



miniPCR® Crime Lab

Missy Baker Missing™

**Forensischer Versuchskit für die PCR mit
Untersuchung der Erbkrankheit
Mukoviszidose**



Inhalt

Erste Schritte

Auf einen Blick
Anforderungen an die Unterrichtszeit
Benötigte Materialien
Vorbereitung für Lehrkräfte
Einrichtung eines Arbeitsplatzes

Leitfaden für Lernende

Hintergrundinformationen
Der Versuch
Laborprotokoll für Lernende
Fragen nach dem Versuch
Zusatzaufgaben zu CFTR und Mukoviszidose

Leitfaden für Lehrkräfte

Erwartete Ergebnisse
Troubleshooting
Hinweise zur Versuchsdurchführung
Zusatzaufgaben
Lernziele und entwickelte Fähigkeiten

Auf einen Blick

Missy Baker ist verschwunden! Verwenden Sie moderne genetische Techniken, um einen Verdächtigen zu finden.

Übersicht über den Versuch

Dieser Versuch hilft den Lernenden, Sicherheit im Umgang mit wichtigen Labortechniken wie PCR, Mikropipettieren und Gelelektrophorese zu gewinnen. Dabei erforschen sie die Mukoviszidose und die Zusammenhänge zwischen Genen und Krankheit, die persönliche Identifizierung und den Einsatz der Biotechnologie für genetische Analysen.

TECHNIKEN

Mikropipettieren
PCR
Gelelektrophorese

THEMEN

Vom Genotyp zum Phänotyp
Genetische Krankheit
Biotechnologie

Anforderungen an die Unterrichtszeit

Dieses Protokoll bietet eine gewisse Flexibilität, damit Sie die benötigte Unterrichtszeit besser einteilen können.

Schritte	Erforderliche Zeit
1. PCR	
A. Pipettieren der PCR-Proben und Starten des PCR-Programms	20 Minuten
B. PCR durchführen	35 Minuten Das PCR-Programm kann während des Unterrichts gestartet und unbeobachtet laufen gelassen werden.
 Optionaler Haltepunkt: Das PCR-Produkt ist bei Raumtemperatur mehrere Tage lang stabil. Für eine längerfristige Lagerung legen Sie es in den Gefrierschrank.	
2. Gelelektrophorese	
Vorbereiten: Gele herstellen	Wir empfehlen, dass die Lehrkraft die Gele außerhalb des Unterrichts vorbereitet. Planen Sie 30 Minuten Unterrichtszeit ein, wenn Sie die Lernenden die Gele vorbereiten lassen wollen.
A. Gel laden	10 Minuten
B. Gel laufen lassen	20-25 Minuten Das Gel muss während dieser Zeit nicht aktiv überwacht werden.
C. Ergebnisse interpretieren	5 Minuten

Benötigte Materialien

Wird im Kit geliefert (Art.-Nr. 35018-03)

- Das Kit enthält DNA-Proben und PCR-Reagenzien für acht Laborgruppen.
- Bei Aufbewahrung im Gefrierschrank können die Reagenzien nach Erhalt 12 Monate lang gelagert werden. Bei Aufbewahrung im Kühlschrank sind die Reagenzien nach Erhalt 1 Monat lang haltbar.
- Reagenzien für die Vorbereitung von Gelen, Plastikröhrchen für die Verteilung von Reagenzien an einzelne Gruppen, Plastikröhrchen für die PCR und Pipettenspitzen sind separat erhältlich. Einzelheiten finden Sie unten.

Inhalt	Zur Verfügung gestellt	Erforderlich pro Gruppe	Lagerung
Simulierte DNA-Proben • DNA Verdächtiger A • DNA Verdächtiger B • Kontroll-DNA H • Kontroll-DNA D	je 100 µl	je 10 µl	Gefrierschrank
2X EZ PCR Master Mix Load Ready™	700 µl	75 µl	Gefrierschrank
3X Primer-Mix	500 µl	50 µl	Gefrierschrank
DNA-Leiter 2	150 µl	15 µl	Gefrierschrank

Elektrophorese-Reagenzien und Kunststoffe separat erhältlich

- Dieser Versuch erfordert:
 - 2%ige Agarosegele mit einem fluoreszierenden DNA-Farbstoff (z.B. SeeGreen™, Art.-Nr. 35018-71 oder 35018-72).
 - Plastikröhrchen für die Verteilung der Reagenzien an die einzelnen Gruppen und 0,2 ml PCR-Gefäße für die Durchführung der PCR.
 - PCR Einzelgefäße, 0,2 ml (35928-01 oder 35928-00)
 - Einmalreaktionsgefäße, 1,5 ml (37653-02 oder 37653-00)
 - Ständer für 8 x 0,2 ml Einmalreaktionsgefäße (37652-01)
 - Ständer für 20 x 1,5 ml Einmalreaktionsgefäße (37652-00)
 - Mikroliterpipette 2-20 µl (47141-10)
 - Mikroliterpipette 20-200 µl (47141-11)
 - Pipettenspitzen, 2-200 µl (47148-01 oder 47148-11)
 - TBE-Elektrophoresepuffer (35018-73)
- Gelelektrophorese-Reagenzien und Kunststoffe können auch von anderen Anbietern bezogen werden.

Erforderliche Ausrüstung

- Dieser Versuch kann mit jedem Thermocycler durchgeführt werden.
- Empfohlene Thermocycler:
 - miniPCR mini16X (35014-99)
 - miniPCR mini8X (35013-99)
- Dieser Versuch ist mit jedem horizontalen Gelelektrophorese-System kompatibel in Kombination mit:
 - Fluoreszierender DNA-Farbstoff (z. B. SeeGreen™)
 - Ein Transilluminator, der mit dem verwendeten DNA-Farbstoff kompatibel ist. Fluoreszierende DNA-Färbungen erfordern in der Regel eine Beleuchtung mit blauem Licht (~470 nm) oder UV-Licht (~260 nm).
- Empfohlenes Gelelektrophorese-System (inkl. Gelgießstand, Transilluminator und Netzgerät):
 - blueGel (35017-99)
 - Set Schülerversuche TESS Genetik (15311-88)

Andere vom Benutzer bereitgestellte Materialien

- | | |
|---------------------------------------|-------------------------------------|
| • Destilliertes Wasser | • Einweg-Laborhandschuhe |
| • Mikrowelle oder Kochplatte | • Schutzbrillen |
| • Hitzebeständiger Kolben oder Becher | • Permanentmarker mit feiner Spitze |

Vorbereitung für Lehrkräfte

Übersicht

- Die Reagenzien reichen für acht Laborgruppen.
- Diese Aktivität besteht aus zwei Teilen, die sich wahrscheinlich über mehrere Tage erstrecken werden.
- Die folgende Tabelle zeigt, welche Vorbereitungen die Lehrkraft für jeden Teil des Experiments treffen muss.

Vorbereitung	Erforderliche Zeit	Zeitleiste
Reagenzien dosieren	15 Minuten	Kann bis zu einer Woche vor der Verwendung fertiggestellt werden.
Vorbereitung von Elektrophoresepuffer und Agarosegelen	30 Minuten	Unterschiedlich - Bei Verwendung der Gelreagenzien von miniPCR können die Gele vorbereitet und bis zu fünf Tage vor der Verwendung gelagert werden.

Reagenzien dosieren

- Die Reagenzien können bis zu einer Woche im Voraus dosiert und bis zur Verwendung im Kühlschrank aufbewahrt werden.
- Dieses Kit enthält ausreichend Reagenzien für acht Laborgruppen.

Benötigte Materialien

Aus dem Kit (im Gefrierschrank aufbewahrt):

- DNA des Verdächtigen A
- DNA des Verdächtigen B
- Kontroll-DNA H
- Kontroll-DNA D
- DNA-Leiter 2

Vom Benutzer zur Verfügung gestellt:

- Kunststoffröhrchen für die Abgabe von Reagenzien (es können 1,7 ml oder 0,2 ml Röhrchen verwendet werden)
- PCR-Gefäße (0,2 ml)
- 2-20 µl-Mikropipette und Spitzen
- Permanentmarker mit feiner Spitze

1. Tauen Sie die Reagenzien auf, indem Sie die Röhrchen auf Raumtemperatur bringen.
Hinweis: Die Bestandteile des Kits sind bei Raumtemperatur mehrere Stunden lang stabil und müssen nicht auf Eis gelagert werden, während Sie die Reagenzien dosieren.
2. Geben Sie für jede Laborgruppe die folgenden Reagenzien in beschriftete Plastikröhrchen. Es können 1,7 ml oder 0,2 ml Plastikröhrchen verwendet werden.

– 2X EZ PCR Master Mix	75 µl
– 3X Primer-Mix	50 µl
– DNA des Verdächtigen A	10 µl
– DNA des Verdächtigen B	10 µl
– Kontroll-DNA H	10 µl
– Kontrolle-DNA D	10 µl
– DNA-Leiter 2	15 µl
3. Wenn Sie die Reagenzien mehr als 24 Stunden vor dem Unterricht abgeben, bewahren Sie bitte die Röhrchen bis zum Gebrauch im Kühlschrank auf.

Vorbereitung von Elektrophoresepuffer und Agarosegelen

1. Bereiten Sie den Elektrophoresepuffer vor.
 - Befolgen Sie die Anweisungen des Herstellers zur Herstellung der Pufferlösung.
 - Die benötigte Puffermenge ist je nach Gelelektrophorese-System unterschiedlich.
 - Für das blueGel-Elektrophorese-System sind 600 ml TBE-Puffer für mindestens acht Gelläufe ausreichend.
 - Für andere Systeme lesen Sie bitte die Anweisungen des Herstellers:
 - Das für die Herstellung von Agarosegelen erforderliche Puffervolumen.
 - Das für die Verwendung als Laufpuffer benötigte Puffervolumen.
2. Bereiten Sie 2%ige Agarosegele mit fluoreszierender DNA-Färbung vor.
 - Sie benötigen eine Spur pro Lernenden plus eine Spur für die DNA-Leiter pro Gruppe. Wenn die Gruppen sich die Gele teilen, ist eine einzige Spur für die Leiter pro Gel ausreichend.
 - Dieser Kit ist mit jeder Agarose von molekularer Qualität und jedem fluoreszierenden DNA-Farbstoff (z. B. SeeGreen™) kompatibel.
 - Die benötigte Gelmenge hängt von dem von Ihnen verwendeten Gelelektrophorese-System ab. Beachten Sie die Anweisungen des Herstellers.

Wenn Sie Gelelektrophorese-Reagenzien für das blueGel verwenden, können die Gele bis zu fünf Tage im Voraus vorbereitet werden. Lagern Sie die vorbereiteten Gele bei Raumtemperatur in einem luftdichten, lichtgeschützten Behälter. Weichen Sie die Gele NICHT in Puffer ein und wickeln Sie sie NICHT in Papiertücher ein.

Einrichtung eines Arbeitsplatzes

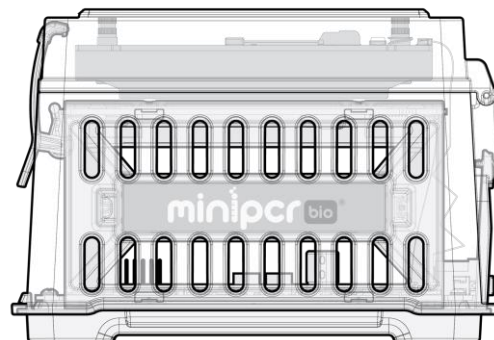
Teil 1: PCR

Jede Gruppe sollte haben:

2X EZ PCR Master-Mix, Load-Ready™	75 µl
Primer-Mischung	50 µl
DNA-Proben • Verdächtigen-DNA A • Verdächtigen-DNA B • Kontroll-DNA H • Kontroll-DNA D	je 10 µl
PCR-Gefäße (0,2 ml)	4
2-20 µl-Mikropipette und Spitzen	
Platz in einem Thermocycler für 4 Proben	

Bei Verwendung von miniPCR-Thermocyclern:

- Die Gruppen benötigen Zugang zu einem miniPCR-Thermocycler und einer Stromversorgung.
- Laden Sie die miniPCR-App aus dem App Store herunter.
- Die Maschinen können im Voraus von der Lehrkraft oder während des Unterrichts von den Lernenden programmiert werden.
- Wenn Sie die Reaktion während des Laufs in Echtzeit überwachen möchten, müssen die Gruppen ihren miniPCR-Thermocycler mit einem Computer oder einem kompatiblen Telefon oder Tablet verbunden bleiben, auf dem die App läuft.



Teil 2: Gelelektrophorese

Jede Gruppe sollte haben:

PCR-Proben aus der vorherigen PCR	30 µl pro Stück
DNA-Leiter 2	15 µl
Elektrophorese-Puffer Das Volumen hängt von Ihrem Elektrophorese-System ab	30 ml TBE bei Verwendung eines blueGel
2-20 µl-Mikropipette und Pipettenspitzen	
5 Vertiefungen in einem 2%igen Agarosegel mit fluoreszierender DNA-Färbung	



Leitfaden für Lernende

Hintergrundinformationen
Der Versuch
Versuchsprotokoll für Lernende
Fragen nach dem Versuch
Zusatzaufgaben zu CFTR und Mukoviszidose

Hintergrundinformationen

Missy Baker ist verschwunden! Zwei rivalisierende Bäcker, Alan Torte und Brenda Biscotti, werden verdächtigt etwas mit dem Verschwinden zu tun zu haben. Haarproben, die aus dem Auto der beiden Verdächtigen entnommen wurden, könnten mit dem Haar von Missy Baker übereinstimmen. Sie müssen mithilfe der DNA-Analyse helfen sie zu finden!

DNA als kriminaltechnisches Hilfsmittel

In praktisch jeder Zelle Ihres Körpers befindet sich eine Kopie Ihrer DNA. Diese DNA ist einzigartig für Sie. Wo immer Sie hingehen, lassen Sie etwas von dieser DNA zurück. In den Haaren, die ausfallen, sind einige Zellen, die der Haarwurzel anhaften. Wenn man etwas anfasst, hinterlässt man einige Hautzellen. Wenn wir feststellen müssen, ob eine Person an einem bestimmten Ort war, zum Beispiel an einem Tatort, können wir nach der DNA suchen, die sie hinterlassen hat.

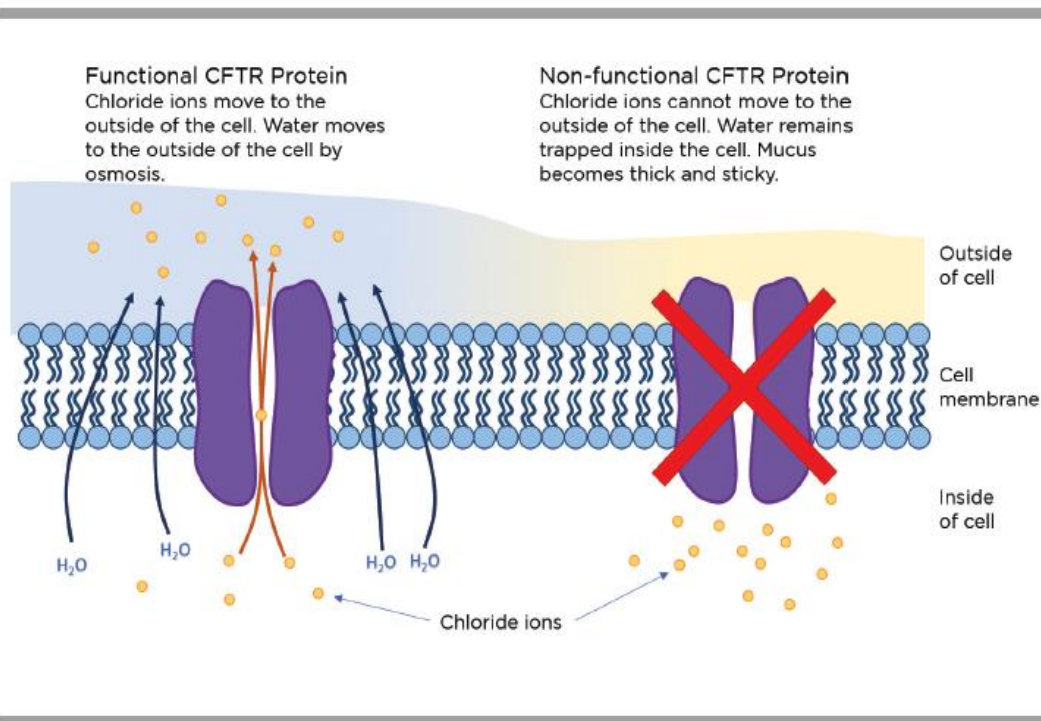
Im Fall von Missy Baker gibt es zwei Verdächtige, und Sie werden die DNA von Haarfollikeln testen, die im Auto der beiden Verdächtigen gefunden wurden, um zu sehen, ob einer von ihnen mit der DNA von Missy Baker übereinstimmt. Wir werden diese Haarproben analysieren und nach einer Übereinstimmung mit etwas suchen, das die DNA von Missy Baker einzigartig macht.

Missy Baker hat Mukoviszidose, die durch eine Deletionsmutation in ihrem CFTR-Gen verursacht wird. Mithilfe von DNA-Analysen zum Nachweis dieser seltenen Mutation werden wir experimentell prüfen, ob die im Auto eines der Verdächtigen gefundenen Haarproben der vermissten Bäckerin gehören könnten.

Wenn die Polizei DNA zur Identifizierung eines Verdächtigen einsetzt, muss sie eine Technik verwenden, mit der sie jede Person identifizieren kann, unabhängig davon, ob sie etwas über sie weiß. Aus diesem Grund verwenden die Strafverfolgungsbehörden eine umfassendere Form der genetischen Analyse, die oft als **DNA-Fingerabdruck** bezeichnet wird. Anstatt sich auf seltene genetische Mutationen zu konzentrieren, werden beim DNA-Fingerabdruck viele Stellen in unserer DNA untersucht, von denen bekannt ist, dass sie bei den meisten Personen variieren, und nach einer Übereinstimmung gesucht.

Das CFTR-Gen (cystic fibrosis transmembrane regulator)

Mukoviszidose ist eine Krankheit, von der Zehntausende von Menschen in den Vereinigten Staaten betroffen sind und die zu vielen verschiedenen Problemen im Körper führen kann. (In Deutschland sind etwa 8000 Menschen betroffen.) Vor allem leiden Menschen mit Mukoviszidose an wiederkehrenden Lungeninfektionen. Aufgrund dieser Komplikationen haben Menschen mit Mukoviszidose eine verkürzte Lebenserwartung und werden in der Regel nur bis zum Alter von 30 oder 40 Jahren alt.



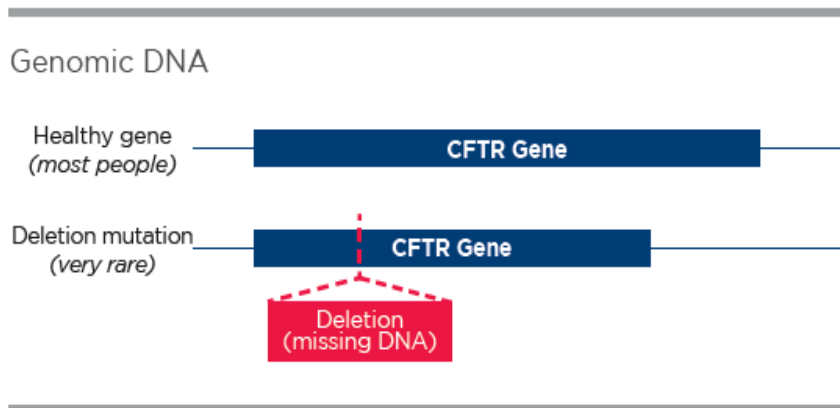
Alle Probleme, mit denen Menschen mit Mukoviszidose konfrontiert sind, lassen sich auf Mutationen in einem einzigen Gen zurückführen, das an der Bewegung von Molekülen in und aus den Zellen beteiligt ist. Das Gen heißt CFTR (cystic fibrosis transmembrane regulator) und kodiert für ein Protein, das in die Zellmembranen eingebaut wird. In allen Zellen Ihres Körpers gibt es ähnliche Proteine, die dabei helfen, wichtige Moleküle durch die Zellmembranen zu bewegen. Einige dieser Proteine arbeiten wie Pumpen, die Moleküle aktiv bewegen; andere arbeiten wie Kanäle, die bestimmten Molekülen einen Durchgang durch die Membran ermöglichen. Je nach Protein können sie Nahrungsmoleküle in die Zelle transportieren, Abfallstoffe aus der Zelle befördern, elektrische Signale übertragen oder an einer Vielzahl anderer Prozesse teilnehmen. Das CFTR-Protein ermöglicht es Chloridionen innerhalb der Zelle, sich durch die Zellmembran nach draußen zu bewegen.

Normalerweise wird das CFTR-Protein in spezialisierten Zellen der Atemwege und an anderen Stellen des Körpers produziert, die Schleim erzeugen. Wir denken bei Schleim oft an etwas, das wir bekommen, wenn wir krank sind, aber in Wirklichkeit wird Schleim die ganze Zeit über produziert, um die Oberflächen im Körperinneren feucht zu halten. Wenn das CFTR-Protein normal funktioniert, wandern Chloridionen durch das CFTR-Protein aus der Zelle heraus. Aufgrund der erhöhten Anzahl von Ionen auf der Außenseite der Zelle fließt Wasser durch die Zellmembran und durch Osmose aus der Zelle heraus. Dies führt zur Bildung von feuchtem und gut hydriertem

Schleim außerhalb der Zelle. Wenn das CFTR-Protein nicht funktioniert, sind die Chloridionen in der Zelle gefangen und das Wasser kann nicht aus der Zelle in den Schleim fließen.

Wenn kein Wasser in den extrazellulären Raum fließt, wird der Schleim, der bei gesunden Menschen normalerweise dünn und wässrig ist, dick und klebrig. Die zähen Sekrete können vom Körper nur schwer ausgeschieden werden und verstopfen die Organe, so dass sie nicht mehr richtig funktionieren. In der Lunge und den Atemwegen kann dieser zähe, klebrige Schleim die Atemwege verstopfen und zu regelmäßigen und hartnäckigen Infektionen führen. Komplikationen der Atemwege aufgrund von Mukoviszidose können tödlich sein.

Es sind über 1 500 verschiedene Mutationen bekannt, die zu einem nicht funktionsfähigen CFTR-Protein und zu Mukoviszidose führen können, aber die häufigste Mukoviszidose-Mutation ist eine Deletion. Eine Deletion liegt vor, wenn ein Teil der normalen DNA-Sequenz fehlt. Je nachdem, was in der DNA-Sequenz fehlt, können Deletionen zu fehlerhaft produzierten Proteinen führen oder die Produktion des Proteins gänzlich verhindern.



Mukoviszidose gilt als rezessive Erkrankung. Das bedeutet, dass eine Person zwei Kopien eines nicht funktionsfähigen CFTR-Gens haben muss, um an Mukoviszidose zu erkranken. Eine Person mit nur einem nicht funktionsfähigen CFTR-Gen ist im Allgemeinen gesund. Denn mit nur einer Kopie eines funktionalen CFTR-Gens wird genügend normales CFTR-Protein gebildet, damit die Zellen richtig funktionieren.

PCR-Analyse des CFTR-Gens

Deletionen können mittels PCR (Polymerase-Kettenreaktion) nachgewiesen werden. Bei der PCR machen wir Milliarden von Kopien von sehr spezifischen DNA-Stücken, wie einem Abschnitt des CFTR-Gens. PCR-Primer, die sich über die Region erstrecken, die die Deletion enthalten kann oder auch nicht, führen zu PCR-Produkten mit unterschiedlicher Länge. In diesem Fall ist ein PCR-Produkt von einem gesunden Gen in voller Länge länger als ein PCR-Produkt von einem Gen, das eine Deletion aufweist.

Der Versuch

Für diesen Versuch erhalten Sie DNA-Proben, die an den beiden möglichen Tatorten gesammelt wurden. Probe A ist eine DNA-Probe, die aus einem Haarfollikel isoliert wurde, das im Auto von Alan Torte gefunden wurde. Probe B ist eine DNA-Probe, die aus einem Haarfollikel isoliert wurde, der in Brenda Biscottis Auto gefunden wurde. Sie werden jede DNA-Probe testen um festzustellen, ob sie von einer Person mit einer Deletion im Mukoviszidose-Gen wie Missy Baker stammt. Außerdem erhalten Sie eine DNA-Probe von einer gesunden Person und eine DNA-Probe von einer Person mit der CFTR-Deletionsmutation, die als Kontrollen dienen.

Ihre Aufgabe ist es, eine PCR mit jeder Probe durchzuführen und die Ergebnisse auf einem Agarose-Elektrophoresegel zu visualisieren. Anhand der Größe der DNA-Produkte der einzelnen Proben können Sie feststellen, welche Probe, wenn überhaupt, von Missy Baker stammen könnte!

Versuchsprotokoll für Lernende

Pipettieren der PCR-Proben

1. Nummerieren Sie vier PCR-Gefäße A, B, H, D. Beschriften Sie auf der oberen Seitenwand des Gefäßes.
2. Pipettieren Sie die PCR-Reagenzien gemäß der nachstehenden Tabelle in die beschrifteten Gefäße. Um Kontaminationen zu vermeiden, verwenden Sie für jede Zugabe eine neue Spitze.

	Röhrchen A	Röhrchen B	Röhrchen H	Röhrchen D
2X EZ PCR Master Mix	15 µl	15 µl	15 µl	15 µl
3X Primer-Mix	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl
DNA-Probe	Verdächtiger A 5 µl	Verdächtiger B 5 µl	Kontrolle H 5 µl	Kontrolle D 5 µl

3. Schließen Sie die Kappen auf den Röhrchen. Wenn sie richtig geschlossen sind, sollten Sie spüren, wie die Kappen einrasten.
4. Schütteln Sie jedes Röhrchen, um den Inhalt zu mischen. Falls vorhanden, kann ein Vortex-Mixer verwendet werden.
5. Vergewissern Sie sich, dass sich die gesamte Flüssigkeit am Boden des Röhrchens befindet. Wenn Flüssigkeit an den Seiten der Röhrchen klebt, schütteln Sie sie mit einer Handbewegung oder mikrozentrifugieren Sie kurz.

PCR durchführen

- Programmieren Sie Ihren Thermocycler mit den folgenden Parametern:
 Denaturierung zu Beginn 94°C, 30 Sekunden
 Denaturierung 94°C, 5 Sekunden
 Annealing 57°C, 5 Sekunden
 Extension 72°C, 8 Sekunden
 Anzahl der Zyklen 30
 Extension am Schluss 72°C, 30 Sekunden
- Die PCR dauert etwa 35 Minuten, wenn ein miniPCR® Thermocycler verwendet wird.
- Das PCR-Produkt ist bei Raumtemperatur mehrere Tage lang stabil. Für eine längerfristige Lagerung sollten die Röhrchen in den Gefrierschrank gestellt werden.

New PCR protocol

Group 1 - Crime Lab


Heated lid

Initial denaturation	Denaturation	Annealing	Extension	Final extension
94 °C	94 °C	57 °C	72 °C	72 °C
30 s	5 s	5 s	8 s	30 s

Number of cycles
30

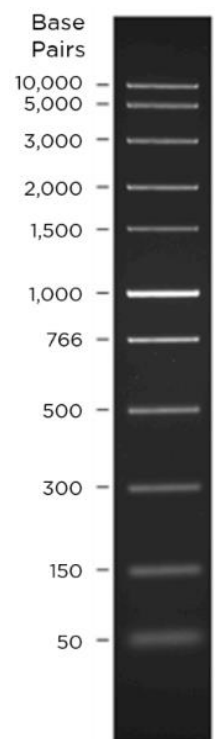
Save

Save and run

Gelelektrophorese

Dieses Labor ist mit jedem horizontalen Gelelektrophorese-System kompatibel. Beachten Sie die Anweisungen des Herstellers für den Betrieb Ihres Gelelektrophorese-Systems.

1. Legen Sie das vorbereitete Gel in die Elektrophoresekammer.
2. Geben Sie genügend Elektrophoresepuffer hinzu, um die Kammer zu füllen und das Gel gerade zu bedecken.
 - Sie benötigen 30 ml TBE-Puffer für ein blueGel™-Elektrophorese-System. Füllen Sie die Kammer nicht zu voll. Der Puffer soll das Gel gerade bedecken.
 - Wenn Sie ein anderes Elektrophorese-System verwenden, entnehmen Sie den empfohlenen Puffertyp und das empfohlene Volumen den Anweisungen des Herstellers.
3. Verwenden Sie eine Mikropipette, um die Proben in der folgenden Reihenfolge zu laden. Um Kontaminationen zu vermeiden, verwenden Sie für jede Probe eine neue Spitze.
 - Spur 1: 10 µl DNA-Leiter 2
 - Spur 2: 10 µl PCR-Produkt des Verdächtigen A
 - Spur 3: 10 µl PCR-Produkt des Verdächtigen B
 - Spur 4: 10 µl PCR-Produkt der Kontrolle H
 - Spur 5: 10 µl PCR-Produkt der Kontrolle D
4. Lassen Sie das Gel 20-25 Minuten lang laufen.
 - Das blueGel™-Elektrophorese-Systeme arbeitet mit einer festen Spannung.
 - Wenn Sie ein anderes Gelelektrophorese-System verwenden, stellen Sie die Spannung im Bereich von 70-90 V ein.
5. Visualisieren Sie die DNA-Proben mit einem Transilluminator.
 - Das blueGel™ Elektrophorese-System verfügt bereits über einen integrierten Blaulicht-Transilluminator.
6. Falls erforderlich, lassen Sie das Gel so lange laufen, bis eine ausreichende Trennung zwischen den 300-1.000 bp Banden in der Leiter vorhanden ist, um die Ergebnisse zu interpretieren.
7. Falls gewünscht, machen Sie ein Foto, um die Ergebnisse der Gelelektrophorese zu dokumentieren.
8. Vergleichen Sie die Banden der DNA-Proben mit der DNA-Leiter, um Größenschätzungen zu erhalten.



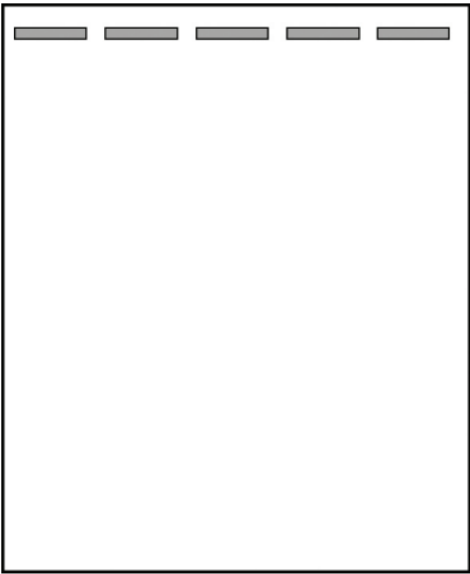
Fragen vor dem Versuch

1. Was sind mindestens zwei Gründe, warum eine DNA-Analyse eine gute Möglichkeit zur Identifizierung einer Person sein kann?
2. Erläutern Sie in Ihren eigenen Worten, was eine Deletionsmutation ist.
3. Wie kann die PCR zum Nachweis einer Deletionsmutation beitragen?
4. Welche Rolle spielt das CFTR-Protein bei einem gesunden Menschen?
5. Wie wirkt sich ein nicht funktionierender CFTR-Kanal auf die Schleimproduktion aus?
6. Glauben Sie, dass ein Test nur auf das CFTR-Gen normalerweise eine gute Methode ist, um die meisten Menschen zu identifizieren? Wenn Sie mit „Ja“ geantwortet haben, erklären Sie, warum Sie glauben, dass dies eine gute Methode zur Identifizierung von Menschen ist. Wenn Sie mit "Nein" geantwortet haben, erklären Sie, was es uns ermöglicht, diese Methode im Fall von Missy Baker anzuwenden.
7. Missy Baker hat Mukoviszidose, aber sowohl ihre Eltern als auch ihre beiden Geschwister sind alle gesund. Können Sie, da Sie wissen, dass Mukoviszidose eine rezessive Erkrankung ist, ein Punnett-Quadrat ausfüllen, das zeigt, wie Missy Baker ihre Krankheit geerbt hat?

Fragen nach dem Versuch

Interpretation der Ergebnisse

1. Sie für jede Probe die Banden ein, die Sie auf Ihrem Gel sehen.



2. Schreiben Sie neben jede Bande, wie lang (in Basenpaaren) die DNA in dieser Bande ungefähr ist. Nehmen Sie die Abbildung der DNA-Leiter zur Hilfe.
3. Verwenden Sie Ihre Gelelektrophoreseergebnisse, um die folgende Tabelle zu vervollständigen.

	Verdächtiger A	Verdächtiger B	Kontrolle H	Kontrolle D
Normales <i>CFTR</i> (700 bp)				
Mutiertes <i>CFTR</i> (400 bp)				
Genotyp				

4. Deuten die Beweise auf Verdächtigen A oder B hin? Begründen Sie Ihre Antwort.

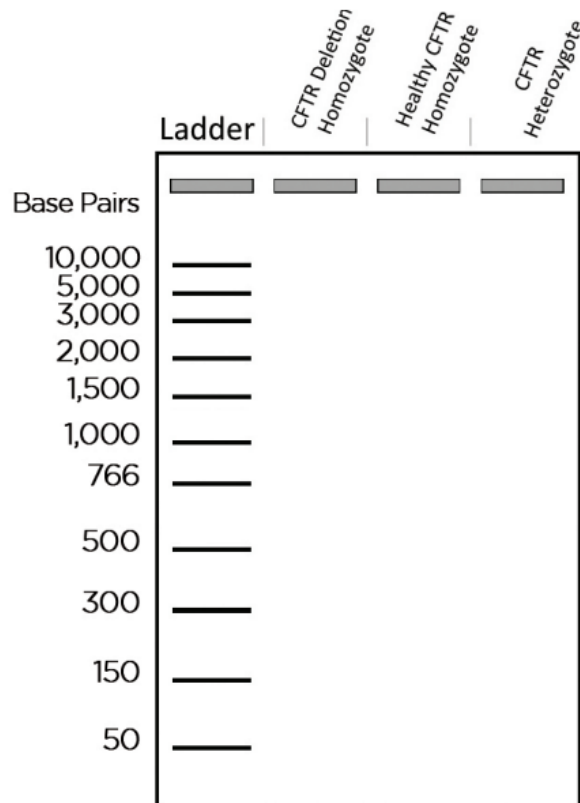
5. Zwei der Proben, die Sie in dieser Aktivität verwendet haben, wurden als Kontrollen gekennzeichnet. Erläutern Sie, was die jeweilige Probe aussagt und warum es wichtig war, sie in das Experiment einzubeziehen:

Röhrchen H:

Röhrchen D:

Kritisches Denken

6. Können Sie sagen, ob Missy Baker eine Homozygote oder Heterozygote für die CFTR-Mutation war? Erklären Sie, warum Sie das glauben.
7. Veranschaulichen Sie anhand von Zeichnungen eines Gels, wie die Ergebnisse dieses Experiments Ihrer Meinung nach bei einer Homozygoten und einer Heterozygoten aussehen würden.



8. Die in diesem Versuch untersuchte Mutation war eine Deletionsmutation. Eine andere Klasse von Mutationen im CFTR-Gen, die Mukoviszidose verursachen können, sind so genannte Substitutionsmutationen. Bei einer Substitutionsmutation sind ein oder mehrere Nukleotide in der DNA-Sequenz verändert, aber die Gesamtlänge des Gens ändert sich nicht. Wären Sie in der Lage, eine Substitutionsmutation mit Hilfe von PCR und Gelelektrophorese nachzuweisen, wie wir es in dieser Aktivität getan haben? Erklären Sie, warum Sie dies glauben.
-

Zusatzaufgaben zu CFTR und Mukoviszidose

Die CFTR-Mutation

Mukoviszidose ist eine Erbkrankheit, die durch Mutationen im CFTR-Gen verursacht wird. CFTR ist ein Protein, das aus 1.480 Aminosäuren besteht, aber eine Veränderung an nur einer Aminosäure kann dazu führen, dass das Protein nicht mehr funktioniert oder gar nicht mehr produziert wird. Unten sehen Sie einen Abschnitt der DNA-Sequenz des CFTR-Gens. Die hier aufgeführten 180 Nukleotide stammen aus einem mittleren Abschnitt des Gens und kodieren für 60 Aminosäuren, nämlich die Aminosäuren 501-560. Der obere Strang stellt den kodierenden Strang dar und ist in der Richtung 5' → 3' geschrieben. Der untere Strang stellt den Matrizenstrang dar und ist in der Richtung 3' → 5' geschrieben.

```
5' ACCATTAAAGAAAATATCATCTTGGTGTTTCCTATGATGAATATAGATACAGAAGCGTC 60
   . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . |
3' TGGTAATTTCTTTTATAGTAGAAACACAAAGGATACTACTTATATCTATGTCTTCGCAG

5' ATCAAAGCATGCCAACTAGAAGAGGACATCTCCAAGTTTGCAGAGAAAGACAATATAGTT 120
   . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . |
3' TAGTTTCGTACGGTTGATCTTCTCCTGTAGAGGTTCAAACGTCTCTTTCTGTTATAATCAA

5' CTTGGAGAAGGTGGAATCACACTGAGTGGAGCTCAACGAGCAAGAATTTCTTTAGCAAGA 180
   . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . | . . . . . |
3' GAACCTCTTCCACCTTAGTGTGACTCACCTCCAGTTGCTCGTTCTTAAAGAAATCGTTCT
```

Oben sind die Orte von drei der über 1.500 verschiedenen Mutationen, die bekanntermaßen Mukoviszidose verursachen, markiert. Sie werden sich jede einzelne davon ansehen. Diese drei Stellen sind zufällig die Stellen der drei häufigsten Mutationen, die Mukoviszidose verursachen.

1. Transkribieren Sie die ersten 30 Nukleotide der DNA-Sequenz in mRNA. Um Ihnen zu helfen, haben wir die ersten 30 Nukleotide des Vorlagenstrangs nachstehend für Sie aufgeschrieben. Der Einfachheit halber wurden sie bereits in Codons aufgeteilt.

```
DNA : 3' TGG TAA TTT CTT TTA TAG TAG GAA CCA CAA 5'
RNA : _ _ _ _ _
```

2. Verwenden Sie eine mRNA-Codon-Tabelle, um diesen Teil der mRNA in eine Aminosäuresequenz zu übersetzen. Sie können die Ein-Buchstaben-Abkürzungen für Aminosäuren verwenden. Denken Sie daran, dass diese Sequenz aus der Mitte eines Gens stammt und es daher keinen Startcodon gibt.

AA seq : _ _ _ _ _

3. Die als $\Delta F508$ bekannte Mutation ist eine Deletionsmutation. Bei $\Delta F508$ werden die CTT an den Positionen 21-23 der DNA-Sequenz (gelb hervorgehoben und mit * markiert) aus der DNA entfernt. Die neue Sequenz ist unten geschrieben worden. Transkribieren und übersetzen Sie diese neue DNA-Sequenz.

DNA : 3' TGG TAA TTT CTT TTA TAG TAA CCA CAA 5'

RNA : --- --- --- --- --- --- --- --- ---

AA seq : _____

4. Welche Änderung trat in der Aminosäuresequenz auf?
5. Die erste Aminosäure, die Sie übersetzt haben, entspricht der Aminosäure 501 des CFTR-Proteins. Welche Aminosäure ist von der Mutation betroffen, die Sie gerade vorgenommen haben?

6. Transkribieren Sie nun die Nukleotide 121-156 in mRNA. Verwenden Sie dann Ihre mRNA-Codon-Tabelle, um diesen Teil der mRNA in eine Aminosäuresequenz zu übersetzen. Sie können die Ein-Buchstaben-Abkürzungen für Aminosäuren verwenden. Denken Sie daran, dass diese Sequenz aus der Mitte eines Gens stammt, es gibt also kein Startcodon.

DNA : 3' GAA **C**CT CTT CCA CCT TAG TGT GAC TCA CCT **CA** GTT 5'

RNA : --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---

AA seq : _____

7. Eine zweite Mutation mit der Bezeichnung G542X verändert das Cytosin (C) (grün hervorgehoben) in ein Adenin (A). Wie würde sich diese Änderung auf das endgültige Protein auswirken? Denken Sie daran, dass Sie zuerst in mRNA transkribieren und dann Ihre Codontabelle verwenden müssen, um Ihre mRNA-Sequenz in Aminosäuren zu übersetzen.

RNA : --- --- --- --- --- --- --- --- --- --- ---

AA seq : _____

8. Bei der dritten Mutation, bekannt als G551D, wird das Cytosin (C) (blau hervorgehoben) in Position 152 durch ein Thymin (T) ersetzt. Welche Auswirkung hat diese Veränderung auf das

fertige Protein? Verwenden Sie Ihre Codontabelle, um Ihre mRNA-Sequenz in Aminosäuren zu übersetzen.

R N A : _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _
A A S e q : _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _ _

CFTR-Mutationen werden in sechs Klassen eingeteilt. Wir werden uns die ersten drei Klassen ansehen.

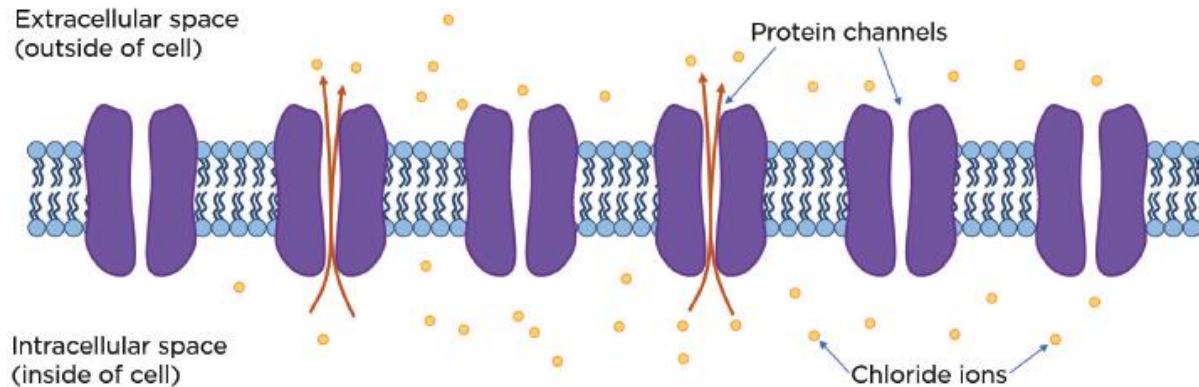
- Mutationen der Klasse I verhindern, dass die Translation ordnungsgemäß abgeschlossen wird, und es wird nie eine vollständige Aminosäurekette gebildet.
 - Mutationen der Klasse II führen zu einer vollständigen oder fast vollständigen Aminosäurekette, die sich jedoch nicht richtig falten kann, so dass das Protein nie in die Zellmembran eingebaut wird.
 - Mutationen der Klasse III führen zu einem vollständig gebildeten Protein, das in die Zellmembran eingebaut wird, dessen Ionenkanal sich aber nicht richtig öffnet, so dass das Protein nicht mehr funktioniert.
9. Von den drei besprochenen Mutationen ist G542X (gelb hervorgehoben) eine Mutation der Klasse I; $\Delta F508$ (grün hervorgehoben) ist eine Mutation der Klasse II, G551D (blau hervorgehoben) ist eine Mutation der Klasse III. Basierend auf Ihrer Analyse und den bereitgestellten Informationen:
- Fassen Sie zusammen, welche Auswirkungen die einzelnen Mutationen auf die Aminosäuresequenz haben.
 - Erläutern Sie dann, wie diese Veränderung dazu führen könnte, dass das Protein als Mutation der Klasse I, II oder III eingestuft wird.

G542X:

$\Delta F508$:

G551D:

Das CFTR-Protein ermöglicht den Austritt von Chlorid-Ionen aus der Zelle. Die folgende Abbildung zeigt eine Zellmembran mit sechs normalen CFTR-Proteinkanälen.

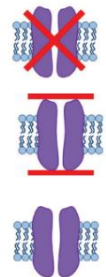


Jeder Mensch hat zwei Kopien des CFTR-Gens, eine auf jeder Kopie von Chromosom 7. Das bedeutet, dass typischerweise die Hälfte der CFTR-Proteine in einer Zelle von einer Kopie des Gens kodiert wird, während die Hälfte der Proteine von der anderen Kopie des Gens kodiert wird. Mukoviszidose gilt als rezessive Erkrankung. Das heißt, wenn eine Person heterozygot für die Krankheit ist, kann das eine funktionsfähige Gen immer noch seinen Anteil am gesunden CFTR-Protein produzieren. Lassen Sie uns untersuchen, was das auf zellulärer Ebene bedeutet.

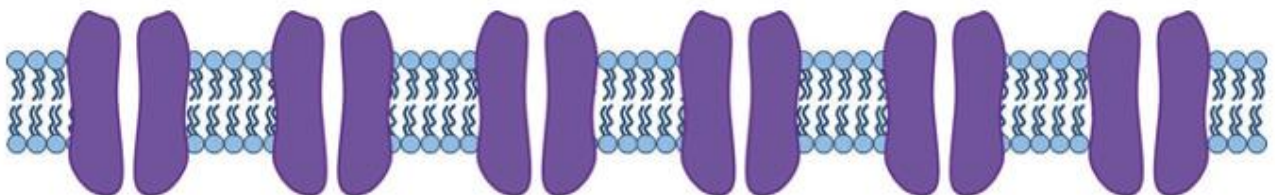
Unten sind Membranen mit CFTR-Proteinen abgebildet. Jede Membran stellt die Zellmembran einer anderen Person dar. Der Genotyp der Person ist links neben der Membran beschrieben.

Für jede der nachstehenden Membranen werden Sie je nach Mutationsklasse folgende Schritte unternehmen:

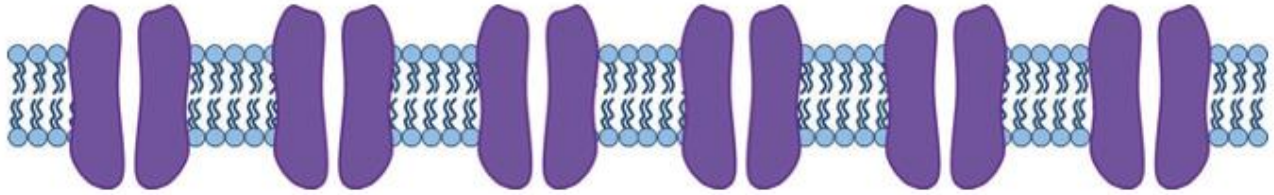
- Kreuzen Sie das Protein mit einem X an, wenn es in der Membran nicht vorhanden sein sollte.
- Zeichnen Sie Linien, die den Kanal blockieren, wenn das Protein zwar vorhanden ist, aber nicht funktioniert.
- Lassen Sie das Protein in Ruhe, wenn es vorhanden und funktionsfähig ist.



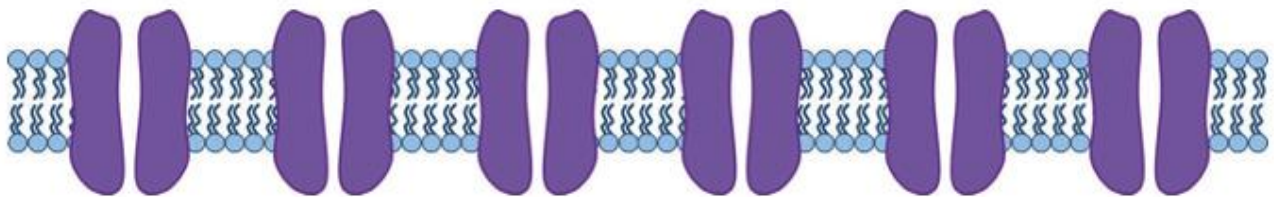
10. Eine Person mit einer $\Delta F508$ -Mutation auf beiden Chromosomen. Markieren Sie die Proteine wie in der Anleitung oben beschrieben. Glauben Sie aufgrund der Markierung der Proteine, dass diese Person Mukoviszidose haben wird?



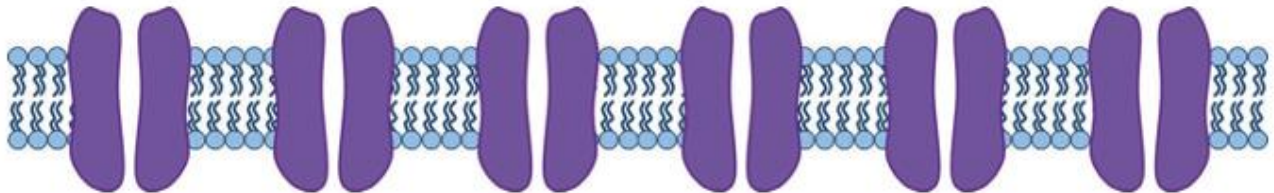
11. Eine Person mit einer $\Delta F508$ -Mutation auf einem Chromosom und einer G551D-Mutation auf dem anderen. Markieren Sie die Proteine wie in der Anleitung oben beschrieben. Glauben Sie aufgrund der Markierung der Proteine, dass diese Person Mukoviszidose haben wird?



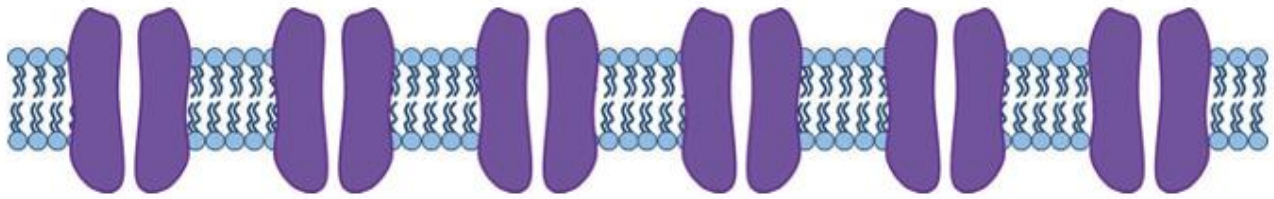
12. Eine Person mit einer G551D-Mutation auf einem Chromosom und keiner Mutation auf dem anderen. Markieren Sie die Proteine wie in der Anleitung oben beschrieben. Glauben Sie aufgrund der Markierung der Proteine, dass diese Person Mukoviszidose haben wird?



13. Eine Person mit einer G542X-Mutation auf einem Chromosom und einer G551D-Mutation auf dem anderen. Markieren Sie die Proteine wie in der Anleitung oben beschrieben. Glauben Sie aufgrund der Markierung der Proteine, dass diese Person Mukoviszidose haben wird?



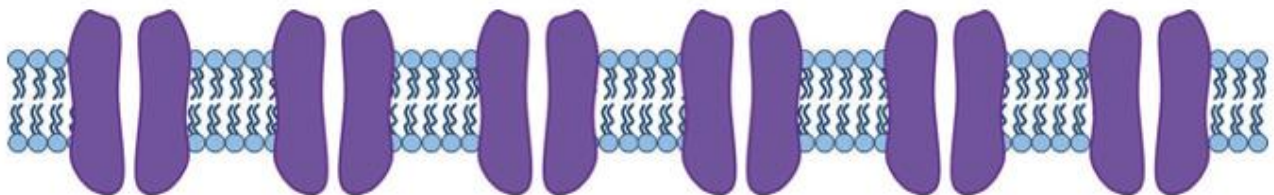
14. Eine Person mit einer G542X-Mutation auf einem Chromosom und keiner Mutation auf dem anderen. Markieren Sie die Proteine wie in der Anleitung oben beschrieben. Glauben Sie aufgrund der Markierung der Proteine, dass diese Person Mukoviszidose haben wird?



15. Mukoviszidose ist eine rezessive Erkrankung. Ist es richtig, alle Menschen mit Mukoviszidose als Homozygote zu bezeichnen? Begründen Sie Ihre Antwort.

16. Ein häufiges und manchmal tödliches Symptom der Mukoviszidose sind anhaltende Lungeninfektionen. Dies liegt daran, dass die Mutation dazu führt, dass der Schleim in der Lunge klebrig und zähflüssiger (weniger wässrig) wird. Erklären Sie in Ihren eigenen Worten, wie eine Mutation im CFTR-Gen zu klebrigem Schleim in der Lunge führt.

17. Einige Personen, die ein normales Allel für CFTR und ein Allel mit einer Mutation haben, zeigen leichte Symptome von Mukoviszidose, obwohl sie im Allgemeinen gesund sind. Erläutern Sie anhand des folgenden Diagramms, warum das so sein könnte. Beziehen Sie die Bewegung von Chloridionen und Wasser in Ihre Antwort ein. Erläutern Sie Ihre Zeichnung in dem dafür vorgesehenen Feld.



18. Welches der obigen Diagramme (Nr. 11-15) entspricht am ehesten dem, was man in Missy Bakers Zellmembranen finden würde? Erklären Sie, warum Sie das glauben.

Amino acid codon table

		Second Position Nucleotide									
		U		C		A		G			
First Position Nucleotide	U	UUU	Phenylalanine (Phe, F)	UCU	Serine (Ser, S)	UAU	Tyrosine (Tyr, Y)	UGU	Cysteine (Cys, C)	U	
		UUC		UCC		UAC		UGC <th>C</th>		C	
		UUA	Leucine (Leu, L)	UCA		UAA	STOP	UGA	STOP	A	
		UUG		UCG		UAG		UGG	Tryptophan (Trp, W)	G	
	C	CUU	Leucine (Leu, L)	CCU	Proline (Pro, P)	CAU	Histidine (His, H)	CGU	Arginine (Arg, R)	U	
		CUC		CCC		CAC		CGC <th>C</th>		C	
		CUA		CCA		CAA	Glutamine (Gln, Q)	CGA		A	
		CUG		CCG		CAG		CGG		G	
	A	AUU	Isoleucine (Ile, I)	ACU	Threonine (Thr, T)	AAU	Asparagine (Asn, N)	AGU	Serine (Ser, S)	U	
		AUC		ACC		AAC		AGC <th>C</th>		C	
		AUA		ACA		AAA	Lysine (Lys, K)	AGA	Arginine (Arg, R)	A	
		AUG	Methionine (Met, M) START	ACG		AAG		AGG		G	
	G	GUU	Valine (Val, V)	GCU	Alanine (Ala, A)	GAU	Aspartic Acid (Asp, D)	GGU	Glycine (Gly, G)	U	
		GUC		GCC		GAC		GGC <th>C</th>		C	
		GUA		GCA		GAA	Glutamic Acid (Glu, E)	GGA		A	
		GUG		GCG		GAG		GGG		G	
		Third Position Nucleotide									

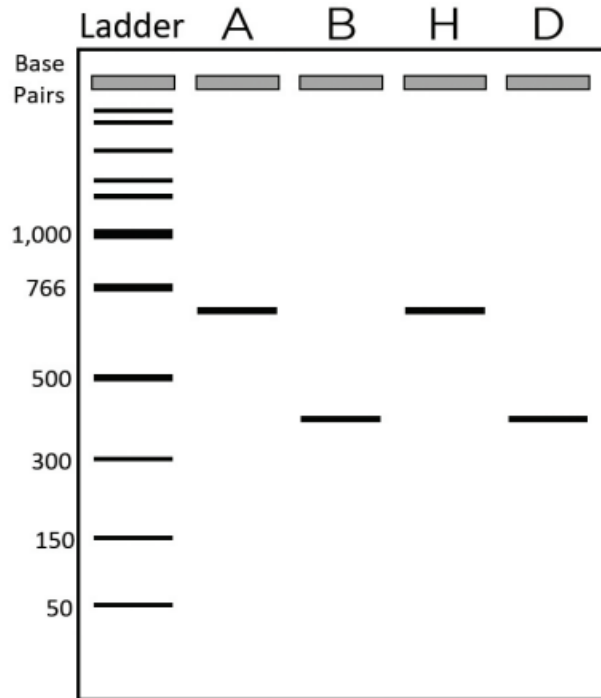


Leitfaden für Lehrkräfte

Erwartete Ergebnisse
Troubleshooting
Hinweise zur Versuchsdurchführung
Zusatzaufgaben
Lernziele und entwickelte Fähigkeiten

Erwartete Ergebnisse

Die Ergebnisse der Gelelektrophorese sollten dieser Zeichnung ähneln:



Diese Zeichnung stellt einen 20-minütigen Lauf mit einem blueGel dar. Beachten Sie, dass die Spitze der DNA-Leiter bei einem kurzen Gellauf wahrscheinlich nicht vollständig getrennt wird, aber das ist in Ordnung! Sie müssen die Leiter nur im Bereich von 300-766 bp trennen, um die experimentellen Ergebnisse interpretieren zu können.

Ergebnisse und Interpretation

	Verdächtiger A	Verdächtiger B	Kontrolle H	Kontrolle D
Normales CFTR (700 bp)	✓		✓	
Mutiertes CFTR (400 bp)		✓		✓
Genotyp	FF	ff	FF	ff

- Da wir wissen, dass Missy Baker eine Deletion in ihrem CFTR-Gen hat, erwarten wir, dass die DNA von Missy Baker eine 400-Bp-Bande aufweist.
- Die Probe aus dem Auto des Verdächtigen B könnte zu Missy Baker gehören.

Troubleshooting

Wenn die fluoreszierenden DNA-Banden in einer oder mehreren Versuchsproben schwach oder gar nicht vorhanden sind, kann Folgendes passiert sein:

- Zu viel Gewebe: Die häufigste Fehlerquelle bei diesem Protokoll ist die DNA-Extraktion. Wiederholen Sie die DNA-Extraktion und achten Sie darauf, dass die Lernenden ihre Wangen nur leicht abkratzen, da zu viel DNA die PCR hemmen kann.
- Suboptimale PCR-Amplifikation: Pipettierfehler beim PCR-Setup können zu einer suboptimalen Amplifikation für einzelne Proben der Lernenden führen.
- Die DNA-Proben können nicht auf das Gel geladen werden: Das Laden der DNA-Proben für die Gelelektrophorese erfordert ein wenig Übung. Die Banden erscheinen schwach, wenn die Lernenden nicht die gesamte Probenmenge in die Vertiefungen einbringen.

Wenn auf dem Gel keine fluoreszierenden DNA-Banden zu sehen sind, auch nicht für die DNA-Leiter, kann Folgendes passiert sein:

- Fehlende Verwendung einer fluoreszierenden DNA-Färbung: Dieses Labor erfordert Agarosegele, die mit einem fluoreszierenden DNA-Farbstoff (z. B. SeeGreen™) hergestellt wurden. DNA-Färbemittel, die DNA mit einer sichtbaren blauen Verbindung sichtbar machen, sind weniger empfindlich und mit diesem Kit nicht kompatibel.
- Falsche Visualisierungsbedingungen: Fluoreszierende DNA-Färbungen (z. B. SeeGreen™) müssen mit einem Blaulicht- oder UV-Transilluminator betrachtet werden. Das blueGel System verfügt über einen integrierten Blaulichttransilluminator. Vergewissern Sie sich, dass Sie für die DNA-Visualisierung das blaue Licht des blueGel-Systems durch Drücken der Glühbirnen-Taste eingeschaltet haben.
- Die Proben sind aus dem Gel herausgelaufen: Wenn Sie das Gel zu lange laufen lassen, können die DNA-Proben vom Gel abwandern. Überwachen Sie den Fortschritt, indem Sie die DNA-Proben gelegentlich unter einem Transilluminator überprüfen oder den Ladefarbstoff verfolgen, der mit dem Auge sichtbar ist. Beenden Sie den Lauf, bevor der farbige Ladefarbstoff das Ende des Gels erreicht.
- Die Reagenzien wurden unsachgemäß gelagert und/oder sind abgelaufen: Der Kit kann bis zu zwölf Monate nach Erhalt im Gefrierschrank aufbewahrt werden. Eine Lagerung unter anderen Bedingungen oder über diesen Richtwert hinaus kann die Leistung beeinträchtigen.

Hinweise zur Versuchsdurchführung

Dieser Versuch dient als Einführung in DNA-Tests und genetische Krankheiten am Beispiel des CFTR-Gens und der Mukoviszidose. Wir glauben, dass dieser Ansatz das richtige Gleichgewicht zwischen intellektuellem Engagement, Untersuchung und Zugänglichkeit bietet. Um diese Ziele zu erreichen, wurden bei der Konzeption dieses Labors bestimmte Elemente vereinfacht. Einige dieser Elemente sind:

- In diesem Labor wird vorbereitete DNA-Vorlage verwendet, um menschliche genomische DNA zu simulieren.
- Das häufigste Mukoviszidose-Allel beinhaltet eine Deletion von drei Basenpaaren. Eine solche Deletion wäre zwar mit PCR nachweisbar, würde aber empfindlichere Elektrophoreseverfahren erfordern, als sie in einem typischen Klassenzimmer zur Verfügung stehen. Wir haben einen Längenunterschied von etwa 300 Basenpaaren zwischen den PCR-Fragmenten verwendet, um ein robusteres und leichter zu erkennendes Ergebnis zu erhalten.
- Während dieses Labor eine forensische Ermittlungsgeschichte verwendet, um es fesselnd zu machen, beruht die forensische DNA-Analyse auf der Analyse von Bereichen des Genoms, die polymorphe kurze Tandemwiederholungen enthalten.

Zusatzaufgaben

Die folgenden optionalen Zusatzaufgaben bieten den Lernenden die Möglichkeit, die Themen zu vertiefen.

CFTR und zystische Fibrose: Missy Baker hat die Erbkrankheit Mukoviszidose. Erforschen Sie den Zusammenhang zwischen genetischer Mutation und Krankheit in dieser Aktivität. Die Lernenden müssen wissen, wie man mRNA-Sequenzen von der DNA transkribiert und wie man mRNA-Sequenzen mithilfe einer mRNA-Codon-Tabelle übersetzt. Eine mRNA-Codon-Tabelle wird zur Verfügung gestellt.

Lernziele und entwickelte Fähigkeiten

Lernziele für Lernende

- Korrelieren Sie Genotyp und Phänotyp
- Erkennen, wie die Aminosäurezusammensetzung die Proteinfunktion beeinflusst
- Zusammenhang zwischen Veränderungen in der DNA- und Aminosäuresequenz und menschlichen Krankheiten
- Lösen Sie reale Probleme mit Hilfe der genetischen Analyse
- die Grundsätze und die Praxis der PCR zu verstehen

Fähigkeiten zur wissenschaftlichen Untersuchung

- Identifizieren oder stellen Sie eine prüfbare Frage
 - Hypothesen formulieren
 - Identifizierung abhängiger und unabhängiger Variablen und geeigneter experimenteller Kontrollen
 - Befolgen Sie detaillierte Versuchsprotokolle
-

- Tabellen oder Diagramme erstellen, um ihre Ergebnisse zu präsentieren
- Daten in einem Diagramm oder einer Tabelle interpretieren
- Daten verwenden, um eine Hypothese zu bewerten
- Eine wissenschaftlich belegte Behauptung aufstellen
- Eine wissenschaftliche Behauptung mit Argumenten begründen

Molekularbiologische Kenntnisse

- Mikropipettieren
 - PCR
 - Agarosegel-Elektrophorese
-