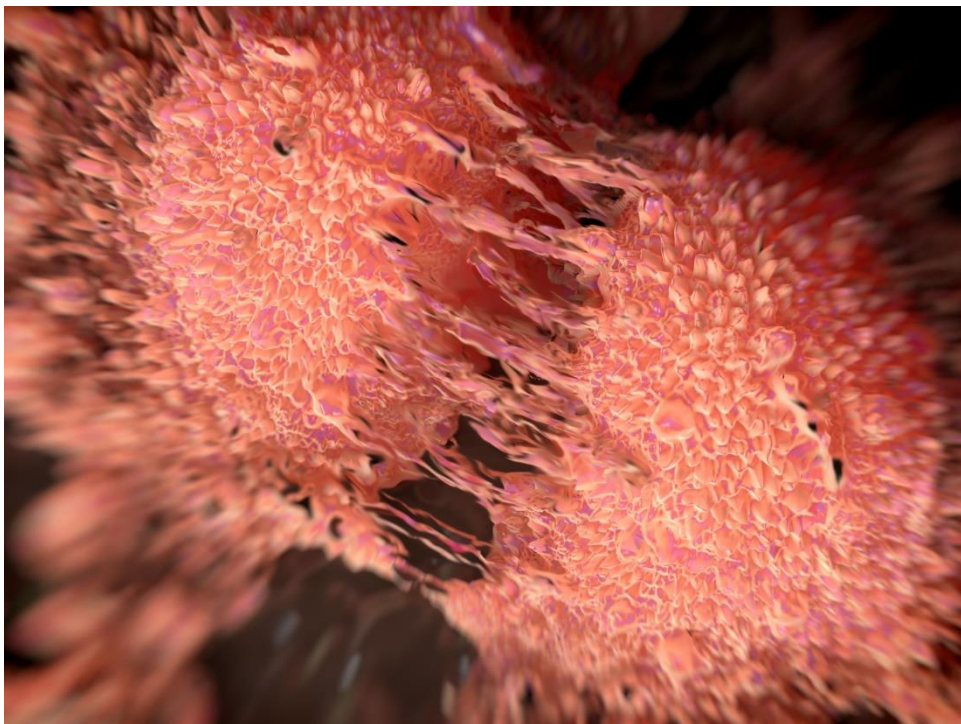


Genetikk:

DNA, DNA fingerprinting og celledeling



Navn: _____

Klasse: _____

KOMPETANSEMÅL I LÆREPLANEN

Læreplan i biologi - programfag i studiespesialiserende utdanningsprogram

- Biologi 2
 - Bioteknologi
 - gjere greie for framstilling av genetiske fingeravtrykk, og korleis dei kan brukast i rettsmedisin og i studium av slektskap mellom individ og grupper av organismar

Læreplan i teknologi og forskningslære - programfag i studiespesialiserende utdanningsprogram

- Teknologi og forskningslære X
 - Teknologi, naturvitenskap og samfunn
 - beskrive prinsipper og virkemåte for noen moderne instrumenter i industri, helsevesen eller forskning, og gjøre rede for nytten og eventuelle skadevirkninger
- Teknologi og forskningslære 1
 - Teknologi, naturvitenskap og samfunn
 - beskrive prinsipper og virkemåte for noen moderne instrumenter i industri, helsevesen eller forskning, og gjøre rede for nytten og eventuelle skadevirkninger

Lenke til film om DNA fingerprinting

<https://www.youtube.com/watch?v=DbR9xMXuK7c>

Øvelse i pipettering

Før du skal pipetere DNA inn i gelens brønner bør du øve deg på å holde pipetten rolig og øve deg på å suge opp riktig antall ml væske. Det er viktig å greie å holde pipetten helt stille når du skal overføre DNA til gelbrønnen. Pipettespissen må ikke trenge gjennom gele ved pipettering.

Pipetter følgende mengder til eppendorfrør:

15 µl, 20 µl,

1. Still pipetten inn slik at riktig mengde ml (først 15 µl og deretter 20 µl)
2. Trykk pipetten halvveis ned til du føler et lite stopp (innstilt mengde)
3. Før pipetten ned i dramsglassets væske og slipp sakte opp
4. Riktig mengde væske skal nå være i pipetten
5. NB! Snu ikke pipetten på hodet slik at væsken trenger inn i filteret på pipetten
6. Bruk begge hender. Overfør pipetterert væske til prøvegelens brønner. NB! la ikke pipettespissen trenge ned i gelen.
7. Gjør det samme flere ganger for å øve deg.

Virusutbrudd og virusjakt

Utbrudd! Fingeravtrykk Virus DNA

Det er år 2016. Du er utdannet som molekylærbiolog og jobber for Senter for Sykdomskontroll (SSK). I SSK jobber du med å kartlegge ulike epidemier og overvåke begynnende sykdomsutbrudd.

For fem år siden, i en isolert by i nordøst Alabama oppsto det en mengde tilfeller av viral hemorragisk (blødende) feber (VHF). Omtrent 30 % av de smittede døde av sykdommen. Det mest foruroligende med denne sykdommen var at den var veldig smittsom fra menneske til menneske, med økt fare for epidemisk utbrudd. Medisinske myndigheter, inkludert ditt kontor, tror at den eneste grunnen til at utbruddene ikke utviklet seg til epidemi, var fordi byen i Alabama var så liten og isolert. Ett SSK team sporet sykdommen tilbake til ett virus som de lokale ekornene bærer med seg. En storstilt aksjon ble satt i gang i ett forsøk på å utrydde viruset ved å fange og tilintetgjøre alle de smittede ekornene. Etter dette er det ikke påvist utbrudd i Alabama.

For tre år siden oppsto det ett mistenkelig utbrudd i Pennsylvania. Mange ble syke med VHF. Symptomene på sykdommen var de samme som man fant i Alabama, men nå var det ingen som døde. Feberen i Pennsylvania var tydeligvis mindre smittsom enn den i Alabama. Denne konklusjonen ble trukket ettersom flere folk ikke ble smittet av sykdommen etter å ha blitt utsatt for pasientene med sykdommen. Likevel ble Pennsylvania viruset også sporet til den lokale ekornbestanden.

Som ansatt i SSK blir din oppgave nå å sammenligne virusene som forårsaket de to utbruddene. Du fant ut at virusene så like ut. Begge virusene hadde DNA genom, men basesekvensene i genomet var forskjellige på flere steder. Det betyr at de to virusene ikke er av samme typen.

Tre personer har nå blitt syke av VHF i Missouri. Symptomene er de samme som de i Alabama og Pennsylvania. Lokale leger ble tilkalt og de ringte til SSK for å avgjøre om det farlige Alabama viruset hadde kommet tilbake. Pasientene ble satt i isolat. Du blir straks flydd til Missouri for å undersøke saken nærmere.

Du må snarest avgjøre om Missouri pasientene er blitt smittet med det svært dødelige og smittsomme Alabama viruset, det mindre farlige Pennsylvania viruset eller et annet og ukjent virus.

En av teknikkene du bestemmer deg for å bruke er undersøkelser av virus DNA ved restriksjonsanalyser. I restriksjonsanalysen kutter du DNA på bestemte steder i genomet før du sammenligner DNA sekvensene i en gelelektroforese.

Du har allerede DNA fra Pennsylvania og Alabama virusene. I Missouri må du ta prøver fra de smittede pasientene. Siden pasientene er på isolat bruker du beskyttelsesklær. Prøvene legger du på is før du flyr tilbake til SSK laboratoriet for videre bearbeidelse. Først isolerer du viruset, deretter ekstraherer du DNA.

Nå har du DNA fra Pennsylvania, Alabama og Missouri. Disse kutter du med restriksjonsenzymmer på spesifikke plasser i DNA genomet. Tiden er nå inne for å sammenligne DNA sekvensene fra de ulike stedene. Dette gjør du ved kjøre DNA sekvensene i en gelelektroforese.

Tillaging og støping av gel

*Utstyr: Alabama virus DNA 20 µl, Missouri virus DNA 20µl, Pennsylvania virus DNA 20µl, TAE buffer, Agarose, pipette, CarolinaBLU gel og Buffer farge, CarolinaBLU Gel og avslutningfarge, **engangshansker, briller** og elektroforesesett, maskeringstape, Stativ, beholder til 1x TAE buffer, varmebad, kokende vann, kokeplate, aluminiumsfolie, tusj, mikrosentrifuge, NB! Vis forsiktighet under arbeidet. Bruk hansker. Når elektroforesen er den koblet til strøm. Man må ikke berøre gelen.*

DEL A. Tillaging av TAE Buffer

Ta 75 ml TAE og bland med 3,7 liter demineralisert vann. Rør godt.

Støping av agarose gel (en gruppe lager gel til alle)

Hver gel består av ca 50 ml agaroseløsning.

Oppskrift til 5 geler

- Bland 5,5 gram agarosepulver med 375 ml TAE Buffer i en Erlenmeyerkolbe
- Varm blandingen i mikrobølgeovn til det koker. Det må ikke koke over.
- Gjenta dette 2-3 ganger til alt pulveret er løst.
- Tilsett CarolinaBlu farge til agarosen RETT FØR du heller agarose i karet. Til 450 ml trenger du 8 dråper.

Forberedelse av støpekaret

1. Forsegl endene på støpekaret med teip eller endestykke.
2. Sett i kammene ved sort bånd, og plasser støpekaret slik at det kan stå i ro på en jevn overflate.
3. Hell forsiktig agaroseløsningen i støpekaret slik at det dekker bunnen med ca. 5 mm. Gelen skal kun dekke 1/3 av kammens høyde. Bruk en pipettespiss eller lignende til å flytte store bobler til siden eller enden av formen mens gelen fremdeles er flytende.
4. La karene stå helt i ro til agarosen har størknet. Agarosen vil gå fra klar til uklar i utseende mens den størkner (ca. 10 min).

5. Når gelen har stivnet fjerner du teipen i endene på støpekaret alternativt de blå plastendene. La kammene bli værende.
6. Plasser støpekaret i elektroforesekaret, slik at kammen er i den negative (sorte) enden.
7. Mål opp 500 ml TAE-buffer i et måleglass. Tilsett 14 dråper CarolinaBlue til bufferen. Rør godt.
8. Hell TBE buffer i elektroforesekaret slik at den går ca. 0,5 cm over gelen.
9. Fjern kammen forsiktig slik at du ikke ødelegger brønnene.
10. Vær obs på at prøvebrønnene skal være fullstendig dekket med buffer. Etterfyll med mer buffer om nødvendig.
11. Gelen er nå klar til å bli lastet med DNA.

Merk: Dersom dette er slutten på økten, må du dekke til elektroforesekaret slik at gelen ikke tørker ut.

DEL B. Last gelen

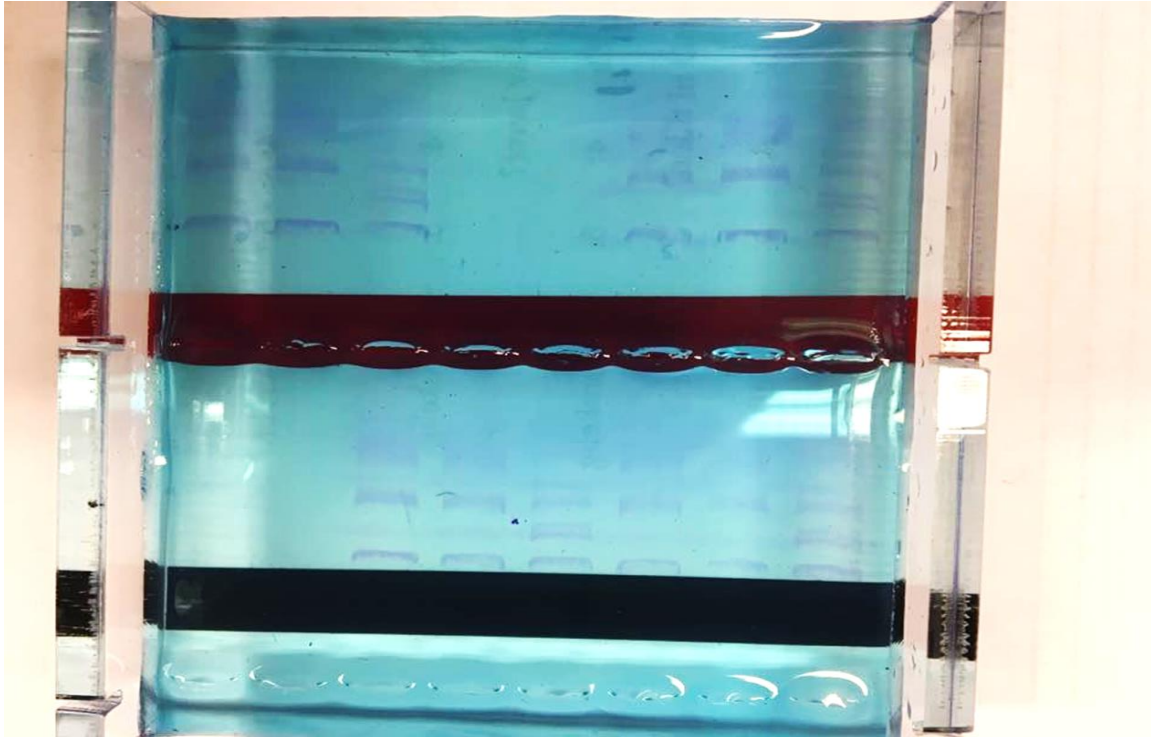
Bruk mikropipette til å overføre innholdet fra eppendorfrørene til brønnene. Bruk en ny pipettespiss for hvert rør. NB! Nå bør du ha øvet deg!

1. Merk hvilket DNA som settes hvor. Bruk litt teip og skriv navnet på viruset
2. Sentrifuger DNA-eppendorfrørene slik at all DNA ligger i bunnen av røret
3. Fyll pipetten med DNA prøven fra et prøverør.
4. Bruk alltid to hender for å holde pipetten mest mulig i ro over brønnen som skal fylles
5. Vær oppmerksom på at det ikke skal være noe luft i pipettespissen før du fyller brønnen. (Dersom en luftboble danner et lag over brønnen vil DNA prøven flyte rundt kantene av brønnen i stedet for å komme ned i selve brønnen.)
6. Senk pipettespissen gjennom overflaten av bufferen, plasser den over brønnen og sprøyt sakte ut blandingen. Til alle DNA prøvene er det tilsatt sukrose som gjør at prøvene synker ned i brønnen. Vær forsiktig slik at ikke pipettespissen går gjennom bunnen av gelen.

DEL C. Elektroforese

1. Sett på lokket til elektroforesekaret, å koble ledningene til strømforsyningen. Anode mot anode og katode mod katode.
2. Skru på strømmen og still spenning på 150 volt. Kort tid etter strømmen er skrudd på, kan du se fargestoff fra DNA prøvene bevege seg mot den positive polen. Følg med hvordan DNA-båndene beveger seg og stopp strømmen om de kommer for nær kanten. Det skal ta ca. 25 minutter for doble geler og 45 minutter for enkle geler.
3. Fargestoffet vil dele seg i to fargede bånd. Det lilla båndet som beveger seg hurtig er fargen bromfenolblå, mens det blå båndet som beveger seg saktere er xylenecyanol. Bromfenolblå beveger seg gjennom gelen med samme hastighet som et DNA fragment på ca. 300 basepar. Xylenecyanol beveger med omtrent samme fart som et DNA fragment på 2000 basepar.

4. Kjør elektrofoesen helt til det lilla båndet er ca 2 cm fra enden av gelen.
5. Skru av strømmen og ta ut alle ledninger og fjern toppen av elektroforesekaret.
6. Fjern forsiktig støpekaret, marker med ditt gruppenavn og ta gelen med til læreren for farging.



Spørsmål

1. Sammenlikn fingeravtrykkene fra Pennsylvania, Alabama og Missouri virus. Kan du si noe om hvilken type virus som har smittet Missouri pasientene.

2. Hvorfor vil DNA fingeravtrykket fra to ulike virustyper bli forskjellige?

3. *Hvilken effekt vil resultatene dine ha på hvordan myndighetene vil håndtere et eventuelt utbrudd?*

4. *På hvilken måte ville resultatene være forskjellig om viruset du undersøker ikke er relatert til noen av virusstammene du sammenligner med?*

Celledeling hos planter

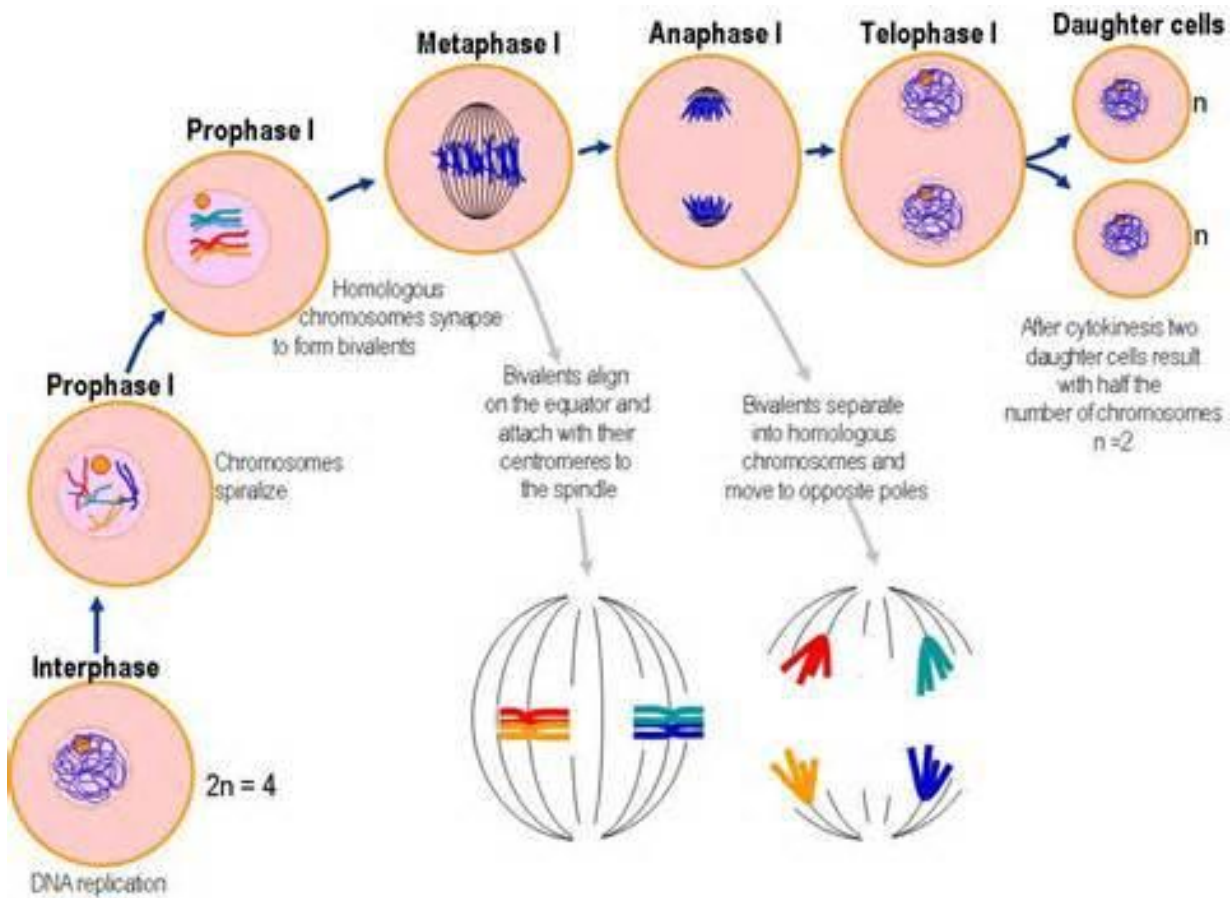
Oppgave 1:

Utstyr: Mikroskop, ferdig mikroskoppreparat av celler, skrivesaker

- Gjør deg kjent med mikroskopet slik at du får best mulig utbytte av bruken
- Legg på mikroskoppreparatet
- Bruk minste forstørrelse (40x), still skarpt og øk forstørrelsen til du ser maksimalt med detaljer. NB!
Ikke bruk 1000x
- Tegn celledelingen du ser i mikroskopet. Bruk gjerne farger også.



Celledeling hos celler i løkrot

**Oppgave 2:**

Utstyr: rot fra frø, skalpell, lupe, dekkglass, objektglass, vann, jod

Fremgangsmåte:

- Lag et preparat av rotspissen av løken. Snitt så tynn skive du kan av rotspissen. Bru gjerne lupe når du kutter for å få snittet så tynt som mulig.
- Bruk pinsett og legg løkbiten flatt på objektglasset
- Drypp på en dråpe jodløsning på løkskiven
- Legg på dekkglass
- Se på objektet i mikroskopet og tegn det du ser.

- f. Se om du kan finne og tegne eksempler på de ulike fasene i celledelingen.



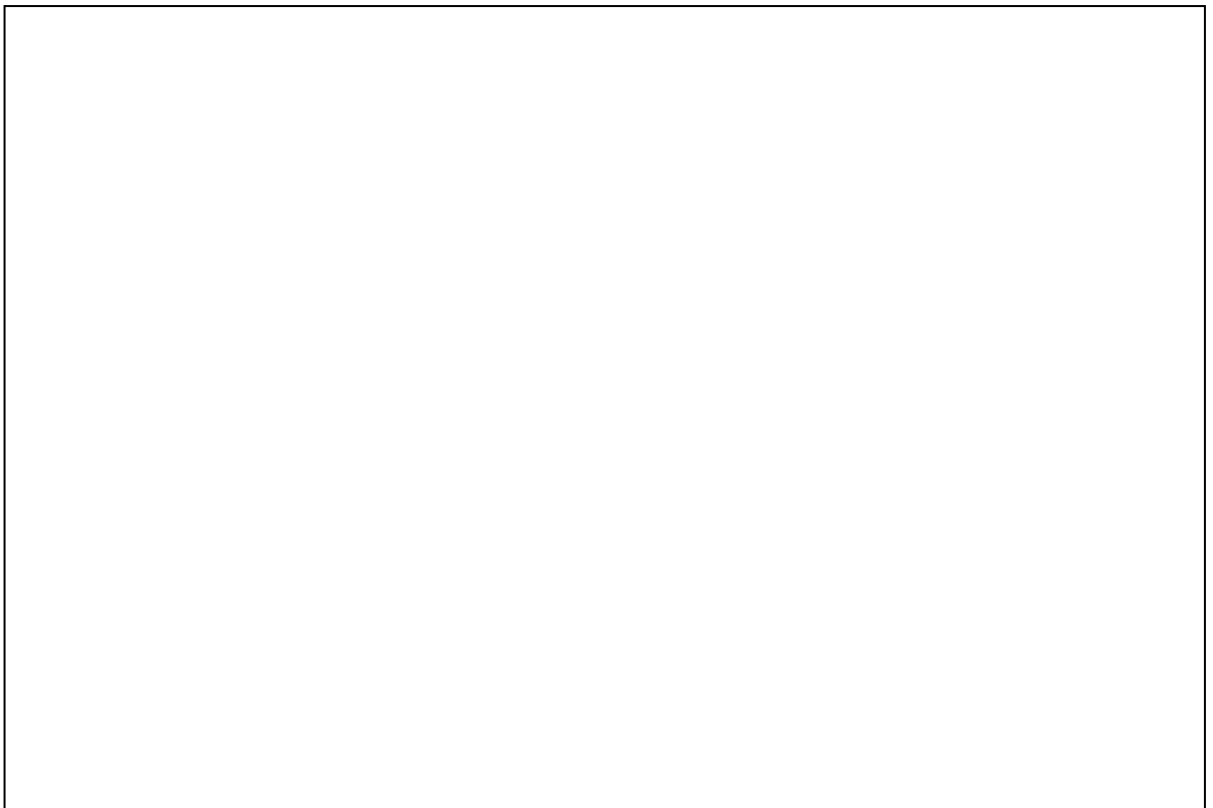
Ekstraksjon av DNA fra Kiwi

Alt levende har DNA (arvestoff) i cellene sine. DNA er som en kokebok, og her ligger det mange oppskrifter som gjør deg til deg,- eller som i dette tilfellet, en kiwi til en kiwi.

Utstyr: Kiwi, kniv, filtrerpapir, reagensglass, ½ teskje salt, rødsprit (i fryseren), begerglass, 3 ml Zalo, vannbad, termometer, klinkekule (til å riste blandingen i reagensrøret)

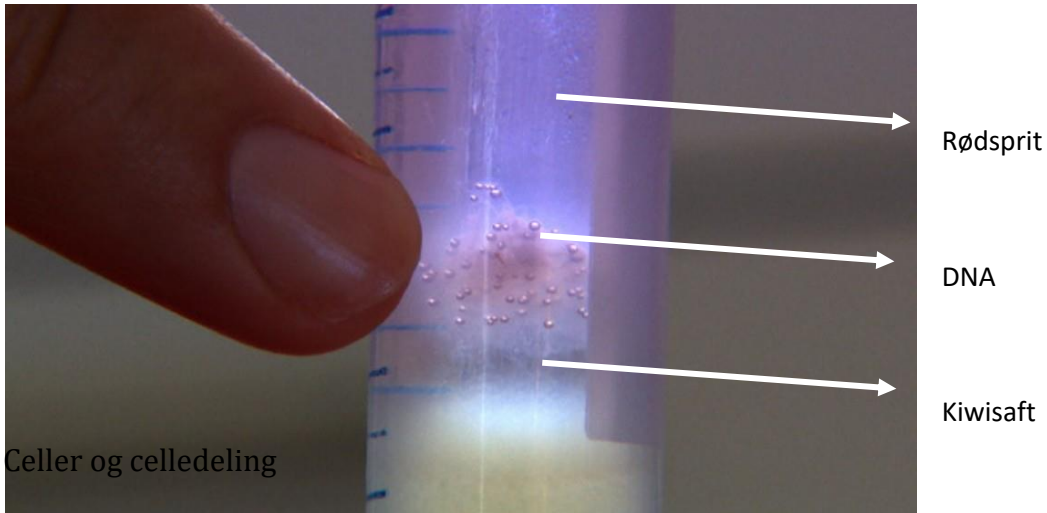
Fremgangsmåte:

- a) Skrell kiwien og kutt den i små biter.
- b) Ha bitene i et reagensrør
- c) Tilsett litt vann
- d) Tilsett 3 ml Zalo
- e) Tilsett ½ ts salt
- f) Tilsett 1 klinkekule
- g) Sett på en isoporkrage på reagensrøret og sett reagensrøret i vannbad på 60 grader
- h) Ta røret opp etter 3 minutter og rist godt



- i) Filtrer deretter blandingen gjennom filtrerpapiret og ha saften i et nytt reagensrør
- j) Tilsett litt iskald rødsprit forsiktig
- k) Undersøke de tre lagene som oppstår i reagensrøret og finn laget med DNA.
- l) Bruk en tannstikke for å «fiske» opp DNA
- m) Dette er kondensert DNA ☺

n)



VI starter med å se en film som forklarer celleånding (se link under)

<https://nb.khanacademy.org/science/biology/cellular-respiration-and-fermentation/pyruvate-oxidation-and-the-citric-acid-cycle/v/krebs-citric-acid-cycle>

Anonym Vurdering av feltkurset (Rives av å leveres til Horten natursenter)

1. Svarte feltkurset til dine forventninger?

uenig ← 1: 2: 3: 4: 5: → helt enig

Hvis "uenig" (hvorfor):

2. Hvor gode forkunnskaper hadde du før feltkurset?

Lite ← 1: 2: 3: 4: 5: → mye

Hva er din mening om følgende deler av feltkurset:

3. Innholdet?

Dårlig ← 1: 2: 3: 4: 5: → svært bra

4. Vanskelighetsgrad?

Lett ← 1: 2: 3: 4: 5: → vanskelig

5. Muligheter for å få hjelp av lærer?

Lett ← 1: 2: 3: 4: 5: → vanskelig

6. Arbeidsmengde i forhold til tiden?

Lite ← 1: 2: 3: 4: 5: → mye

7. Egen innsats og engasjement

Lite ← 1: 2: 3: 4: 5: → mye

8. Hva var mest positivt ved feltkurset?

9. Hvilke forbedringer ønsker du deg?
