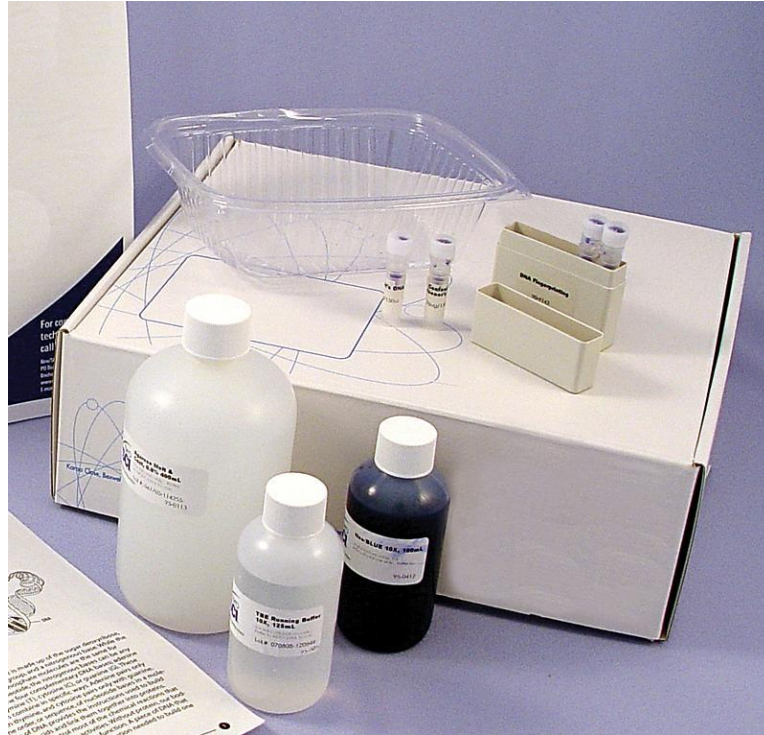
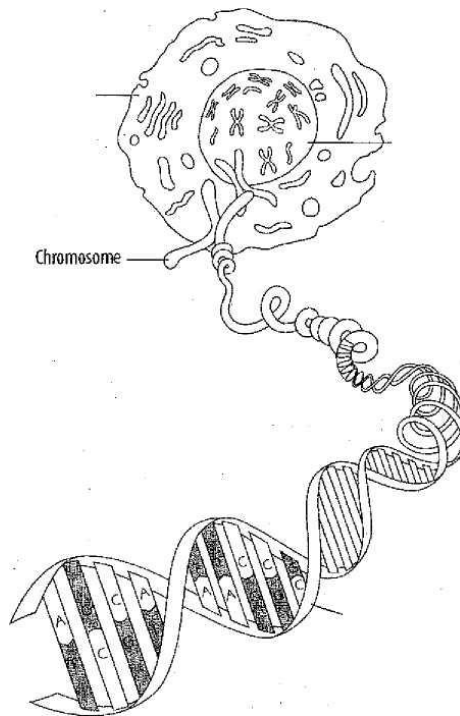


## Genetischer Fingerabdruck



DNA findet sich in fast allen lebenden Zellen; der Begriff ist ein Akronym für Desoxyribonukleinsäure (englisch **deoxyribonucleic acid**). Die DNA ist die chemische Verbindung, welche die Chromosomen bildet und die kodierte Information trägt, die aus jedem Menschen ein einzigartiges Individuum macht. Die DNA besteht aus Untereinheiten, die man Nukleotide nennt; diese sind so miteinander verknüpft, dass eine großes Molekül mit der Form einer langen, verdrehten Leiter entsteht. Jeder Holm der Leiter besteht aus einander abwechselnden Zucker- und Phosphateinheiten. Die Sprossen der Leiter enthalten Paare von Nukleinbasen, die aneinander binden. Jedes Nukleotid besteht aus dem Zucker Desoxyribose, einer Phosphatgruppe und einer stickstoffhaltigen Base. Während bei allen Nukleotiden der Zucker und die Phosphatgruppe immer gleich sind kann die stickstoffhaltige Base eine der vier komplementären DNA-Basen sein: Adenin (A), Thymin (T), Cytosin (C) oder Guanin (G). Diese Basen lassen sich auf spezifische Weise kombinieren. Adenin bindet nur an Thymin und Cytosin nur an Guanin. Die Basenabfolge (Sequenz) der Nukleotide in einem DNA-Molekül enthält die Informationen für den Aufbau von Proteinen. Die Proteine ihrerseits regulieren die meisten chemischen Reaktionen einer Zelle und damit ihre Aktivität. Ohne Proteine könnte unser Körper weder wachsen noch funktionieren. Ein Gen ist ein Stück der DNA, welches die Information für den Aufbau eines bestimmten Proteins enthält.



### Die Entdeckung des genetischen Fingerabdrucks.

1986 forschte der Genetiker Alex Jeffreys an der Universität Leicester in England an der vererbten Variation von Genen und an der Evolution der heutigen Gene. Während seiner Arbeit beschäftigte er sich auch mit Introns, das sind nicht-kodierende Bereiche der DNA. Als wichtiges Hilfsmittel für seine Untersuchungen setzte er Restriktions-Endonukleasen ein, das sind Enzyme, welche DNA an ganz spezifischen Stellen zerschneiden („verdauen“) können.

Jeffreys fand heraus, dass manche Introns identische wiederkehrende Nukleotidsequenzen aufwiesen, und dass die Anzahl dieser Wiederholungen von Mensch zu Mensch variiert. So konnte beispielsweise ein Sequenz bei einer Person 10fach wiederholt sein, während dieselbe Sequenz bei einer anderen Person 25fach auftrat. Nach einem Verdau der DNA dieser Personen mit Restriktions-Endonukleasen fand er unterschiedliche große DNA-Fragmente. Dieser Sachverhalt wird Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus (englisch restriction fragment length polymorphisms, RFLP) genannt. Obwohl die kodierenden DNA-Bereiche der DNA (die Exons) von Mensch zu Mensch recht konstant sind, trifft das auf die Introns nicht zu. Es zeigte sich, das – mit Ausnahme eineiiger Zwillinge – jeder Mensch ein einzigartiges RFLP-Muster aufweist.

Jeffreys erkannte, dass diese variablen DNA-Fragmente durch Gelelektrophorese getrennt und mit komplementären radioaktiven DNA-Proben markiert werden konnten, sodass ein für

jeden Menschen spezifisches Muster resultiert. Deshalb nannte er diese Methode „genetischen Fingerabdruck“.

Der genetische Fingerabdruck wird heutzutage routinemässig eingesetzt, um am Tatort von Verbrechen gefundene Proben von Blut, Haaren, Spucke und anderen Körperflüssigkeiten zu untersuchen. Die Ergebnisse werden dann mit den Analysen entsprechender Proben von Verdächtigen verglichen, um die Anwesenheit einer Person am Tatort belegen zu können. Dies kann ein erster Schritt für den Beweis von Schuld oder Unschuld eines Verdächtigen sein. Der genetische Fingerabdruck wird vor Gericht nicht als unwiderlegbarer Beweis angesehen, denn es gibt eine minimale Wahrscheinlichkeit dafür, dass doch zwei Personen dasselbe RFLP-Muster aufweisen könnten. Die Gerichtsmediziner informieren das Gericht deshalb über die statistische Wahrscheinlichkeit dafür, dass zwei Proben (eine vom Tatort und eine vom Verdächtigen) von derselben Person stammen.

Dieser Wert wird von der Anzahl der bekannten RFLPs einer gegebenen Bevölkerung bestimmt. Manchmal ergibt sich eine Wahrscheinlichkeit von 1 zu 10 Milliarden. Diese entspricht fast dem Doppelten der Weltbevölkerung, sodass die Wahrscheinlichkeit extrem hoch ist, dass der Verdächtige am Tatort war. Diese Informationen können dann zusammen mit anderen am Tatort vorgefundenen Beweismitteln dazu dienen zu klären, ob der Verdächtige tatsächlich das Verbrechen begangen hat.

Obwohl der genetische Fingerabdruck eine sehr präzise Methode ist argumentieren manche Rechtsanwälte, dass er niemals eine zweifelsfreie Schuldfeststellung erlaubt. Die Beweisführung anhand des genetischen Fingerabdrucks wurde oft vor Gericht angegriffen, so. z.B. in dem bekannten Prozess gegen O. J. Simpson. Da die Methodik des genetischen Fingerabdrucks ständig verbessert wird ist die Gefahr einer Fehldiagnose heute deutlich geringer als noch vor ein paar Jahren.

Der genetische Fingerabdruck hat auch noch weitere Anwendungsmöglichkeiten: Da jeweils die Hälfte des Erbguts eines Menschen von jedem seiner beiden Elternteile stammt kann er dazu benutzt werden, Verwandtschaftsbeziehungen zu klären. Weiterhin kann er dazu dienen, den Erbgang von vererbaren Krankheiten zu verfolgen oder den am besten geeigneten Spender für eine Organtransplantation zu ermitteln. Das Verfahren kann sogar dazu verwendet werden, den Inzuchtanteil einer gefährdeten Tierart zu bestimmen oder festzustellen, mit welchen bekannten Lebewesen neu entdeckte Spezies verwandt sind.

Wie wird der genetische Fingerabdruck durchgeführt ?

## *1. Schritt – DNA-Isolierung*

Die DNA wird zunächst aus einer Gewebeprobe isoliert, beispielsweise aus Haut, Haar, Blut oder einer anderen Körperflüssigkeit. Falls nur geringe DNA-Spuren vorhanden sind ist es notwendig, diese mit Hilfe der sogenannten Polymerase-Kettenreaktion (englisch polymerase chain rection, PCR) zu vervielfältigen. Mit Hilfe dieser Methode kann aus nur wenigen Zellen oder sogar aus einem einzigen Haar genügend DNA gewonnen werden, um den genetischen Fingerabdruck bestimmen zu können.



gesamtes Blut



isolierte Zellkerne



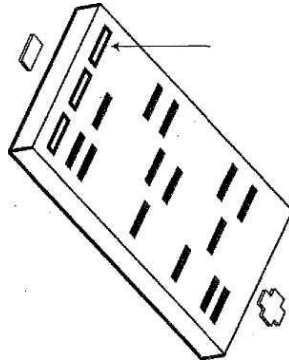
DNS

### 2. Schritt – DNA-Verdau

Als nächstes wird die DNA mit Hilfe spezieller Enzyme zerschnitten („verdaut“), die man Restriktions-Endonucleasen nennt. Diese Enzyme wurden zuerst in Bakterien entdeckt und schneiden die DNA an ganz bestimmten Stellen (Erkennungssequenzen) in beiden Strängen, sodass eine Vielzahl kleinerer DNA-Fragmente entsteht.

### 3. Schritt – Auftrennung der DNA

Die DNA-Fragmente werden in der Gelelektrophorese entsprechend ihrer Größe zum RFLP-Muster aufgetrennt.



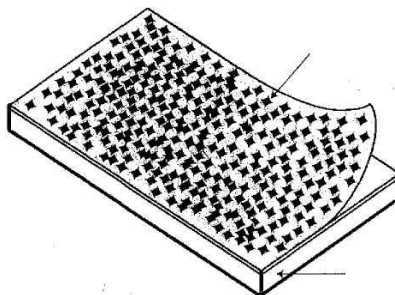
#### 4. Schritt – Denaturierung der DNA

Die doppelsträngigen DNA-Fragmente im Gel werden denaturiert, also in die beiden Einzelstränge getrennt. Diese Denaturierung kann entweder durch Erwärmung oder durch eine geeignete chemische Behandlung der DNA im Gel erreicht werden. Im Verlauf dieses Prozesses entwindet sich die DNA-Doppelhelix und die Wasserstoffbrücken zwischen den Basen werden aufgebrochen, sodass schließlich die jeweiligen Einzelstränge vorliegen.

S'-AGTCAG<sup>A</sup>GyCAGyCAGTCAGTCAGTCAGTC-S'

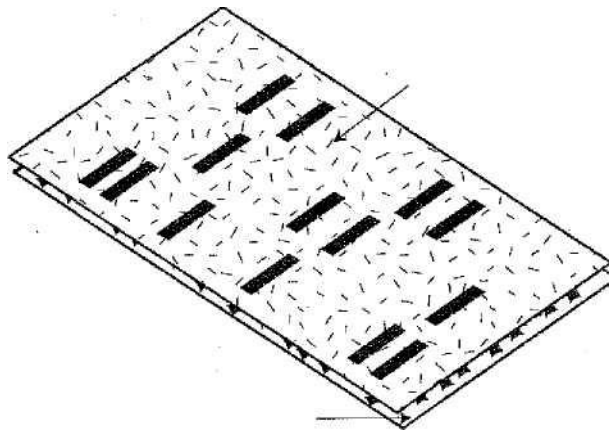
#### 5. Schritt – DNA-Transfer

Ein Blatt Nitrozellulosepapier wird anschließend direkt auf das Gel mit den denaturierten DNA-Einzelsträngen gelegt und erhitzt, um die DNA-Moleküle fest an die Nitrozellulose binden zu lassen. Die Methode wird „Southern blot“ genannt.



### 6. Schritt DNA-Hybridisierung

Hierbei reagiert die Einzelstrang-DNA mit einer radioaktiven DNA-Probe, deren Sequenz so entworfen wurde, dass sie komplementär zu einem oder mehreren RFPLs ist. Anschließend wird ein Röntgenfilm auf das Nitrozelluloseblatt gelegt und somit der radioaktiven Strahlung ausgesetzt (exponiert). Dieses Verfahren bezeichnet man als Autoradiographie. Nur an denjenigen Stellen, an denen die radioaktiv markierte Probe an die entsprechende komplementäre DNA gebunden hat, werden sich schwarze Banden auf dem Röntgenfilm zeigen. Den fertig entwickelten Film bezeichnet man in diesem Fall als Autoradiogramm. Das Bandenmuster des Autoradiogramms repräsentiert den genetischen Fingerabdruck der Testperson. Nun können die RFLP-Muster von zwei oder mehreren DNA-Proben miteinander verglichen werden.



### Situationsdarstellung

An einem frühen Morgen im Jahr 1985 wurde die Polizei zum Tatort eines Mordes gerufen. Aufgrund von Zeugenaussagen und anderer Beweismittel wurde ein Verdächtiger inhaftiert. Obwohl er seine Unschuld beteuerte wurde er am Ende eines langwierigen Prozesses für schuldig befunden. Während seiner Zeit im Gefängnis gestand ihm ein anderer Häftling die Tat, um sein Gewissen zu erleichtern, doch ihm wurde nicht geglaubt.

Zwischenzeitlich wurden mehrere Ersuchen auf eine Wiederaufnahme des Verfahrens aufgrund der unveränderten Beweislage abgelehnt. Ein von der Polizei sichergestelltes Beweismittel stellt ein Kleidungsstück dar, auf dem Blut des Opfers gefunden worden war. Eine Blutgruppenuntersuchung ergab die Blutgruppe AB. Leider hatten sowohl das Opfer als auch der Verdächtige diese Blutgruppe. Bis vor kurzem war es daher nicht möglich zu entscheiden, ob das Blut vom Opfer, vom Verdächtigen oder von einer dritten Person stammt. Dieses Blut enthält DNA, welche entweder den Verurteilten eindeutig mit dem Verbrechen in Zusammenhang bringen kann oder ihn ein für alle mal entlastet.

Als Mitglied eines rechtsmedizinischen Labors wurden Sie für die wichtige Aufgabe ausgewählt, das wichtigste Beweismittel zu liefern, aufgrund dessen der Verurteilte entweder endgültig überführt oder aber freigelassen wird! Sein Leben ist in Ihrer Hand! Wenn Sie einen Fehler machen kann das dazu führen, dass entweder ein Unschuldiger inhaftiert bleibt oder aber ein Mörder freigelassen wird!

Um diesen wichtigen Beweis zu führen werden Sie eine vereinfachte Version des genetischen Fingerabdrucks durchführen, damit Sie entscheiden können, ob das am Tatort gefundene Blut vom Opfer, vom Verurteilten oder aber von dem geständigen Häftling stammt.

## **AUFGABE 1**

Genetischer Fingerabdruck

Je Schüler

Handschuhe, Kittel, Schutzbrille

Je Schülergruppe

DNA-Proben:

DNA vom Tatort

DNA vom Opfer

DNA vom Verurteilten

DNA vom geständigen Häftling

10 µl-Micropipette

6 Pipettenspitzen

Elektrophoresekammer

Stromquelle

1 x Laufpuffer (TBE)

Ein fertig gegossenes Agarosegel oder vorbereitete geschmolzene 0,8%ige Agarose, 35 ml je Schlitten

Plastikwanne zur Gelfärbung

Neo/Blue DNA-Farbstofflösung

Plastikbeutel mit Reißverschluss

Anmerkung: Die DNA-Proben enthalten einen Farbstoff zur Beobachtung der Laufstrecke sowie Saccharose. Die Saccharose führt zu einer im Verhältnis zum Laufpuffer höheren Dichte der DNA-Probe, sodass diese auf den Boden der Tasche sinken kann.

Wenn die Gele gegossen werden sollen:

Geschmolzene Agarose

Thermometer

1 Paar hitzeresistente Handschuhe

Gemeinsam benutzte Materialien

Leuchttisch oder andere Lichtquelle zur Betrachtung des gefärbten Gels

Mikrowelle oder Herdplatte zum Schmelzen der Agarose

## **SICHERHEIT UND ENTSORGUNG**

Halten Sie sich genau an die Sicherheitsvorschriften des Labors, so wie sie vom Lehrer erklärt werden.

Tragen Sie stets eine Schutzbrille und einen Laborkittel, um Ihre Augen und Ihre Kleidung zu schützen, wenn Sie mit Chemikalien arbeiten.

Berühren Sie mit Ihren Händen nicht Ihr Gesicht oder Ihren Mund.

Waschen Sie vor dem Verlassen des Labors immer Ihre Hände.

Tragen Sie hitzeresistente Handschuhe und eine Schutzbrille, wenn Sie mit heißen Flüssigkeiten arbeiten.

Halten Sie die notwendigen Sicherheitsvorkehrungen ein, wenn Sie mit elektrischem Strom arbeiten. Überzeugen Sie sich davon, dass alle Verbindungsstellen, Stecker und Oberflächen trocken sind, bevor Sie die Elektrophorese-Apparatur benutzen.



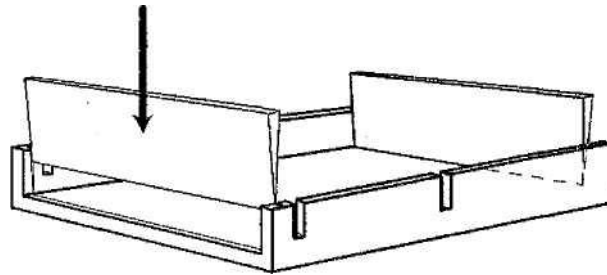
Alle Flüssigabfälle aus diesem Versuch können entsorgt werden, indem sie mit viel Wasser im Waschbecken weggespült werden. Benutzte Gele können im Mülleimer entsorgt werden.

Anmerkung: Die DNA-Proben in diesem Versuch sind nicht menschlichen Ursprungs. Sie stammen von einem Bakteriophagen und erfordern keine besondere Behandlung. Das im Gel erhaltene Bandenmuster ist nur eine Repräsentation echter Ergebnisse.

Anmerkung: Ihr Lehrer hat entweder die Gele schon vorbereitet oder fordert Sie auf, sie entsprechend dem folgenden Protokoll selbst zu gießen.

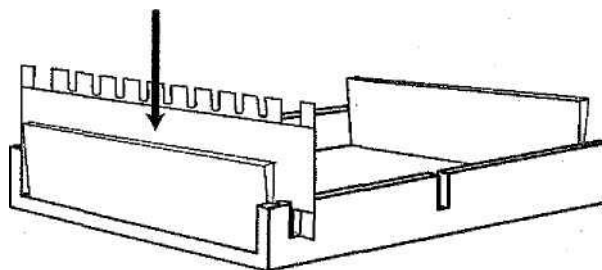
### Das Gießen eines Agarosegels

#### 1. Schritt



Setzen Sie die Begrenzungsschienen in den Gelschlitten ein.

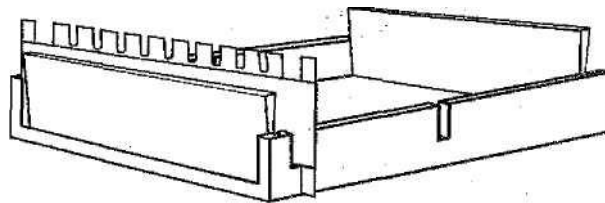
#### 2. Schritt



Setzen Sie den Taschenkamm in die Schlitzte am Rand des Gelschlittens ein. Stellen Sie den Gelschlitten auf eine gerade Oberfläche.

Anmerkung: Mit dem zweiseitigen Neo/SO-Taschenkamm können Sie entweder 6 oder 10 Taschen erzeugen.

### 3. Schritt

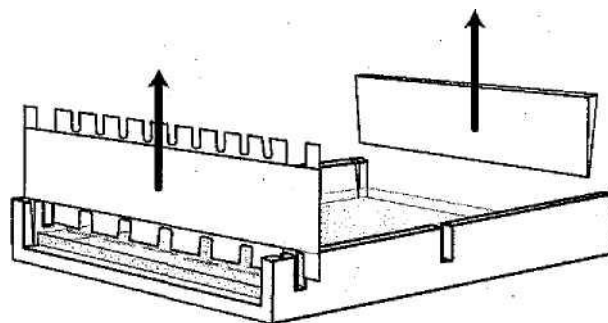


Giessen Sie die geschmolzene Agarose (55°C) vorsichtig in den Gelschlitten, sodass dieser bis zu einer Höhe von etwa einem halben Zentimeter gefüllt wird.

### 4. Schritt

Lassen Sie das Gel für etwa 20 Minuten ungestört aushärten. Das Gel wird dann milchig-weiss erscheinen.

### 5. Schritt



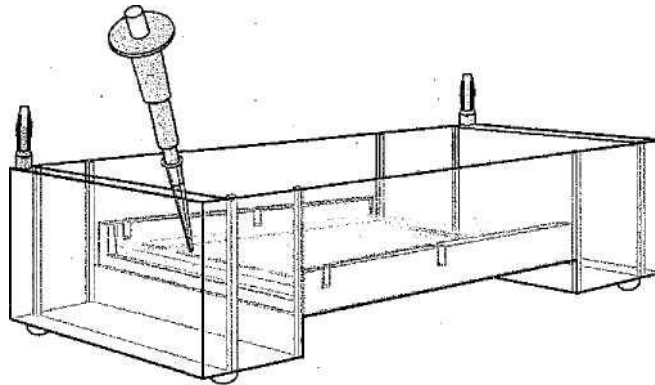
Entfernen Sie den Kamm vorsichtig, indem sie ihn langsam nach oben herausziehen.  
Beschädigen Sie dabei nicht die Geltaschen. Entfernen Sie die Begrenzungsschienen und legen Sie den Gelschlitten in die Mitte der Elektrophoresekammer.

#### 6. Schritt

Füllen Sie soviel 1 x Laufpuffer in die Kammer, dass das Gel etwa 2 mm unter der Oberfläche liegt.

### Beladung des Gels

#### 7. Schritt



Nehmen Sie mit der Mikropipette 10 µl der DNA vom Tatort auf und pipettieren Sie diese in die erste Geltasche, wobei Sie die Pipettenspitze knapp innerhalb der Tasche halten. Passen Sie dabei auf, den Gelboden nicht zu durchstossen.

Unter Verwendung von jeweils einer neuen Pipettenspitze laden Sie die verbleibenden DNA-Proben wie folgt in die entsprechenden Taschen:

Tasche Nr. 2: DNA vom Opfer

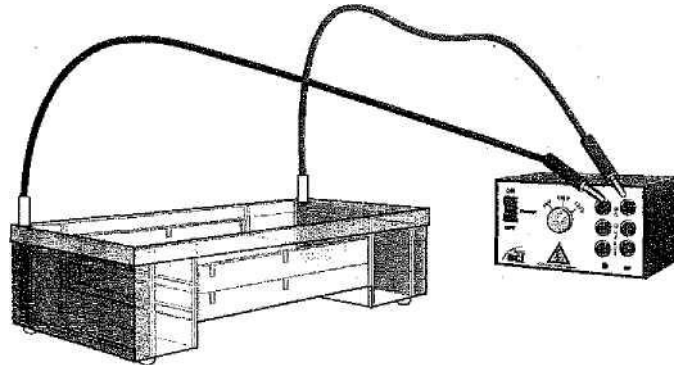
Tasche Nr. 3: DNA vom Verurteilten

Tasche Nr. 4: DNA vom geständigen Häftling

Anmerkung: Um das ganze Gel auszunutzen kann der Lehrer eine anderer Schülergruppe anweisen, die verbleibenden Geltaschen (5-8) mit Proben zu beladen. Ein zweiter Gelschlitten kann anschließend auf den ersten gestellt und entsprechend beladen werden.

### 8. Schritt

Legen Sie den Deckel auf die Kammer und stecken Sie den positiven (roten) und negativen (schwarzen) Bananenstecker auf die jeweiligen Anschlüsse der Gelkammer. Verbinden Sie den roten Stecker mit dem positiven Anschluss der Spannungsquelle sowie den schwarzen mit dem negativen Anschluss. Stellen Sie eine Spannung von 100 V ein.



Anmerkung: Sie können an der Neo/SCI-Spannungsquelle auch eine Spannung von 50 V oder 125 V wählen. Bei niedrigerer Spannung wird die DNA langsamer im Gel aufgetrennt, bei höherer Spannung entsprechend schneller.

Vorsicht: Vergewissern Sie sich, dass alle Oberflächen und Ihre Hände trocken sind, wenn Sie mit elektrischem Gerät arbeiten. Lassen Sie den Lehrer alle Verbindungen überprüfen bevor Sie den Strom einschalten.

### 9. Schritt

Nach Aufforderung durch den Lehrer schalten Sie den Strom ein. Sie sollten dann sofort eine Gasentwicklung an den Elektroden der Kammer sehen können. Diese Gasbläschen sind die Folge der elektrolytischen Wasserspaltung. Bei diesem Prozess wird Wasserstoff an der negativ geladenen Elektrode (Kathode) gebildet und Sauerstoff an der positiv geladenen Elektrode (Anode).

### 10. Schritt

Lassen Sie die Elektrophorese je nach Spannungswahl für 45 bis 60 Minuten laufen. Schalten Sie den Strom ab, wenn die Lauffront des Farbstoffs etwa 1 cm vom Ende des Gels entfernt ist.

## Färbung des DNA-Gels

### 11. Schritt

Legen Sie das Gel in die Färbewanne und giessen Sie vorsichtig die DNA-Färbelösung darüber, bis diese das Gel vollständig bedeckt. Das Gel sollte für etwa 10 bis 15 Minuten gefärbt werden. Dann giessen Sie die Färbelösung ab und entfärben das Gel mit warmem Leitungswasser für etwa 15-20 Minuten, bis die Gelmatrix klar ist und die DNA-Banden deutlich sichtbar werden. Für eine vollständige Entfärbung können Sie das Gel auch über Nacht in Wasser liegen lassen. Beachten Sie jedoch, dass übertriebenes Entfärben zu blassen und diffusen DNA-Banden führen kann.

Anmerkung: Zur Langzeitlagerung und zur Verhinderung einer Verblässung der DNA-Banden legen Sie das Gel in den Plastikbeutel mit Reißverschluss und füllen diesen mit 2-3 ml Wasser sowie einem kleinen Tropfen Färbelösung.

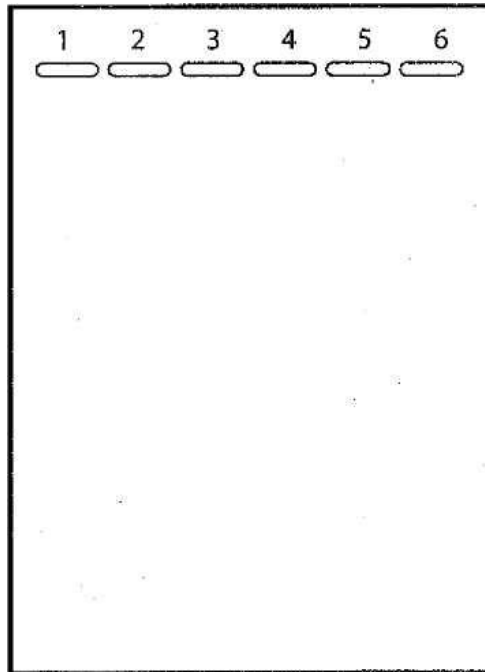
### 12. Schritt

Messen Sie die Laufstrecke jeder Bande (in mm) in jeder Spur von der Geltasche und tragen Sie Ihre Ergebnisse in Tabelle 1 ein.

### 13. Schritt

Tragen Sie die exakte Position jeder einzelnen Bande in die unten stehende Grafik ein, um dass einzigartige Bandenmuster jeder Probe darzustellen.

Genetischer Fingerabdruck – Best.-Nr.1093047



0mm

10

20

30

40

50

60

70

Anmerkung: Die kleineren Fragmente sind auf Ihrem Gel möglicherweise nicht sichtbar.

## Daten-Tabelle

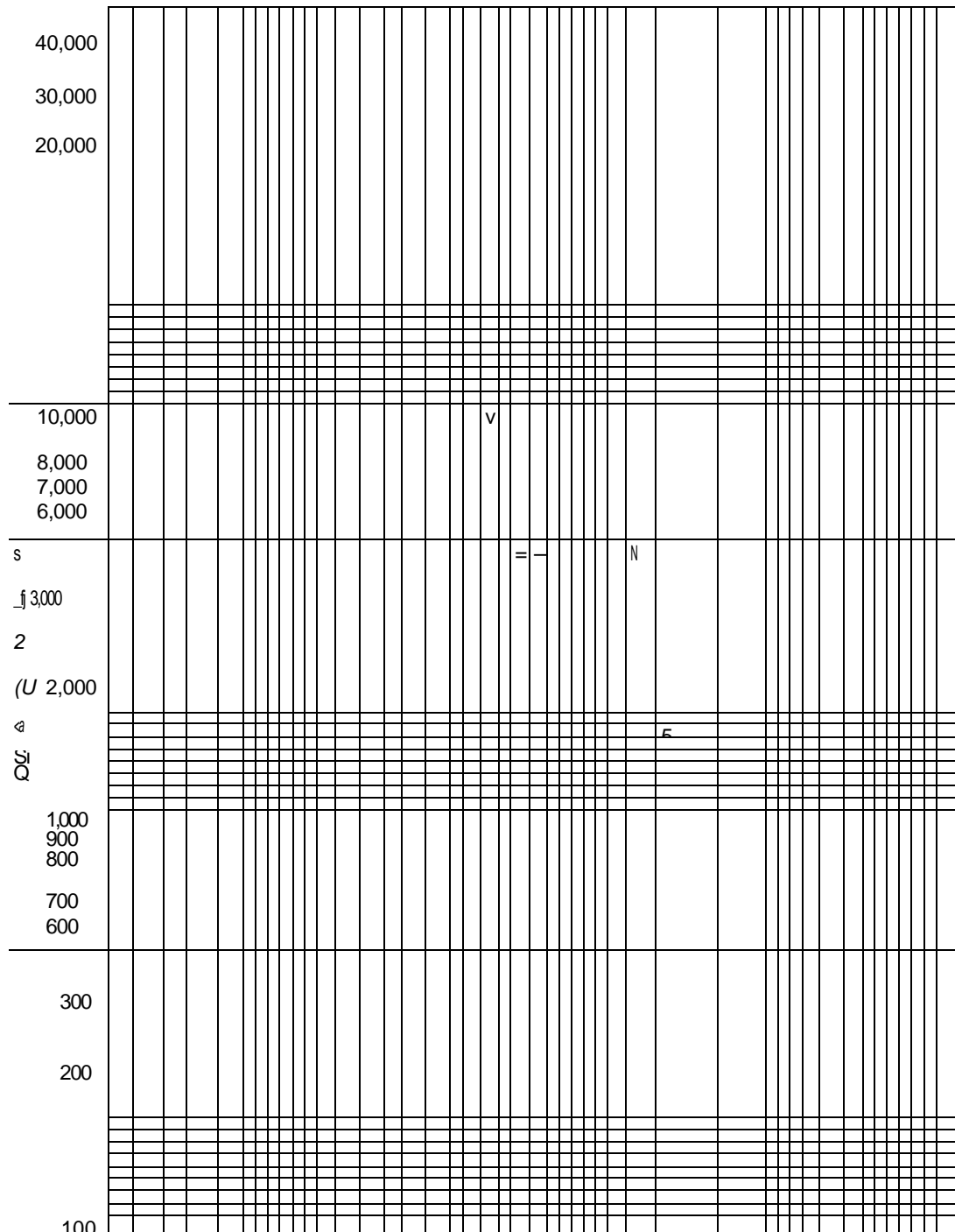
Gefundene DNA			DNA des Opfers			DNA des Verdächtigen			DNA des Inhaftierten		
DNA Frag. No.	Lauf-Strecke (mm)	DNA Frag. Größe {bp}	DNA Frag. No.	Lauf-Strecke (mm)	DNA Frag. Größe {bp}	DNA Frag. No.	Lauf-Strecke (mm)	DNA Frag. Größe {bp}	DNA Frag. No.	Lauf-Strecke (mm)	DNA Frag. Größe {bp}

## Analyse

Das Molekulargewicht eines unbekannte Moleküls kann bestimmt werden, indem man seine elektrophoretische Mobilität im Agarosegel mit der einer bekannte Probe vergleicht. Die hier zur Verfügung gestellte Standardkurve zeigt die Laufgeschwindigkeit in Abhängigkeit vom Molekulargewicht. Bestimmen Sie mit dieser Information die Länge an Basenpaaren von jedem DNA-Fragment, dass ihn Ihrem Gel sichtbar ist. Beispielsweise können Sie die Laufstrecke des ersten Fragments auf der x-Achse der Standardkurve suchen und von dort eine vertikale Linie zum Schnittpunkt mit der Kurve ziehen. Von diesem Schnittpunkt aus ziehen Sie eine zweite horizontale Linie zur y-Achse. Der Schnittpunkt auf der y-Achse gibt die Länge des ersten Fragments in Basenpaaren an. Wiederholen Sie diese Vorgehensweise, bis Sie die Länge an Basenpaaren aller verbleibenden Fragmente

bestimmt haben. Tragen Sie Ihre Ergebnisse in die Tabelle 1 ein. Vergleichen Sie Ihre interpolierten Ergebnisse mit den tatsächlichen Werten, die Ihnen vom Lehrer mitgeteilt werden.

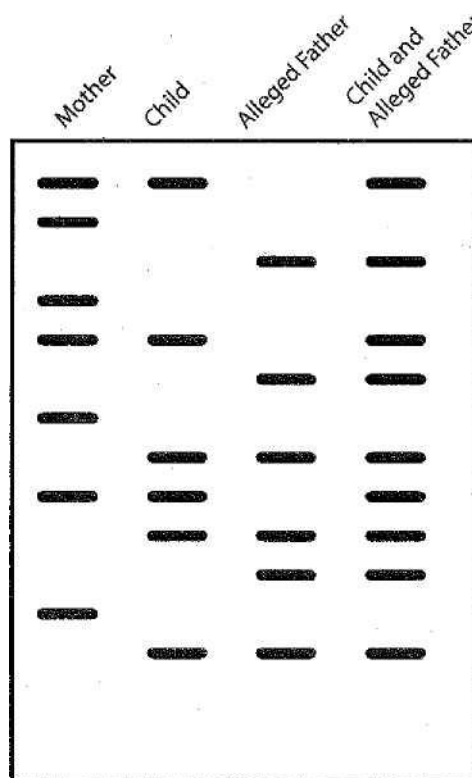
**Molekulargewichts-Standardkurve**





4. Vor der Entwicklung des genetischen Fingerabdrucks basierten Vaterschaftstests auf Blutgruppenbestimmungen, da die Blutgruppe eines Menschen von den Blutgruppen seiner Eltern abhängt. Da viele Menschen dieselbe Blutgruppe haben kann dieser Test nur dazu verwendet werden, um mögliche biologische Eltern auszuschliessen, aber nicht dazu, die tatsächlichen Eltern zu identifizieren. Demgegenüber kann der genetische Fingerabdruck Verwandtschaftsverhältnisse mit einem hohen Grad an Sicherheit anzeigen.

Die nachstehende Abbildung zeigt das Schema eines Autoradiogramms, welches das RFLP-Muster eines Kindes, seiner Mutter, des mutmaßlichen Vaters und eine Kombination von Kind und mutmaßlichem Vater zeigt. Beurteilen Sie anhand Ihrer Kenntnisse des genetischen Fingerabdrucks, ob der mutmaßliche Vater tatsächlich der biologische Vater des Kindes ist. Hinweis: Die Hälfte des Genoms eines Menschen stammt von jeweils einem Elternteil.



1. Sammeln Sie Artikel aus Zeitungen und Zeitschriften über Gerichtsfälle, in denen der genetische Fingerabdruck eine Rolle spielte. Welche Einwände bringen Rechtsanwälte typischerweise gegen diese Art der Beweisführung vor? Glauben Sie, dass der genetische Fingerabdruck für die Verurteilung eines Angeklagten ausreicht?

2. Untersuchen Sie zusätzlich, wie der genetische Fingerabdruck für die Diagnose vererbter Krankheiten, für die Behandlung dieser Krankheiten, für die Personenidentifikation, die Feststellung von Verwandtschaftsverhältnissen und für die Eingruppierung neuer Arten verwendet wird.
3. Untersuchen Sie zusätzlich die sozialen, legalen und ethischen Folgen der DNA-Technologie.

### **Wissenschaftliche Konzepte**

#### *Verwendete aber nicht enthaltene Materialien*

Handschuhe

Laborkittel

Schutzbrille

10 µl-Mikropipette

Pipettenspitzen

Elektrophoresekammer

Stromquelle

Biotechnologische Anwendungen

DNA-Struktur und -Funktion

Elektrophorese

Im Versuchskasten enthaltene Materialien:

DNA-Proben:

- DNA vom Tatort, 150 µl
- DNA vom Opfer, 150 µl
- DNA vom Verurteilten, 150 µl
- DNA vom geständigen Häftling, 150 µl

125 ml TBE Pufferkonzentrat, 20 x

400 ml Melt & Cast Agarosegel, 0,8 %

100 ml Neo/Blue DNA-Färbelösungskonzentrat, 10 x

## Färbewanne

### *Anmerkungen*

1. Obwohl die DNA-Proben bei Raumtemperatur stabil sind wird empfohlen, sie bis zur Benutzung im Tiefkühlschrank aufzubewahren.
2. Die DNA-Proben enthalten einen Farbstoff zur Beobachtung der Laufstrecke sowie Saccharose. Die Saccharose führt zu einer im Verhältnis zum Laufpuffer höheren Dichte der DNA-Probe, sodass diese auf den Boden der Tasche sinken kann.
3. Der TBE-Puffer, die Agarose und das Neo/Blue DNA-Färbelösungskonzentrat können bei Raumtemperatur gelagert werden.

## Vorbereitung

### *Laufpuffer*

Zur Herstellung des 1 x TBE-Laufpuffers geben Sie 380 ml (vorzugsweise destilliertes) Wasser zu 20 ml 20 x TBE Pufferkonzentrat. Die resultierenden 400 ml an Laufpuffer reichen aus, um zwei übereinander gestapelte Agarosegele in der Neo/SG Elektrophoresekammer laufen zu lassen.

### *Agarosegel*

Vorsicht: Tragen Sie hitzeresistente Handschuhe und eine Schutzbrille, wenn Sie mit heißen Flüssigkeiten arbeiten.

Vor dem Giessen der Gele drehen Sie den Verschluss der Agaroseflasche etwas auf, stellen die Flasche in die Mikrowelle und erhitzen sie in EINMINÜTIGEN Intervallen, bis die Agarose sich vollständig aufgelöst hat. Nehmen Sie die Flasche unter Verwendung der hitzeresistenten Handschuhe heraus und lassen Sie sie auf 55°C abkühlen, bevor Sie die Gele giessen.

Anmerkung: Um Zeit zu sparen können Sie die Gele schon vor dem Unterricht giessen und sie in Plastikbeuteln mit Reißverschluss gekühlt aufbewahren. Alternativ dazu können Sie auch die Schüler die Gele selbst giessen lassen.

### Neo/Blue DNA-Färbelösung

Zur Herstellung der Neo/Blue DNA-Färbelösung in Arbeitskonzentration geben Sie 90 ml warmes Leitungswasser zu 10 ml des Neo/Blue DNA-Färbelösungskonzentrats (10 x). Die resultierenden 100 ml an Färbelösung reichen aus, um zwei Agarosegele in der enthaltenen Färbewanne zu färben.

Stellen Sie sicher, dass die Schüler sich genau an die Sicherheitsvorschriften des Labors halten, so wie Sie sie erklären.

Die Schüler sollten stets eine Schutzbrille und einen Laborkittel tragen, um Ihre Augen und Ihre Kleidung zu schützen, wenn Sie mit Chemikalien arbeiten.

Die Schüler sollten angewiesen werden, mit ihren Händen nicht ihr Gesicht oder ihren Mund zu berühren.

Die Schüler sollten vor dem Verlassen des Labors immer ihre Hände waschen.

Tragen Sie hitzeresistente Handschuhe und eine Schutzbrille, wenn Sie mit heißen Flüssigkeiten arbeiten.

Sorgen Sie dafür, dass die Schüler die notwendigen Sicherheitsvorkehrungen einhalten, wenn Sie mit elektrischem Strom arbeiten. Überzeugen Sie sich davon, dass alle Verbindungsstellen, Stecker und Oberflächen trocken sind, bevor die Elektrophorese-Apparatur benutzt wird.

Lassen Sie am Ende des Versuches die Schüler alle Abfälle gemäß Ihren Anweisungen entsorgen.

Alle Flüssigabfälle aus diesem Versuch können entsorgt werden, indem sie mit viel Wasser im Waschbecken weggespült werden. Benutzte Gele können im Mülleimer entsorgt werden.

Anmerkung: Die DNA-Proben in diesem Versuch sind nicht menschlichen Ursprungs. Sie stammen von einem Bakteriophagen und erfordern keine besondere Behandlung. Das im Gel erhaltene Bandenmuster ist nur eine Repräsentation echter Ergebnisse.

## **Situationsdarstellung**

An einem frühen Morgen im Jahr 1985 wurde die Polizei zum Tatort eines Mordes gerufen. Aufgrund von Zeugenaussagen und anderer Beweismittel wurde ein Verdächtiger inhaftiert. Obwohl er seine Unschuld beteuerte wurde er am Ende eines langwierigen Prozesses für schuldig befunden. Während seiner Zeit im Gefängnis gestand ihm ein anderer Häftling die Tat, um sein Gewissen zu erleichtern, doch ihm wurde nicht geglaubt.

Zwischenzeitlich wurden mehrere Ersuchen auf eine Wiederaufnahme des Verfahrens aufgrund der unveränderten Beweislage abgelehnt. Ein von der Polizei sichergestelltes Beweismittel stellt ein Kleidungsstück dar, auf dem Blut des Opfers gefunden worden war. Eine Blutgruppenuntersuchung ergab die Blutgruppe AB. Leider hatten sowohl das Opfer als auch der Verdächtige diese Blutgruppe. Bis vor kurzem war es daher nicht möglich zu

entscheiden, ob das Blut vom Opfer, vom Verdächtigen oder von einer dritten Person stammt. Dieses Blut enthält DNA, welche entweder den Verurteilten eindeutig mit dem Verbrechen in Zusammenhang bringen kann oder ihn ein für alle mal entlastet.

Als Mitglied eines rechtsmedizinischen Labors wurden Sie für die wichtige Aufgabe ausgewählt, das wichtigste Beweismittel zu liefern, aufgrund dessen der Verurteilte entweder endgültig überführt oder aber freigelassen wird! Sein Leben ist in Ihrer Hand! Wenn Sie einen Fehler machen kann das dazu führen, dass entweder ein Unschuldiger inhaftiert bleibt oder aber ein Mörder freigelassen wird!

Um diesen wichtigen Beweis zu führen werden Sie eine vereinfachte Version des genetischen Fingerabdrucks durchführen, damit Sie entscheiden können, ob das am Tatort gefundene Blut vom Opfer, vom Verurteilten oder aber von dem geständigen Häftling stammt.

1. Unter der Annahme, dass Ihr Gel das Bandenmuster eines Autoradiogramms repräsentiert: Stammt die am Tatort gefundene DNA vom Opfer, vom Verurteilten oder vom geständigen Gefangenen?  
Nach der Anzahl der Banden und der Basenpaarlänge jedes Fragments scheinen die Muster in den Gelspuren 1 und 4 identisch zu sein. Daher ist es höchst wahrscheinlich, dass die DNA vom geständigen Häftling stammt.
  
2. Wie würde das Autoradiogramm aussehen, wenn Sie den Versuch zur Bestimmung des genetischen Fingerabdrucks durchführen würden und dabei den folgenden Schritt weglassen würden?
  - a) Den DNA-Verdau mit den Restriktionsenzymen  
Restriktionsenzyme schneiden die DNA an spezifischen Stellen und erzeugen so die RFLP-Fragmente. Ohne diesen Schritt würden die RFLP-Fragmente nicht entstehen und die DNA würde aller Voraussicht nach überhaupt nicht durch das Gel laufen, weil sie zu groß wäre.
  
  - b) Die Gelelektrophorese  
Die Gelelektrophorese ist ein essentieller Schritt beim genetischen Fingerabdruck, da nur hierdurch die DNA-Fragmente entsprechend ihrer Größe aufgetrennt werden können.
  
  - c) Die Denaturierung der DNA in die Einzelstränge  
Dieser Schritt ist die Voraussetzung dafür, dass die Nukleotidbasen der DNA an die komplementären Basen der markierten Probe binden können.

d) Der Transfer der Einzelstrang-DNA auf das Nitrozellulosepapier  
Durch diesen Schritt wird die DNA fest an das Papier gebunden, sodass sie sich nicht weiter bewegen kann und auch nicht abgebaut wird.

e) Die Hybridisierung der DNA  
Um die DNA eines Verdächtigen von der eines anderen zu unterscheiden wird eine radioaktive Probe verwendet, die spezifische DNA-Sequenzen in jeder unbekanntem Probe bindet.

f) Die Autoradiographie

In diesem Versuchsschritt schwärzt die radioaktive Probe einen Röntgenfilm, der auf das Nitrozellulosepapier gelegt wurde, an denjenigen Stellen, an denen die Probe gebunden hat. Die RFLP-Fragmente werden dann als schwarze Banden auf dem entwickelten Röntgenfilm sichtbar.

3. Diskutieren Sie die Aussagekraft und die kontroversen Aspekte des genetischen Fingerabdrucks mit Ihren Klassenkameraden. Ein Großteil der gegenwärtigen Debatte stammt nicht aus der wissenschaftlichen Gemeinde, sondern aus Gerichtsfällen, in denen jemand eines Verbrechens angeklagt ist. Eine Reihe von Einwänden wurden vor Gericht erhoben, zu denen die Handhabung von Beweismaterial durch die Polizei und die statistische Basis zur Berechnung der Wahrscheinlichkeiten in einer gegebenen Bevölkerung gehören. Trotz dieser Einwände ist der genetische Fingerabdruck unzweifelhaft das beste verfügbare forensische Beweismittel.