

Auf den Spuren unserer Vorfahren

In der Woche vor den Weihnachtsferien, am Mittwoch den 14.12.2016, besuchte der Biologie-Leistungskurs (H1va) mit den Lehrerinnen Frau Lange und Frau Freund von 8.00-15.00 Uhr das Alfred-Krupp-Schülerlabor der Ruhr-Universität in Bochum. Nach dem im Unterricht die Molekulargenetik theoretisch erarbeitet wurde, sollte nun auch der praktische Teil folgen. Dort wurden sie von Frau A. Friebe begleitet, welche das Projekt „Auf den Spuren unserer Vorfahren“ leitete. Die Aufgabe der Studierenden war es an dem Tag, anhand der Mundschleimhautzellen ihre mitochondrialen Haplogruppen zu bestimmen. Hierbei vermischen sich die Themen Genetik und Evolution.

Die Studierenden beschäftigten sich mit den Fragen „Woher kommen wir eigentlich her?“ „Und wie sind wir eigentlich an den Ort gekommen, wo wir heute leben?“ Laut DNA Studien heißt es, dass alle Menschen von einer Gruppe gemeinsamer Vorfahren abstammen, die in Afrika lebten. Diese haben sich vor ca. 80.000- 90.000 Jahren angefangen auszubreiten. Einige wanderten über das Horn von Afrika und andere über die Sinai-Halbinsel nach Europa. Diese Gruppen unterscheiden sich genetisch durch ihre Haplogruppen. Diese Unterschiede haben sich bei uns bis heute erhalten, deswegen kann man mit geeigneten Analysen bestimmen, von welchen dieser wandernden Vorfahren wir abstammen.



Vorbereiten der Proben



Nach der Zentrifugation

Durch die Rekombination der Gene unserer Eltern erhalten wir den Großteil unseres Genoms, was es erschwert, die Abstammungslinien zu verfolgen. Doch die vorhandenen Y-Chromosomen und die mitochondriale DNA, in denen die DNA nur durch Mutationen variiert, können uns als Hilfe dienen, denn wenn diese Mutationen an die folgenden Generationen weitergegeben werden, kann man diese als genetischen Marker benutzen, um die Abstammungen zurückzuverfolgen.



Konzentration auf den nächsten Arbeitsschritt

Die mitochondriale DNA (mtDNA) befindet sich in den Mitochondrien, deren Hauptfunktion die Energie-versorgung der Zelle ist. Von den väterlichen

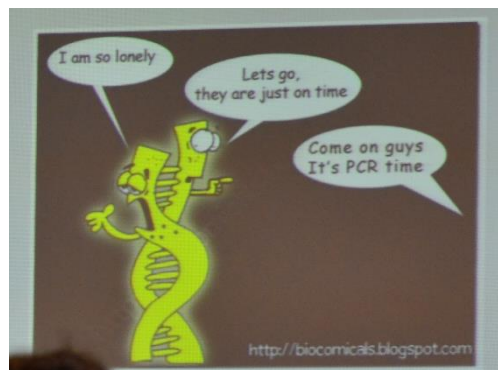


Handhabung der Eppendorff-Pipetten

Mitochondrien sind nur vernachlässigbar wenige im Spermienkopf enthalten, der bei der Befruchtung mit der Eizelle verschmilzt. Die Eizelle hingegen hat eine Menge Mitochondrien, die von der Mutter stammen. Dies ist der Grund, warum die mtDNA im Gegensatz zur Zellkern-DNA nur Informationen aus der mütterlichen Linie weitergibt. Die mitochondriale DNA variiert innerhalb der Generationen nur durch Mutationen. Diese Mutationen können mit Hilfe von molekularbiologischen Methoden identifiziert werden und dienen dann als sogenannte Wegweiser für die Verfolgung der menschlichen Evolution. Durch die Rückverfolgung eines Markers zu seinem Ursprung kann z.B. der letzte gemeinsame weibliche Vorfahr des untersuchten Individuums identifiziert werden. Haplogruppen nennt man in dem Fall eine Gruppe von Menschen mit derselben Mutation, welche auf einen gemeinsamen Vorfahren zurückgeht.



Um das Projekt zu starten, die DNA, welche sie aus Mundschleimhautzellen extrahieren. Weil sie aber winzige Menge an DNA durch das Verfahren der (PCR) anwenden, um die vervielfältigen zu können.



mussten die Studierenden ihren gewonnen hatten, somit nur eine relativ gewonnen wird, mussten sie Polymerase-Kettenreaktion speziellen DNA Abschnitte

Die Polymerase-Verfahren, um DNA soweit entstehen, mit denen entsprechende Analysen durchgeführt werden können. Sie wurde 1983 von Karl B. Mulis in Anlehnung an die Replikation in Zellen entwickelt.

Kettenreaktion ist ein zu vermehren, dass Mengen

Sie besteht aus drei Einzelschritten, welche 20-30mal wiederholt werden;

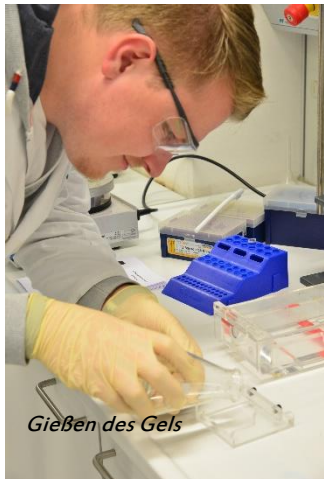
- 1) Denaturierung: Erhitzen auf 95°C, um die Doppelstränge in Einzelstränge zu teilen.
- 2) Hybridisierung: Abkühlen auf 50°-60°C -> Binden der Primer.
- 3) Polymerisation: Erhitzen auf 72°C, Taq-Polymerase synthetisiert den neuen Strang von 5' - 3' mit Hilfe der Nukleotide.



Die Teilung gelingt durch die Hilfe von Restriktionsendonukleasen (REN), also Enzymen, die DNA an bestimmten Positionen erkennen und schneiden können, im vorliegenden Fall an der die Haplogruppe definierenden Punktmutation. Das Verfahren wird

auch Restriktionsverdau genannt und diese überprüft man anhand einer Agarose-Gelelektrophorese.



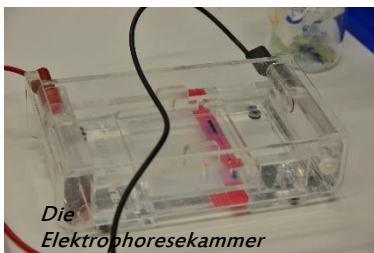


Gießen des Gels

Die Agarose-Gelelektrophorese ist eine biochemische und molekularbiologische Methode, in der geladene Nukleinsäure-Stränge, also RNA oder DNA, durch die Wanderung in einem elektrischen Feld nach ihrer Größe getrennt und sichtbar gemacht werden, um ihre Größe und Masse durch Vergleich mit DNA-Strängen bekannter Größe zu bestimmen, so kann man nämlich die genetischen Materialien miteinander vergleichen.

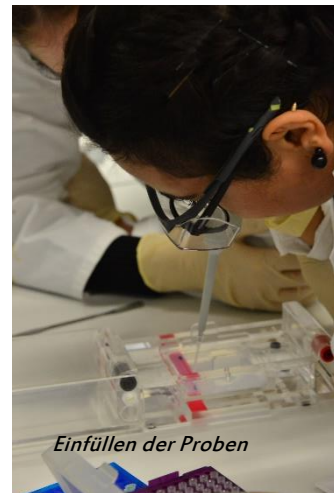
Hierzu benötigt man eine Gelelektrophorese Apparatur, also ein Instrument, in dem sich eine Gelmatrix befindet. Diese Gelmatrix kann von Molekülen durchwandert werden. Es wird an beiden Enden der Matrix

Spannung angelegt, sodass ein elektrisches Feld entsteht. Der negative Pol entspricht der Kathode und der positive der Anode und da sich gegenteilige Ladungen anziehen, wandern die Anionen, welche negativ geladen sind, zu der Anode und die positiv geladenen Kationen zu der negativ geladenen Kathode. Da alle DNA-Fragmente unterschiedlich groß bzw. stark geladen sind,



Die Elektrolysekammer

wandern sie unterschiedlich weit durch die Gelmatrix. Dies ist der Grund, warum sich kleine Grüppchen bilden, welche als Bandenmuster bezeichnet werden. Da die DNA wegen des Phosphates negativ geladen ist, also voller Anionen, bewegt sie sich zu der positiven Anode. Nun kann man endlich die Bandenabfolgen vergleichen.



Einfüllen der Proben

Abschließend werden die Nukleinsäuren mit einem roten Phenanthridin-Farbstoff (Ethidiumbromid) angefärbt, denn so erkennt man im UV-Licht das Bandenmuster und damit die vorhandenen Marker für eine Abkunft von Wandern über den Sinai oder über das Horn von Afrika. Da das Ethidiumbromid aber



So sollten ideale Ergebnisse aussehen

Ergebnis: M (über das Horn von Afrika)

Ergebnis: N: über Sinai-Halbinsel

ein sehr starkes Mutagen ist, welches Krebs erregt und die UV-Strahlungen schwere Hautverbrennungen, sowie

zu Schädigungen der Augen führen kann, übernahm die ausgebildete Frau A. Friebe diesen letzten Schritt. Je nachdem, ob die DNA der Studierenden eine passende Mutation für die

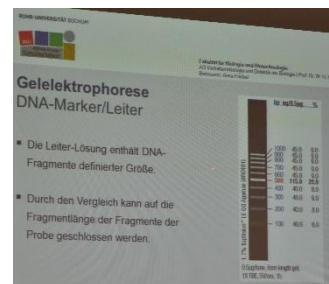
Restriktionsendonukleasen aufwies, wurden die DNA-Abschnitte aus der PCR von diesen Enzymen in

eine ganz bestimmte Anzahl an Fragmenten definierter Größe geschnitten und somit konnte man letztlich erkennen, zur welcher Haplogruppe man gehörte.



Die Gele sind zum Färben bereit

Den Lehrerinnen war es hierbei wichtig, den Studierenden die Möglichkeit zu geben, ein solches Verfahren selbst durchzuführen. Denn, um erfolgreich lernen zu können, sollten die Studierenden



- Die Leiter-Lösung enthält DNA-Fragmente definierter Größe.
- Durch den Vergleich kann auf die Fragmentlänge der Fragmente der Probe geschlossen werden.



Kritische Auswertung der Ergebnisse

nicht nur lesen und markieren, sondern auch Modellversuche durchführen, damit sie die Zusammenhänge und einzelne Schritte auch verstehen können und nichts dabei verloren geht. Schließlich bleibt es somit länger im Gedächtnis, als wenn man es nur erzählt bekommen hätte.

Text: Gözdenur Sevim, H1va

Bilder: Bettina Freund

