

Experimentelle Gensequenzierung im Unterricht?

Kein Problem im virtuellen Genlabor

Manfred Egerding

Kurzfassung

In nahezu allen Schulen dürfte eine wirklich praktikable Präsentation des Themas Gensequenzierung schon aufgrund der fehlenden Infrastruktur nicht möglich sein. Die nachfolgend vorgeschlagene Unterrichtsreihe zeigt eine anschauliche Möglichkeit auf. Mittels des virtuellen Gensequenzier-Labors ViSeL können SchülerInnen handlungsorientiert an die genannte Thematik herangeführt werden.

1 Einleitung

Würde man den Versuch unternehmen, den im Erbgut des Menschen niedergelegten genetischen Text aus den vier sich aneinanderreihenden Buchstaben A, T, C und G in Form eines Buches zu drucken, dann würde dies einen Umfang von 10.000 Bänden mit jeweils 300 Seiten á 1000 Buchstaben je Seite ergeben. Eine schon ganz ansehnliche Bibliothek also! Würde man zusätzlich den Versuch unternehmen, täglich nur 100 Seiten dieses Gesamtwerkes zu lesen, bräuchte man 30.000 Tage um den kompletten Text durchzulesen (ALSTAEDTER, 1995). Eine Lebensaufgabe, die man erst in ca. 82 Jahren bewältigt hätte. Und am Ende angekommen, wäre in keiner Weise sichergestellt, dass man den gelesenen, genetischen Text auch verstanden hätte.

Der geschilderten Informationsfülle von annähernd 3 Milliarden Basenpaaren im menschlichen Genom widmet sich seit 1990 das gegenwärtig wohl ehrgeizigste Projekt in der Biologie: **das Humangenomprojekt**. Das Ziel dieser Forschungsbemühungen liegt in der Anlage einer *physikalischen Karte* des menschlichen Erbguts auf der Basis einer vollständigen Sequenzierung aller Basenpaare, wozu abschließend alle entschlüsselten DNA-Fragmente aufgrund

ihrer Überlappungen in der einzig möglichen Reihenfolge angeordnet werden sollen.

Mit der dargestellten Unterrichtsreihe soll also ein auch in der öffentlichen Diskussion äußerst aktuelles und brisantes Thema zum Unterrichtsgegenstand gemacht werden und den SchülerInnen den wissenschaftlichen Hintergrund vermitteln.

2 Didaktische Vorüberlegungen

Es bedarf keiner gesonderten Erwähnung, dass in den meisten Schulen erfahrungsgemäß schon allein die technische Infrastruktur fehlt, um eine experimentelle Umsetzung der obigen Thematik durchzuführen. Möglichkeiten zur PCR-Vervielfältigung¹ der DNA, zur Gelelektrophorese nach einer Behandlung mit Restriktionsenzymen und nicht zuletzt zur eigentlichen Gensequenzierung sind i.d.R. nicht vorhanden. Der Vorteil der hier gewählten Methode (virtuelles Genlabor) gegenüber anderen Print-Medien wird gerade in diesem Zusammenhang besonders offensichtlich:

1. Während über die Print-Medien ausschließlich eine kognitiv-theoretische Erarbeitung der Thematik möglich ist, durchlaufen die SchülerInnen im virtuellen Genlabor praktisch alle für dieses Verfahren notwendigen Einzelschritte. Die sich hieraus ergebenden Fragen der SchülerInnen fördern dabei erheblich den Grad der Auseinandersetzung.
2. Durch die Virtualität kann die i.d.R. fehlende technische Infrastruktur erfolgreich kompensiert werden. Dies ermöglicht die Erschließung aktueller Forschungsprojekte für den Unterricht und fördert damit eine wissenschaftspropädeutische Ausbildung an den Schulen.

Darüber hinaus ergibt sich aus der Tatsache, dass die in diesem Zusammenhang durchzuführenden, genetischen Experimente ausnahmslos Reagenzglasexperimente sind. Deren Ergebnis ist als zusätzliche Erschwerung nicht auf Anrieb und mit bloßem Auge sichtbar zu machen, sondern erst nach zum Teil aufwendigen Abbildungsverfahren – ein besondere Problem der Veranschaulichung.

Die Frage nach der *didaktischen Reduktion* und das *Problem der Veranschaulichung* fallen also bei der hier zu Grunde liegenden Thematik zusammen und erfordern zwingend ein übergeordnetes, möglichst konkretes Fallbeispiel,

¹ PCR-Vervielfältigung (engl. polymerase chain reaction) ist eine molekulargenetische Möglichkeit zur Analyse von DNA-Abschnitten.

welches sich sozusagen wie ein „roter Faden“ durch die gesamte Unterrichtsreihe zieht. Zusätzlich würde ein solches Fallbeispiel nicht nur der wiederholten Vergewisserung über den augenblicklichen Standort der Auseinandersetzung dienlich sein, sondern auch ein im vorliegenden Fall anvisiertes *analytisches Unterrichtsverfahren* begünstigen.

Konkret bietet sich im Hinblick auf ein übergeordnetes Fallbeispiel ein **Kriminalfall** an (vgl. EGERDING, 2000), bei dem als einziger Hinweis auf den Täter ein Blutfleck am Tatort sichergestellt werden konnte. Im Verlauf der kriminalistischen Ermittlung werden nachfolgend mehrere potentielle Täter festgenommen, denen die Ermittlungsbehörde jedoch in keinem Fall die Tat eindeutig beweisen kann. Mittels des einzigen, eindeutigen Beweismittels – dem Blutfleck – soll der Fall nun „genetisch“ gelöst und einer der möglichen Täter unzweifelhaft überführt werden.

Anhand eines solchen Fallbeispiels lässt sich im Verlauf der Unterrichtsreihe das gesamte Spektrum der DNA-Analyse mit den dazu erforderlichen molekulargenetischen Fachmethoden darstellen und – wie beabsichtigt – in Ausschnitten auch experimentell umsetzen.

3 Einstieg in die Unterrichtssequenz

Unter Berücksichtigung der genannten Kriterien bietet sich daher ein literarischer Kriminalfall für den **Einstieg in die Unterrichtsreihe** an. Ausgewählt wurde hierzu ein Auszug (Material 1) aus FRIEDRICH DÜRRENMATTS Kriminalroman *Der Richter und sein Henker* (DÜRRENMATT, 1955), der unmittelbar mit der Schilderung eines Mordes an einem Polizisten in die Ermittlungsarbeit des todkranken Kommissars Bärlach einsteigt.

Der Bericht des Polizisten von Twann, Alphons Clenin, schildert einen Leichenfund vom 3. November des Jahres 1948 an der Straße von Lamboing. Zunächst hatte er irrtümlich angenommen, dass der Fahrer eines Mercedes sich nur für ein Nickerchen an den Strassenrand begeben hatte, muss dann jedoch bei Öffnung der Wagentür feststellen, dass die Schläfen des Mannes durchschossen sind. Im Wagen des Opfers bemerkt er ungewöhnlich wenig Blutspuren. Anhand der anschließend in der Manteltasche gefundenen Briefftasche stellt Clenin fest, dass es sich bei dem Toten um den Polizeileutnant der Stadt Bern, Ulrich Schmied, handelt. Weil ihm als Dorfpolizisten ein solch blutiger Fall bisher nie begegnet ist, breitet sich zunächst Ratlosigkeit aus, bis er schließlich das Opfer vom Fahrersitz auf den Beifahrersitz hievt und beide, Opfer und Auto, nach Twann vor das Gasthaus fährt.

Über diesen Bericht hinaus wird den SchülerInnen anschließend in Fortführung der Geschichte fiktiv berichtet, dass bei der näheren Untersuchung der spärlichen Blutflecken im Auto festgestellt wurde, dass ein winziger Blutfleck nicht mit der Blutgruppe des Opfers übereinstimmt und mit hoher Wahrscheinlichkeit vom Täter stammen muss.

Mit der Fragestellung an die SchülerInnen, wie sie mit den heutigen, modernen Methoden der Genetik einen solchen Fall lösen würden, soll zunächst in allgemeiner Form ein Grundraster der DNA-Analyse erarbeitet werden, welches anschließend der fortwährenden Orientierung während der Unterrichtsreihe dienen soll.

Anhand dieses allgemeinen Schemas werden automatisch die zur DNA-Analyse unerlässlichen, fachspezifischen Untersuchungsmethoden (z.B. DNA-Isolierung, PCR-Vervielfältigung, Gelelektrophorese und Fluoreszenz-Farbstoff-DNA-Sequenzierung) organisch zum Thema werden. Diese sollen durch didaktisch reduziertes Anschauungsmaterial mit den SchülerInnen in den fachtheoretischen Grundzügen arbeitsteilig in Untergruppen erarbeitet werden und anschließend durch jede Arbeitsgruppe dem Plenum der Lerngruppe verständlich vermittelt werden.

Bereits ab dieser ersten Unterrichtseinheit empfiehlt sich bei der Komplexität und der weitgehend experimentellen Umsetzung des Themas die Führung eines **Logbuchs** durch die SchülerInnen, in welchem die thematischen Schwerpunkte der jeweiligen Unterrichtseinheit verarbeitet werden können. Gleichzeitig wird hiermit der gegenwärtige „Ermittlungsstand“ permanent auf hohem Niveau präsent gehalten. Die SchülerInnen können auf diese Weise das jeweils notwendige, theoretische Hintergrundwissen individuell-lerntypengerecht vertiefen und dabei Schwerpunkte im Hinblick auf die eigenen Fragestellungen setzen.

3.1 Isolierung von DNA

Mit dieser ersten, experimentellen Einheit sollen die SchülerInnen praktisch DNA aus *Allium cepa* L. (Küchenzwiebel) isolieren. Um im Bild des Kriminalfalls zu bleiben, soll damit das aus dem Tatfahrzeug des Opfers extrahierte Blut des potentiellen Täters für die weitere Analyse „aufgeschlossen“ werden, indem aus den Blutzellen die DNA isoliert wird.

Erfahrungsgemäß ist das von vielen Schulbüchern empfohlene Objekt der Kalbsthymusdrüse (Kalbsbries) entweder nur als Demonstrationsversuch vorgesehen, oder kann in der Regel nur mit sehr wechselhaftem Erfolg durchge-

führt werden. Demgegenüber bietet das hier vorgeschlagene DNA-Extraktionsverfahren aus Küchenzwiebeln folgende Vorteile:

- ◆ Es handelt sich um ein wesentlich einfacheres Verfahren, welches aber trotzdem alle typischen Schritte einer DNA-Isolation zeigt.
- ◆ Das „Beschaffungsproblem“ eines entsprechenden Kalbsgewebes entfällt.
- ◆ Es werden ausnahmslos haushaltsübliche Reagenzien eingesetzt.
- ◆ Selbst bei SchülerInnen mit geringen Experimentiererfahrungen kann das Verfahren mit einem sehr hohen Prozentsatz selbstständig und erfolgreich durchgeführt werden.
- ◆ Innerhalb einer Doppelstunde ist die DNA-Isolation inklusive einer theoretischen Vorbesprechung ohne weiteres durchführbar.

Mit der Sichtbarmachung der DNA wird das bis dahin hochabstrakte Molekül DNA in den „begreifbaren“ Fragehorizont der SchülerInnen gerückt.

3.2 Sequenzierung der DNA

Die SchülerInnen sollen die zuvor isolierte DNA mittels Gelelektrophorese in Fragmente gleicher Länge auftrennen und nachfolgend im virtuellen Labor die eigentliche DNA-Sequenzierung durchführen. Im Bild des Kriminalfalls: Die aus dem Blutfleck im Tatfahrzeug isolierte DNA (nach Vermehrung durch die PCR-Methode) soll nach Vorbehandlung mit Restriktionsenzymen in DNA-Fragmente gleicher Länge aufgetrennt und sequenziert werden.

Dieser abschließende Schritt der Unterrichtsreihe, die eigentliche DNA-Sequenzierung, die anhand des Kriminalfalles zur endgültigen Klärung der Übereinstimmung der Basensequenzen führen soll, ist weder in der Schule, noch in den meisten universitären Labors möglich.

Aus diesem Grunde wird auf ein völlig neues, virtuelles Sequenzierlabor (ViSeL) zurückgegriffen. Entwickelt wurde dieses Programm von der AG Praktische Informatik der Technischen Fakultät an der Universität Bielefeld.

Der besondere Vorteil des Programms besteht im Hinblick auf die Zielsetzung dieser Unterrichtsreihe darin, dass es virtuell drei verschiedene Laborplätze (DNA-Isolierung, DNA-Aufbereitung und DNA-Sequenzierung) abbildet, in denen die einzelnen Arbeitsschritte exakt wie in einem realen Labor praktisch durchgeführt werden können. D.h., von der Isolierung bis zur Sequenzierung müssen mittels Pipetten z.B. verschiedene Pufferlösungen zu einer DNA-Probe hinzugefügt werden, es werden Zentrifugationsschritte durchgeführt usw. Darüber hinaus bietet das Programm eine Art Lexikonfunktion an, auf die bei fachtheoretischen Fragen und Unklarheiten während der Laborarbeit zurückgegriffen werden kann. Unter anderem werden dort nochmals die genetischen

Grundlagen bzw. das Sanger-Sequenzierverfahren in kurzen Texten mit Videoanimationen erläutert.

Von einem übergeordneten Blickwinkel betrachtet, bietet dieses Computerprogramm die Bündelung aller vorher praktisch mit den SchülerInnen durchgeführten Experimente und führt abschließend mit der DNA-Sequenzierung einen weiteren praktischen Schritt aus.

4 Beschreibung des Programms

Mittels des vorzustellenden Programms soll der Benutzer sowohl allgemeine Kenntnisse bezüglich der biologischen Grundlagen der Genetik, als auch spezielle Kenntnisse zur Durchführung und zum Verfahren der Gensequenzierung erwerben.

Empfohlene Systemvoraussetzungen (ViSeL):

Systembezeichnung:	IBM kompatibler PC; Pentium 133 MHz
Betriebssystem:	Windows 9x/NT
Arbeitsspeicher:	32 MB
Grafikkarte:	SVGA – 1024x768 Bildpunkte; 16 Mio. Farben; kleine Schriftarten
Soundkarte:	16 Bit, Sound Blaster kompatibel
CD-Laufwerk:	16x CD-ROM Laufwerk
Bildschirm:	17 Zoll
Optional:	Netscape Navigator oder Internet Explorer
Bezugsadresse:	logisch Lernsysteme in der IIT-GmbH Postfach 10 01 31 D-33501 Bielefeld http://www.logisch-lernsysteme.de/

Nach erfolgter Startroutine gelangt der Benutzer auf die Hauptübersichtsseite (Kompass). Neben einer Einführung in die Thematik können hier im sogenannten *tutoriellen Teil* des Programms Informationen zu den **genetischen Grundlagen**, zum **Sequenzierverfahren nach Sanger** bzw. zur automatischen **ALFexpress DNA-Sequenzierung** mittels fluorezenzmarkierten Primern abgerufen werden. Hierbei bieten i.d.R. alle Bereiche neben entsprechenden Abbildungen und komprimierten Texten auch die Möglichkeit zu kurzen Videoanimationen bzw. interaktiven Veranschaulichungen.

Vom *Kompass* aus lassen sich auch alle weiteren Funktionen des Programms ansteuern. So z.B. das **Lexikon** und der eigentliche **virtuelle Laborbereich**.

Dieser letztgenannte Laborbereich gliedert sich in die drei typischen Verfahrensschritte **DNA-Isolierung**, **DNA-Aufbereitung** und **ALFexpress-DNA-Sequenzierung**. In realitätsnaher Darstellung wird jeweils ein unterschiedlicher Laborplatz gezeigt, der die für den zu bearbeitenden Verfahrensschritt typische und notwendige Arbeitsmittel (z.B. Pipetten, Bunsenbrenner, Zentrifuge usw.) abbildet. Durch Anklicken der verschiedenen Laborgeräte mit der rechten Maustaste erhält der Anwender weitere wichtige Informationen über Aussehen und Verwendung des Gegenstandes.

Nach dem so genannten „drag & drop“-Verfahren können diese Laborgeräte mittels Mausklick bewegt werden. Ein ebenfalls zur Verfügung stehendes Laborhandbuch kann zusätzlich per Mausklick aktiviert/deaktiviert werden und erklärt den Ablauf des aktuellen Arbeitsschrittes. Bei der konkreten Durchführung durch den Benutzer wird jeder erfolgreiche/nicht erfolgreiche Einzel-

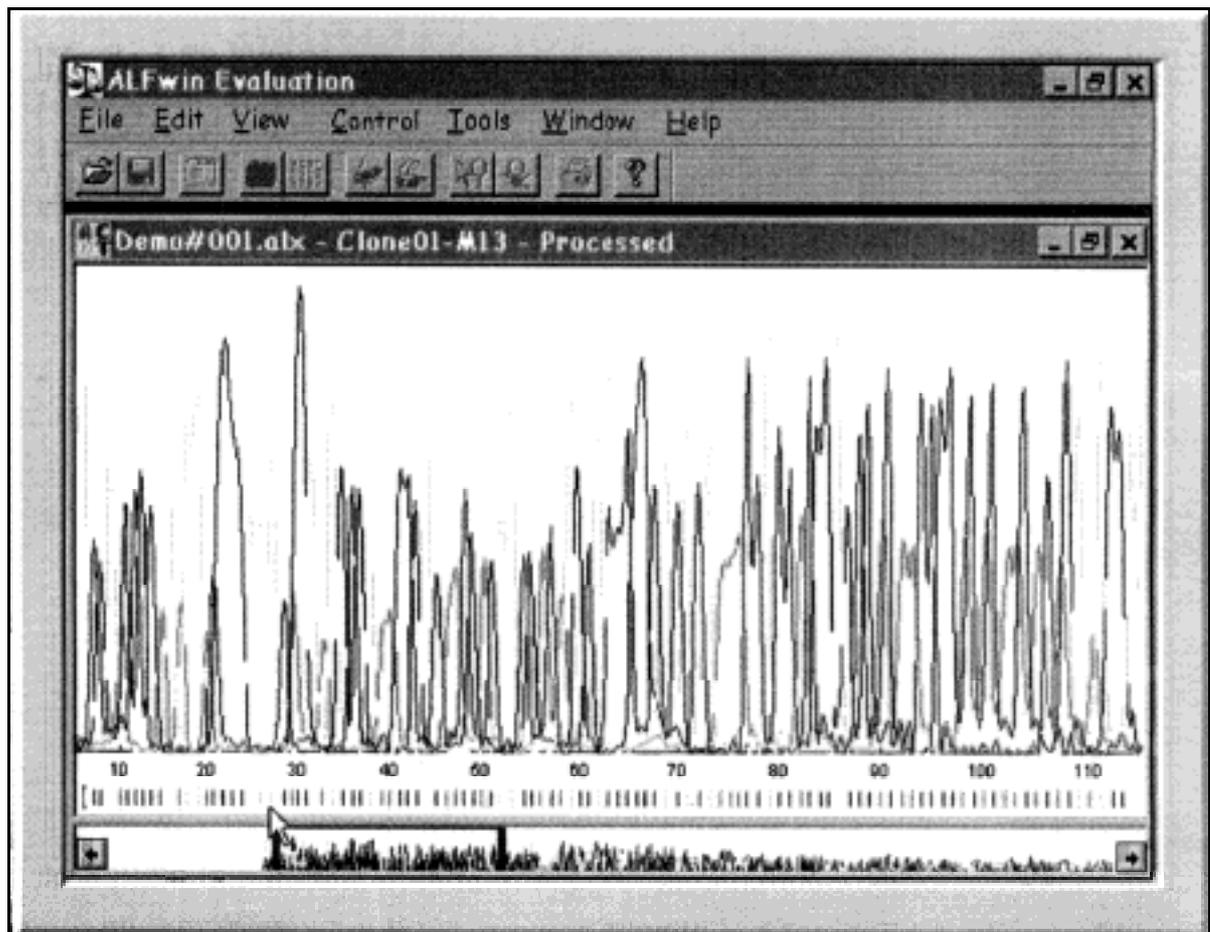


Abb. 1: Computergraphik des Programms ViSeL, aus der virtuell die Basensequenz abgelesen werden kann.

schritt akustisch und optisch bestätigt bzw. negiert. Bestehende Unsicherheiten über die konkrete Durchführung der Arbeitsschritte kann der Benutzer dadurch kompensieren, dass er eine kurze Videoanimation aufruft, die er sowohl jederzeit anhalten, als auch vor- oder zurückspulen kann.

Über die Navigationsleiste am oberen Bildschirmrand des jeweiligen Arbeitsschrittes hat der Benutzer jederzeit die Möglichkeit in einen anderen Laborbereich zu wechseln. Um diese Navigationsleiste anzuzeigen, muss der Mauszeiger an den oberen Bildschirmrand bewegt werden.

Das geschilderte „drag & drop“-Verfahren wird sukzessiv bis zum gewünschten Ergebnis wiederholt. Als Ergebnis erhält der Benutzer eine anschauliche Computergraphik (Abb. 1), aus der die Basensequenz der DNA unmittelbar abzulesen ist. Im Falle der Rahmengeschichte könnten die SchülerInnen nachvollziehen, wie mit der Methode der Gensequenzierung kriminalistische Aufklärungsarbeit geleistet werden kann.

Zitierte Literatur

- ALSTAEDTER, R. (1995): Zur Geschichte einer Jahrhundertwissenschaft. In: Gentechnik in der Pharmaforschung – Fortschritt und Verantwortung – Ziele, Chancen, Grenzen. Bayer AG – Öffentlichkeitsarbeit Gesundheit, Leverkusen.
- DÜRRENMATT, F. (1955): Der Richter und sein Henker. rororo 150, Rowohlt, Hamburg.
- EGERDING, M. (2000): DNA-Isolation und -Sequenzierung – experimentell und virtuell. UB 24 (256), 37-41.

Verfasser: Manfred Egerding, Atherstr. 23, B-4728 Hergenrath
Manfred.Egerding@t-online.de

Material 1

*Polizeiinspektion von Twann
- Bieler See -
Alphons Elenin
(Polizist)*

04. November 1948

*An die
Oberste Kriminalbehörde
der Stadt Bern
- Abteilung Kapitalverbrechen*

*Betr.: Meldung eines Mordfalles vom 03. November 1948 in Twann
(Bieler See)
hier: Bericht*

Hochverehrte Damen und Herren,

ich, Alphons Elenin, fand am Morgen des 03. Novembers 1948 dort, wo die Straße von Lamboing aus dem Walde der Twannbachschlucht hervortritt, einen blauen Mercedes, der am Straßenrande stand.

Es herrschte Nebel, wie oft im Spätherbst, und eigentlich war ich am Wagen schon vorbeigegangen, als ich aufgrund einer merkwürdigen Beobachtung nochmals zurückkehrte. Es war mir nämlich beim Vorbeischreiten gewesen, nachdem ich flüchtig durch die trüben Scheiben des Wagens geblickt hatte, als sei der Fahrer auf das Steuer niedergesunken. Ich glaubte, daß der Mann betrunken sei. Ich wollte daher dem Fremden nicht amtlich, sondern menschlich begegnen.

Mit dieser Absicht trat ich an das Automobil, den Schlafenden zu wecken, ihn nach Twann zu fahren und bei schwarzem Kaffee und einer Mehlsuppe nüchtern werden zu lassen. Schließlich ist es zwar verboten, betrunken zu fahren, nicht aber verboten, in einem parkenden Automobil am Straßenrand zu schlafen.

Ich öffnete also die Wagentür und legte dem Fremden die Hand väterlich auf die Schulter. Im gleichen Augenblick bemerkte ich jedoch, daß der Mann tot war. Seine Schläfen waren durchschossen. Augenblicklich bemerkte ich auch, daß die rechte Wagentüre offen stand.

Im Wagen war nicht viel Blut, und der dunkelgraue Mantel, den die Leiche trug, schien nicht einmal beschmutzt. Aus der Manteltasche glänzte der Rand einer gelben Brieftasche. Als ich sie hervorzog, konnte ich ohne Mühe feststellen, daß es sich beim Toten um Ulrich Schmied handelte, Polizeileutnant der Stadt Bern und damit ein Ihnen sicher nicht unbekannter Kollege.

Zunächst wußte ich nicht recht, was ich tun sollte, denn schließlich ist mir zuvor niemals ein solch blutiger Fall vorgekommen. Einige Minuten lief ich am Straßenrande hin und her. Als aber die aufgehende Sonne durch den Nebel brach und den Toten beschien, war mir das äußerst unangenehm. Also kehrte ich zum Wagen zurück, hob den grauen Filzhut auf, der zu Füßen der Leiche lag, und drückte ihn über den Kopf, so tief, daß ich die Wunde an den Schläfen nicht mehr sehen konnte. Erst dann war mir wohlter.

Wieder ging ich zum anderen Straßenrand, der gegen Twann liegt, und wischte mir den Schweiß von der Stirne. Hier faßte ich nun einen Entschluß. Ich schob den Toten auf den zweiten Vordersitz, setzte ihn sorgfältig aufrecht, befestigte den leblosen Körper mit einem Lederriemen, den ich im Wageninneren gefunden hatte, und rückte selbst ans Steuer.

Der Motor lief nicht mehr, doch brachte ich den Wagen ohne Mühe die steile Straße nach Twann hinunter vor den Bären, ließ dort auftanken, ohne daß jemand in der vornehmen und unbeweglichen Gestalt einen Toten erkannt hätte. Da mir Skandale verhasst sind, war mir dieses nur recht und so schwieg ich.

Anschließend beförderte ich die Leiche im Automobil vor meine Dienstwohnung. Ich bitte dringend um Instruktionen bezüglich der weiteren Vorgehensweise, bzw. um eine Entsendung einiger kriminaltechnisch versierter Beamten.

Mit vorzüglicher Hochachtung

Alphons Elenin

Rahmengeschichte basierend auf Dürrenmatt: „Der Richter und sein Henker“ (DÜRRENMATT, 1955).