterien sollen vernichtet werden (alle „richtigen“ Bakterien haben im aufgenommenen Plasmid-Ring ein Gen gegen dieses Antibiotikum und das neue Gen).



Unter sterilen Bedingungen im Abzug werden die Böden gegossen, mit Bakterienlösung versehen, und diese wird mit einem selbst produzierten Drigalski-Spatel ausplattiert.



Nach eintägiger Inkubation im Brutschrank bei 37° kann man dann sehen, ob „blaue Kolonien“ von Bakterien gewachsen sind.

So sieht das Idealbild aus:



Und so die verdiente Pause:

