



Huntington

Een ziekte in de stamboom



Doelgroep

vwo 5/6



Vak

Biologie



Duur

2/3 lessen



Vaardigheden

Onderzoeksvaardigheden
Pipetteren

Deze docentenhandleiding is een toelichting bij de les 'Huntington: Een ziekte in de stamboom'. Deze les is een onderdeel van WisMon's Schoollabs. De lessen in deze leerlijn sluiten aan bij de vakleerdoelen van het SLO en de syllabus van het CvTE.

In deze les helpen leerlingen de familie van Nico, waarin de ziekte van Huntington voorkomt. Ze stellen een stamboom op om de familiegeschiedenis te bestuderen en analyseren het DNA van een aantal familieleden. Hierbij gebruiken ze hun kennis over DNA, voeren ze zelf een gelelektroforese uit en trekken ze conclusies uit hun resultaten.

Inhoudsopgave

Didactische verantwoording.....	blz 3
Lesopzet.....	blz 4
Begeleiding stamboomopdracht....	blz 5
Vorbereiding practicum.....	blz 6
Begeleiding practicum.....	blz 8
Toelichting.....	blz 9
Antwoordmodel.....	blz 10
Achtergrondinformatie.....	blz 14
Bijlage I: Stambomen.....	blz 15
Bijlage II: PCR.....	blz 16
Bijlage III: Gelelektroforese.....	blz 18

Didactische verantwoording



Leerdoelen

- » Leerlingen maken kennis met de genetica van de ziekte van Huntington.
- » Leerlingen kunnen hun kennis over DNA toepassen in een nieuwe context.
- » Leerlingen kunnen een stamboom maken op basis van gekregen informatie.
- » Leerlingen kunnen een experiment met gelelektroforese uitvoeren en begrijpen.
- » Leerlingen kunnen uit hun resultaten conclusies trekken en een advies uitbrengen.



Aansluiting syllabus

Deze les sluit aan bij de volgende subdomeinen en deelconcepten uit de syllabus biologie vwo van het College voor Toetsen en Examens (CvTE):

- » A5. Onderzoeken
- » B1. Eiwitsynthese: nucleotide, genetische code, PCR, primer
- » C1. Zelforganisatie van cellen: DNA, chromosoom, eiwit
- » E3. Reproductie van het organisme: gen, allel, autosomen, genotype, fenotype, dominant, recessief, monohybride kruising, stamboom
- » F1. Selectie: mutatie

Benodigde voorkennis

Voorafgaand aan het practicum is het belangrijk dat leerlingen enige voorkennis hebben over de bouw van DNA, erfelijkheid, monohybride kruisingen, stambomen, gelelektroforese en PCR. Mocht dit nog niet in de reguliere lessen aan bod zijn gekomen, dan raden wij aan dit voor het practicum te behandelen. Je kunt hierbij Bijlagen I, II en III op blz. 15-18 gebruiken.

Inbedding curriculum

Deze les kan worden ingezet als vervanging van een (theorie)les over PCR en gelelektroforese, of als aanvulling hierop.

Moleculaire biologie

Moleculaire biologie is de afgelopen jaren een steeds belangrijker deel geworden van het biologiecursus. De bijbehorende DNA-technieken kunnen worden ervaren als abstracte, lastige onderwerpen als deze puur theoretisch worden behandeld. Als leerlingen de technieken echter zelf kunnen uitvoeren, zoals in dit practicum, zullen zij het gemakkelijker begrijpen en onthouden.

Organisatieniveaus

Cruciaal voor een goed begrip van moleculaire biologie is het leggen van de link tussen de verschillende organisatieniveaus van de biologie: welk effect hebben moleculaire processen op het organisme? Hier wordt in WisMon's Schoollabs continu naar gestreefd.

Concept-contextmethode

Elk practicum van WisMon's Schoollabs is gekoppeld aan een relevante context, waardoor het nut van de DNA-technieken meteen duidelijk wordt. De practica sluiten daarom naadloos aan bij de concept-contextmethode die de afgelopen jaren in het voortgezet biologieonderwijs is geïmplementeerd. Deze methode houdt in dat concepten uit de lesstof gekoppeld worden aan een maatschappelijke context. Dit kan een context zijn uit de leefwereld van leerlingen, een beroepscontext of een wetenschappelijke context. Het doel hiervan is de samenhang en relevantie van de lesstof te vergroten. De concept-contextmethode draagt bij aan de motivatie en wetenschappelijke vaardigheden van leerlingen. In de practica van WisMon's Schoollabs worden concepten rondom DNA-technieken daarom gekoppeld aan uiteenlopende contexten uit het dagelijks leven, beroepen en de wetenschap.

Practicumonderwijs met WisMon

Bij WisMon zien we practica als essentieel onderdeel van het bètaonderwijs. We streven er daarom naar om practicumonderwijs makkelijk, modern en motiverend te maken. WisMon's Schoollabs past binnen deze visie door het aanbieden van moderne, eenvoudig te bedienen apparatuur en kant-en-klaar lesmateriaal, waarbij de contexten tot de verbeelding spreken en leerlingen lekker zelf aan de slag gaan.

Lesopzet

Hieronder vind je een indicatie van de tijdsduur van de verschillende onderdelen van de les. In het kader hiernaast is een voorbeeld gegeven van hoe dit verdeeld kan worden over verschillende lesuren. Dit kan natuurlijk ook anders worden ingedeeld.

Vorbereiding 60 min. ⌄

- Lees deze handleiding door.
- Lees de leerlingenhandleiding door.
- Zet het practicum klaar (zie 'Vorbereiding practicum', blz. 6).

Introductie 5-30 min. ⌄

Afhankelijk van de voorkennis van de leerlingen kan een theoretische uitleg nodig zijn voorafgaand aan het practicum (zie 'Didactische verantwoording', blz. 3). Bespreek in ieder geval de context van het practicum. Indien dit de eerste keer is dat leerlingen gaan werken met een pipet, raden we aan ook het gebruik hiervan kort toe te lichten. Let op: als zowel de theorie als het pipetteren volledig nieuw zijn voor de leerlingen, duurt de introductie mogelijk langer dan een half uur.

Opdracht stamboom 50 min. ⌄

Leerlingen maken een stamboom op basis van gekregen informatie (zie losse leskaarten) en beantwoorden vragen hierover. Ze kunnen de stamboom invullen op de uitneembare poster in de middenvouw van de leerlingenhandleiding.

Vorbereidende vragen 20 min. ⌄

Leerlingen maken de voorbereidende vragen, waarbij ze bekijken welke resultaten ze kunnen verwachten in het practicum en hoe ze hieruit conclusies kunnen trekken.

Suggestie lesindeling

Les 1:

- Introductie
- Opdracht stamboom*

Les 2:

- Vorbereidende vragen

Les 3:

- Practicum
- Afsluiting

* Bij weinig tijd kun je ervoor kiezen de stamboomopdracht weg te laten en de correcte stamboom aan de leerlingen te geven. De hele les past dan in 2 lesuren.

Practicum 50 min. ⌄

Leerlingen voeren in groepjes het practicum uit, leggen hun resultaten vast en ruimen alle materialen weer op na afloop.

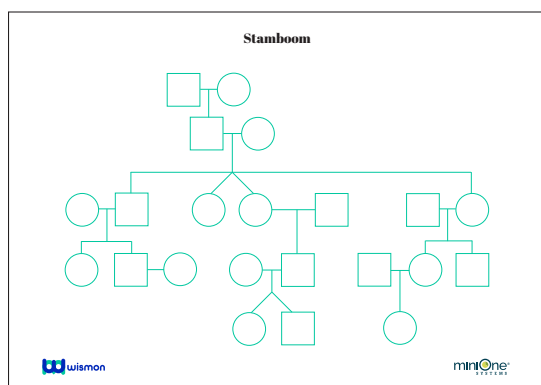
Afsluiting 15 min. ⌄

Leerlingen maken met hun groepje de afsluitende vragen en reflectievragen, waarbij ze conclusies trekken op basis van hun resultaten en terugkijken naar het practicum. We raden aan het practicum klassikaal na te bespreken.

Begeleiding stamboomopdracht

Materialen

Tijdens de stamboomopdracht vullen leerlingen een stamboom in op basis van informatie over de familie van Nico. Ze krijgen deze informatie in de vorm van de leskaarten die hieronder zijn weergegeven. Leerlingen kunnen de stamboom invullen op de uitneembare poster in de middenvouw van de leerlingenhandleiding.



Bijlage stambomen

Op blz. 15 van deze docentenhandleiding is een bijlage over stambomen te vinden. Deze bevat de essentiële voorkennis over stambomen die leerlingen nodig hebben om de opdracht te kunnen maken. Het is dus verstandig dit met de leerlingen te bespreken als dit nog niet in de lessen aan bod is gekomen. Daarnaast bevat deze bijlage een aantal tips voor het verwerken van de gekregen informatie in de stamboom, die je eventueel ook kunt bespreken met de leerlingen.

Werkvorm

Tijdens stap 1 van de stamboomopdracht krijgt elk groepje leerlingen andere informatie over de familie. Er zijn namelijk vier verschillende leskaarten met informatie gegeven door respectievelijk familielid A, B, C en D. Verdeel deze kaarten over de groepjes. Tijdens stap 3 wordt de informatie uitgewisseld tussen de groepjes, zodat elk groepje een complete stamboom kan invullen. Je kunt zelf bepalen welke werkvorm je hiervoor gebruikt. Denk bijvoorbeeld aan expertgroepjes: elk groepje bestudeert samen de leskaart van één familielid en vervolgens hergroeperen de leerlingen zich, zodat in elk nieuw groepje één expert van elke leskaart zit en de informatie uitgewisseld kan worden. Je kunt dit natuurlijk ook op een andere manier doen. Tot slot krijgt elk groepje tijdens stap 4 nog genetische informatie om toe te voegen aan de stamboom. Dit staat op de groene leskaart, die voor elk groepje hetzelfde is.

Vorbereiding practicum

Algemeen

- » Voorafgaand aan het practicum moet een aantal zaken worden voorbereid en klaargezet. De benodigdheden hiervoor zijn steeds per stap aangegeven.
- » De doos bevat genoeg materiaal om 7 experimenten uit te voeren.
- » Ons advies is om groepjes van maximaal 4 leerlingen te maken. In dat geval kunnen dus 28 leerlingen deelnemen.

TAE-buffer maken

Voor de gelelektroforese is een Tris/Acetaat/EDTA (TAE)-buffer nodig. Het TAE is geleverd in een flesje gelabeld 'TAE concentrate'. Hiervan moet een 1:20 verdunning gemaakt worden.

1 Bereken de benodigde hoeveelheden TAE-concentraat en water met behulp van de formules hiernaast. Het geleverde TAE-concentraat is 100 mL. Voor elk experiment is 135 mL TAE-buffer nodig.

2 Meet (bijvoorbeeld) 100 mL TAE-concentraat en 1900 mL demiwater of gedistilleerd water af in geschikte maatcilinders. Voeg dit bij elkaar in een bekeglas om 2000 mL TAE-buffer te verkrijgen.

3 Als je het TAE-buffer alvast wilt klaarzetten voor de leerlingen, meet dan per groepje 135 mL buffer af in een geschikte maatcilinder en giet dit in bekeglazen of erlenmeyers.

4 Als je het resterende buffer wilt bewaren, giet het dan in een laboratoriumfles en bewaar het op kamertemperatuur.

Benodigdheden

- » TAE-concentraat
- » Demiwater of gedistilleerd water
- » Maatcilinders
- » Bekerglazen of erlenmeyers (Laboratoriumfles)

$$V_{\text{TAE}} = V_{\text{buffer}} / 20$$

$$V_{\text{water}} = V_{\text{buffer}} - V_{\text{TAE}}$$

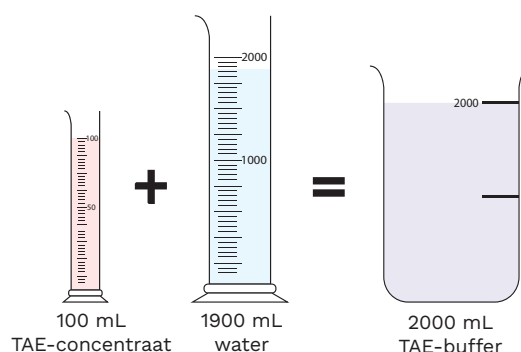
V_{TAE} = benodigd volume TAE-concentraat
 V_{buffer} = gewenst eindvolume buffer
 V_{water} = benodigd volume water

Voorbeeldberekening:

$$V_{\text{buffer}} = 2000 \text{ mL}$$

$$V_{\text{TAE}} = 2000/20 = 100 \text{ mL}$$

$$V_{\text{water}} = 2000 - 100 = 1900 \text{ mL}$$



DNA samples

Van elk van de 5 DNA samples is 125 μL geleverd. Elk groepje heeft hiervan 10 μL nodig.

1 Label per groepje 5 microcentrifugebuisjes (kleine epjes) met de namen van de DNA samples (100 bp, N, J, P, K).

2 Pipetteer voor elk groepje 10 μL van elk sample in de juiste microcentrifugebuisjes. Gebruik voor elk sample een nieuw pipetpuntje.

Benodigheden klaarzetten

1 Zet de benodigheden per groepje klaar met behulp van het lijstje hiernaast.

2 Elk groepje moet daarnaast zelf zorgen dat zij een foto toestel of telefoon met camera hebben om hun resultaten vast te leggen.

3 Zet de benodigheden per klas klaar met behulp van het lijstje hiernaast. Het demiwater of gedistilleerd water is alleen nodig bij het opruimen.

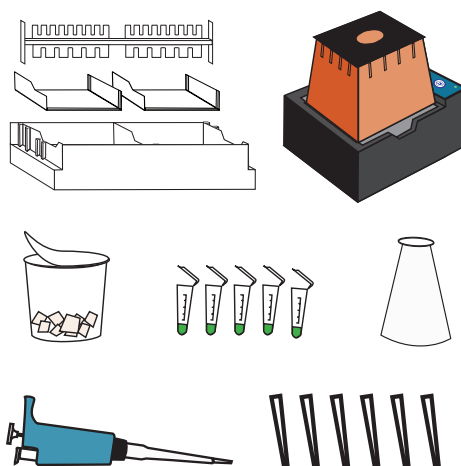
Benodigheden

- » 5 DNA samples
- » 1 pipet (2-20 μL)
- » Pipetpuntjes
- » Microcentrifugebuisjes (epjes)
- » Stift



Benodigheden per groepje

- » 1 MiniOne® Casting System
- » 1 MiniOne® Elektroforese-systeem
- » 1 agarose GreenGel™ cup (1%)
- » 5 DNA samples (10 μL)
- » TAE-buffer (135 mL)
- » 1 pipet (2-20 μL)
- » 6 pipetpuntjes



Benodigheden per klas

- » Magnetron
- » Demiwater/gedistilleerd water

Begeleiding practicum

Denk om de veiligheid

- » Bij verwarmen of smelten van stoffen
- » Bij het werken met elektrische apparatuur
- » Gebruik handschoenen en een veiligheidsbril waar nodig, met name bij het werken met vloeistoffen (bijv. maken en laden van de agarosegel)
- » Was je handen na het practicum

Algemeen aandachtspunt

- » Zorg dat leerlingen alle informatie bij een stap lezen voordat ze het uitvoeren.

Een aantal aandachtspunten bij specifieke stappen van het practicum zijn hieronder verder toegelicht.

De gel maken

2 Zet niet meer dan 5 gel cups tegelijk in de magnetron. Als leerlingen de stappen met de gel cups zelf uitvoeren, is toezicht van een volwassene aan te raden.

3 De gel cups zijn heet als ze uit de magnetron komen en er kan hete stoom uit komen. Laat na het gieten de gel met rust tot hij gestold is.

De gel laden

4 Als leerlingen niet eerder een pipet hebben gebruikt, laat ze dan eerst even oefenen met bijvoorbeeld water. Verdere aandachtspunten bij het laden van de gel zijn:

- » Voor elk DNA sample een nieuw pipetpuntje gebruiken.
- » Het puntje goed op de pipet drukken.
- » Met de pipet voelen of deze goed in de well zit, voordat je pipetteert.
- » Na het pipetteren de knop van de pipet ingedrukt houden totdat de punt weer volledig uit de vloeistof in de tank is gehaald.
- » De gel niet meer bewegen als deze eenmaal geladen is.

Het DNA scheiden

2 Zorg dat leerlingen het lampje met lage intensiteit gebruiken als ze tijdens het wachten naar de gel willen kijken. Zorg dat ze dit ook niet te lang doen, want het licht verzwakt het fluorescente signaal van het DNA.

Opruimen

2 Dit practicum is zodanig aangepast dat alle stoffen ongevaarlijk zijn. Daarom mag de gel gewoon in de prullenbak en het TAE-buffer door de gootsteen.

Toelichting

Trinucleotide herhalingen

In de introductie van deze les is uitgelegd dat de ziekte van Huntington wordt veroorzaakt door een toegenomen aantal trinucleotide herhalingen in het HTT-gen (zie Leerlingenhandleiding). Hierin is de volgende informatie gegeven:

- » Het normale allel bevat 10-35 herhalingen.
- » Het gemuteerde allel bevat zo'n 40-120 herhalingen.
- » Als de ziekte op volwassen leeftijd begint, heeft deze persoon meestal 40-120 herhalingen.
- » Bij de jeugdvorm is er meestal sprake van meer dan 120 herhalingen.

Wij zijn ons ervan bewust dat deze informatie niet helemaal klopt met de werkelijkheid. Het normale allel bevat inderdaad zo'n 10 tot 35 herhalingen en meer dan 40 herhalingen leidt inderdaad vrijwel altijd tot de ziekte. De beschreven link tussen het aantal herhalingen en de beginleeftijd klopt echter niet. Al bij een veel lager aantal herhalingen, namelijk meer dan 60, is er sprake van

de jeugdvorm. De genoemde bovengrens van 120 herhalingen in het gemuteerde allel is zeer zeldzaam. Als de ziekte zich op volwassen leeftijd openbaart, gaat het meestal om zo'n 40 tot 50 herhalingen. Van een aantal personen wordt in de les beschreven dat zij de ziekte van Huntington pas op volwassen leeftijd ontwikkelden, terwijl zij meer dan 60 herhalingen hebben. Dit is dus onjuist.

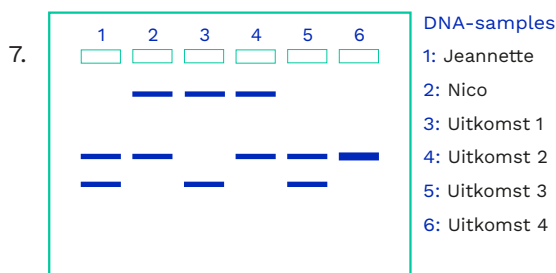
Om praktische redenen hebben wij ervoor gekozen deze onjuiste informatie niet te veranderen. Op dit moment kunnen wij namelijk niets veranderen aan de DNA-samples die gebruikt worden in dit practicum. De lengtes hiervan sluiten aan bij de informatie zoals die nu in de handleiding staat. Daarnaast doet het niets af aan datgene wat we de leerlingen willen meegeven: het principe dat je met DNA-onderzoek het aantal herhalingen kunt vaststellen en hieruit conclusies kunt trekken over het al dan niet optreden van de ziekte van Huntington (en op welke leeftijd ongeveer).

4.	Aantal nt excl. herhalingen	Aantal CAG-herhalingen	Aantal nt in CAG-herhalingen	Totale lengte PCR-product
	114	19	57	114 + 57 = 171

5.	Persoon	Aantal nt excl. herhalingen	Aantal CAG-herhalingen	Aantal nt in CAG-herhalingen	Totale lengte PCR-product
	Jeannette	114	8	24	138
	Jeannette	114	19	57	171
	Nico	114	72	216	330
	Nico	114	19	57	171

6.

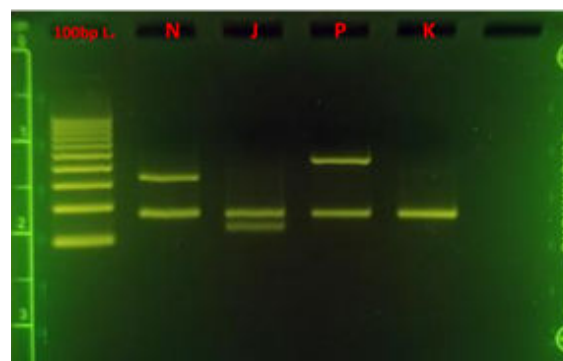
Jeannette		
	138	171
Nico	330	138, 330
	171	138, 171



8. Dit wijst op een toename van het aantal CAG-herhalingen. Geen van beide ouders heeft een PCR-product van deze lengte, dus er heeft een verlenging plaatsgevonden bij de overdracht van het gen naar de kinderen.
9. Het hele PCR-product is 456 bp lang. Het aantal nucleotiden in het gedeelte met CAG-herhalingen is dan: $456 - 114 = 342$. Dit komt neer op $342 / 3 = 114$ CAG-herhalingen. Waarschijnlijk zou dit kind jonger zijn dan 26 jaar op het moment dat hij/zij symptomen ontwikkelt. Dit kun je afleiden uit de volgende informatie uit de stamboom:
- Nico: 72 herhalingen, 33 jaar.
 - Christina: 93 herhalingen, 26 jaar.

10. Dit wijst op een afname van het aantal CAG-herhalingen. Geen van beide ouders heeft zelf een PCR-product van deze lengte.
11. Het hele PCR-product is 273 bp lang. Het aantal nucleotiden in het gedeelte met CAG-herhalingen is dan: $273 - 114 = 159$. Dit komt neer op $159 / 3 = 53$ CAG-herhalingen. Waarschijnlijk zou dit kind ouder zijn dan 40 jaar op het moment dat hij/zij symptomen ontwikkelt. Dit kun je afleiden uit de volgende informatie uit de stamboom:
- André: 69 herhalingen, 37 jaar.
 - Anneke: 64 herhalingen, 39 jaar.
 - Carla: 64 herhalingen, 40 jaar.

Voorbeeld resultaat



Afsluitende vragen

1. Het geïsoleerde DNA van Nico, Jeannette, Peter en Kim wordt, nadat het met PCR is gekopieerd, in de wells gepipetteerd. Omdat het DNA negatief geladen is, beweegt het richting de positieve elektrode door de gel. Korte DNA-fragmenten bewegen sneller en dus verder door de gel. Korte DNA-fragmenten (met weinig CAG-herhalingen) vormen dus bandjes onderin de gel. Lange DNA-fragmenten met veel herhalingen vormen bandjes bovenin de gel. Met behulp van de DNA-ladder aan de linkerkant kunnen we de lengtes van de DNA-fragmenten aflezen.
2. Peter is heterozygoot, want er zijn twee bandjes te zien. Het onderste bandje komt ook voor bij zijn ouders. Deze heeft een lengte van 171 bp, wat neerkomt op 19 CAG-

herhalingen (zie 'Vorbereidende vragen'). Het bovenste bandje ligt volgens de DNA-ladder tussen 400 en 500 bp. De precieze lengte van dit DNA-fragment is 422 bp, wat neerkomt op 103 herhalingen. Peter's genotype is dus (19, 103). Aangezien het lastig is om het bovenste bandje precies af te lezen, is elk antwoord tussen 95 en 129 herhalingen precies genoeg voor dit allel.

Kim is homozygoot, want er is maar één bandje. Dit bandje komt ook voor bij haar ouders en heeft een lengte van 171 bp, oftewel 19 herhalingen. Haar genotype is dus (19, 19).

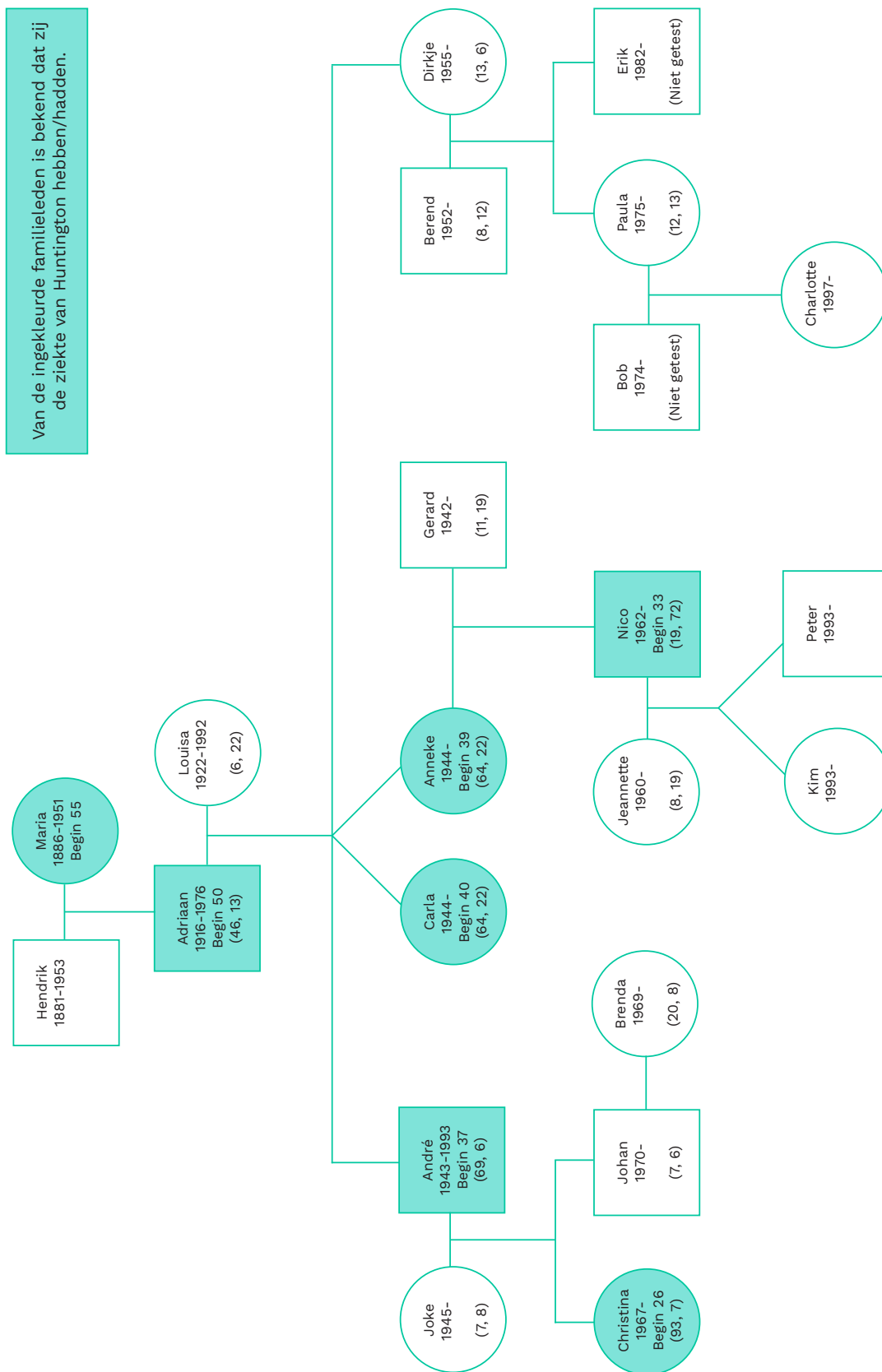
3. Er is een toename van het aantal CAG-herhalingen geweest bij de overdracht van het allel van Nico naar Peter. Ook gaat het hier om een groot aantal herhalingen (103), wat ervoor zal zorgen dat Peter de ziekte van Huntington krijgt.
4. Aangezien Peter meer CAG-herhalingen heeft dan zijn vader, zal hij waarschijnlijk op jongere leeftijd last krijgen van symptomen (jonger dan 33 jaar). Daarnaast weten we uit de stamboom dat Christina 93 herhalingen had en 26 jaar was toen de ziekte begon. Peter zal dus waarschijnlijk voor zijn 26^e al last krijgen van symptomen.
5. De resultaten laten zien dat Peter de ziekte van Huntington zal ontwikkelen en Kim niet. Op basis hiervan zijn verschillende adviezen mogelijk, zoals:
 - Ze kunnen met het hele gezin bespreken dat Peter de ziekte van Huntington zal krijgen.
 - Ze kunnen aan de kinderen uitleggen wat de ziekte van Huntington inhoudt, bijvoorbeeld welke symptomen hierbij horen (als ze dit nog niet weten).
 - Ze kunnen in de gaten houden of Peter last krijgt van symptomen.
 - Ze moeten rekening houden met de leeftijd van de kinderen als ze met hen praten over de ziekte van Huntington.
 - Het is belangrijk dat ze eerlijk zijn over de ziekte van Huntington tegen hun kinderen.
 - Ze kunnen hun kinderen verwijzen naar informatie die geschikt is voor hun leeftijd, zodat ze er zelf meer over kunnen lezen.

Reflectievragen

1. Omdat er geen DNA in de well is gepipetteerd, zou je dan geen bandjes zien in het laantje onder deze well. Je zou dan dus geen resultaat hebben voor één van de gezinsleden.
2. DNA is negatief geladen en wordt dus aangetrokken tot de positieve elektrode. Om het DNA naar beneden te laten bewegen door de gel, moeten de wells dus aan de kant van de negatieve elektrode liggen.
3. Het DNA zou dan aan de bovenkant van de gel af gelopen zijn, omdat het richting de positieve elektrode beweegt. Je zou dan geen bandjes zien in de gel en dus geen resultaten hebben.
4. Het DNA zou dan aan de onderkant van de gel af gelopen zijn. Je zou dan geen bandjes zien in de gel en dus geen resultaten hebben.
5. (geen goed of fout antwoord)
6. (geen goed of fout antwoord)

Antwoordmodel

Stamboom



Achtergrondinformatie

Verder lezen?

[Meer over de concept-contextmethode in het biologieonderwijs:](#)

Boersma, K.Th., Kamp, M.J.A., Oever, L. van den, Schalk, H.H. (2010). *Naar actueel, relevant en samenhangend biologieonderwijs*. Utrecht: CVBO.

[Meer over DNA-technieken, zoals gelelektroforese en PCR:](#)

Zie hoofdstuk 8 van: Alberts, B., Johnson, A.D., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. (2014). *Molecular Biology of the Cell* (6th ed.). New York: Garland Science.

[Meer over de ziekte van Huntington:](#)

Van Blitterswijk-Hopman, J., Hendriks, S.A., Oude Vrielink, S., Van der Wedden, D.A.A. & Woutersen-Koch, H. (2010). *Informatie voor de huisarts over de ziekte van Huntington*. www.huntington.nl/images/stories/Huisartsenbrochure_de_ziekte_van_Huntington.pdf

[Meer over erfelijke ziektes en DNA-onderzoek:](#)

www.erfelijkheid.nl.
Amersfoort: Erfocentrum.

Hulp nodig?

Neem contact op met WisMon:



support@wismon.nl



030-737 0348

Meer van WisMon?

Kijk op www.wismon.nl voor meer informatie over WisMon's Schoollabs en voor het bestellen van materialen.

Andere lessen uit deze reeks:

- » Walvis-DNA: Wie is de vader van Luna?
- » Crime Scene Investigation: Wie is de dader?
- » Voedselinfectie: Een feestje met een bijsmaak.
- » De beste koeien: Een boer met keuzestress.
- » Proeven aan genetica: Onderzoek je eigen DNA!

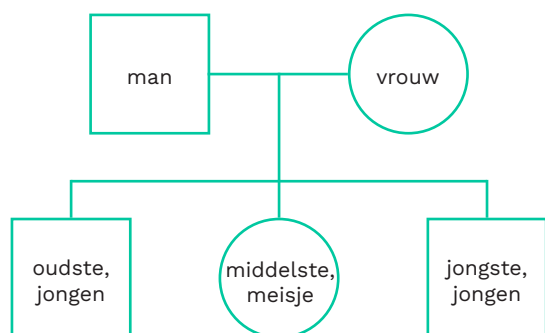
Bijlage I

Stambomen

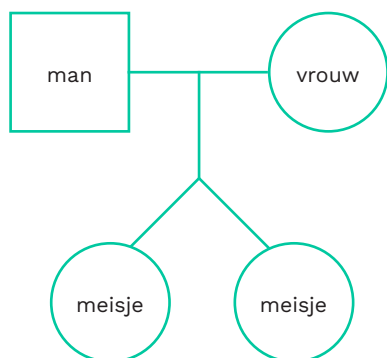
Als je de overerving van een erfelijke eigenschap wilt bestuderen, kan het helpen om een stamboom te maken. Dit is een schematisch overzicht van familierelaties met daarin informatie over die erfelijke eigenschap. Het kan hierbij bijvoorbeeld gaan om een erfelijke ziekte, zoals de ziekte van Huntington.

Mannen, vrouwen en kinderen

Er zijn bepaalde afspraken over hoe we de personen en relaties in een stamboom weergeven. Een man wordt bijvoorbeeld altijd weergegeven met een vierkantje en een vrouw met een rondje. Een man en een vrouw die samen een kind krijgen, worden verbonden met een horizontale lijn. Hun kinderen worden vervolgens daaronder weergegeven, met het oudste kind aan de linkerkant. Een gezin kan er dus bijvoorbeeld zo uitzien in de stamboom:



Voor tweelingen is er een speciale weergave met diagonale lijnen:

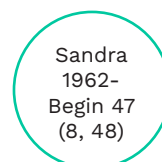


Geboorte en overlijden

In deze les verwerk je ook andere informatie in de stamboom, als dit tenminste bekend is. Van alle familieleden is bijvoorbeeld het geboortjaar bekend en van sommigen ook het jaar van overlijden. Deze informatie is niet altijd letterlijk gegeven, maar je kunt dit wel afleiden. Een voorbeeld: Jan en Jenny zijn getrouwd in 1989. Jenny was toen 24 jaar en Jan 30. Hieruit kunnen we hun geboortejaren afleiden: Jenny is geboren in $1989 - 24 = 1965$ en Jan is geboren in $1989 - 30 = 1959$. Deze informatie kun je dan opnemen in je stamboom.

Ziekte van Huntington

Daarnaast is van sommige familieleden informatie over de ziekte van Huntington bekend. Bijvoorbeeld of zij wel of niet de ziekte hebben, op welke leeftijd de symptomen begonnen en wat hun genotype is voor het HTT-gen. Ook deze informatie kun je opnemen in de stamboom. Een voorbeeld: Sandra is geboren in 1962 en begon symptomen van Huntington te ontwikkelen op 47-jarige leeftijd. Uit DNA-onderzoek is gebleken dat haar genotype (8, 48) is. Uiteindelijk kan haar vakje in de stamboom er dan zo uitzien:



Eventueel kun je in je stamboom nog met kleurtjes aangeven welke familieleden wel en niet ziek zijn.

Bijlage II

Polymerase chain reaction (PCR)

Polymerase chain reaction (PCR) is een techniek waarmee je DNA kunt kopiëren. Het lijkt daarom in veel opzichten op de DNA-replicatie die in levende organismen plaatsvindt. Een belangrijk verschil is dat je met PCR specifieke gedeeltes van het DNA kunt selecteren die je wilt kopiëren. Onderzoekers gebruiken PCR om uit zeer kleine hoeveelheden DNA de juiste gedeeltes te vermenigvuldigen, zodat er genoeg van is om te gebruiken in de vervolgstappen van hun onderzoek.

Benodigheden

Voor een PCR-reactie heb je de volgende componenten nodig.

- » **DNA-template:**
Dit is het DNA dat je gaat kopiëren. Vaak is dit DNA dat is geïsoleerd uit het organisme dat wordt bestudeerd. In dit practicum is de DNA-template het geïsoleerde DNA van de gezinsleden.
- » **Primers:**
Dit zijn korte stukjes enkelstrengs DNA die als startpunten van het kopiëren worden gebruikt. Ze zijn zo ontworpen dat hun nucleotidesequenties complementair zijn aan de uiteinden van de DNA-sequentie die je wilt kopiëren, waardoor ze specifiek aan dat deel van het DNA binden.
- » **Nucleotiden:**
Dit zijn de bouwstenen om nieuwe DNA-strengen mee te maken.
- » **Taq-polymerase:**
Dit is een speciaal DNA-polymerase. Net als bij de DNA-replicatie in levende organismen is het enzym DNA-polymerase nodig om nucleotiden aan te bouwen aan de nieuwe DNA-streng. Speciaal aan het Taq-polymerase is dat deze in staat is de hoge temperaturen te weerstaan die nodig zijn bij een PCR-reactie.
- » **PCR-buffer:**
Dit is een oplossing die ervoor zorgt dat de juiste pH wordt gehandhaafd voor de PCR-reactie.
- » **Magnesiumionen (Mg^{2+}):**
Dit is een co-factor die ervoor zorgt dat het Taq-polymerase goed zijn werk kan doen.

PCR-apparaat

Alle componenten worden bij elkaar gevoegd in een PCR-buisje (klein epje), dat in het PCR-apparaat wordt geplaatst. Het PCR-apparaat zorgt ervoor dat het reactiemengsel een reeks temperatuurveranderingen ondergaat, waardoor het DNA gekopieerd wordt.



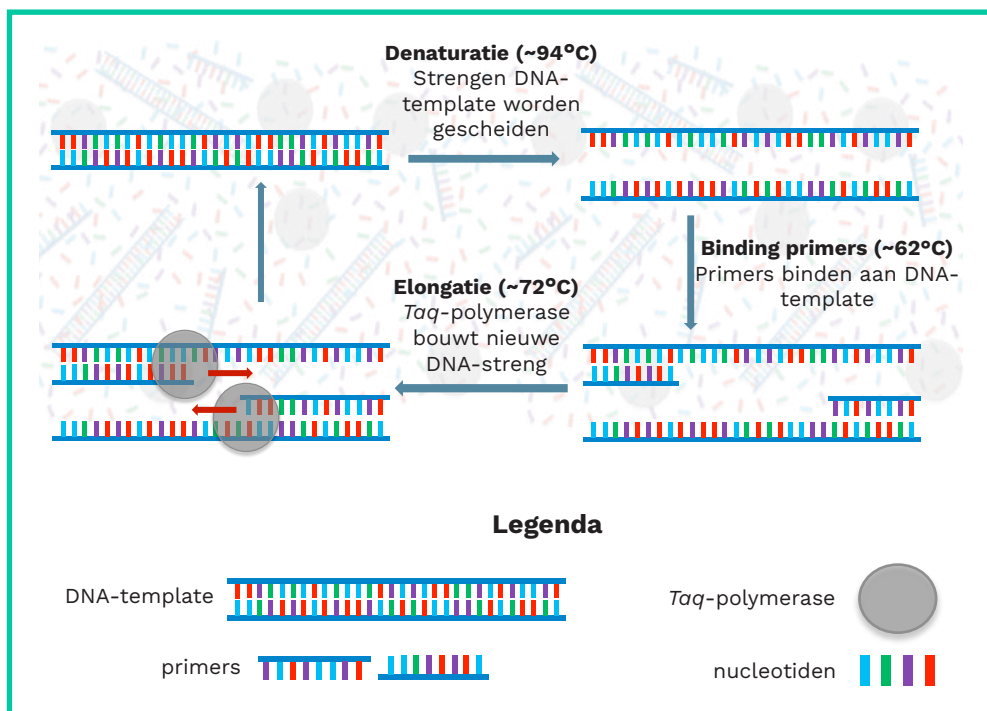
Stappen van een PCR-reactie

De PCR-reactie bestaat uit onderstaande stappen. Zie ook de afbeelding op blz. 17 voor een schematische weergave hiervan.

1. **Denaturatie van het DNA:**
Door een hoge temperatuur (ongeveer 94°C) worden de waterstofbruggen tussen de dubbele DNA-strengen verbroken en ontstaat enkelstrengs DNA.
2. **Binding van de primers:**
De temperatuur wordt verlaagd tot ongeveer 62°C, waardoor de primers binden aan specifieke sequenties in de DNA-template.
3. **Elongatie:**
De temperatuur wordt weer iets verhoogd (tot ongeveer 72°C). Hierdoor bindt het Taq-polymerase aan het DNA en begint het kopiëren. Het polymerase begint vlak naast de primer en de juiste nucleotiden worden ingebouwd op basis van de DNA-template. Het resultaat is dubbelstrengs DNA.

PCR-cycli

Het doorlopen van deze drie stappen wordt één cyclus genoemd. Door de cyclus te herhalen wordt steeds meer DNA geproduceerd. Meestal worden 10 tot 45 cycli uitgevoerd, met als resultaat een gigantische hoeveelheid DNA-kopieën. Deze kunnen gebruikt worden in vervolgstappen van het onderzoek. Het DNA kan bijvoorbeeld worden behandeld met restrictie-enzymen of zichtbaar worden gemaakt met gelelektroforese.



Bijlage III

Gelelektroforese

Gelelektroforese is een techniek waarmee je de componenten van een mengsel kunt scheiden. Dit kunnen mengsels zijn van DNA, RNA, eiwitten of kleurstoffen. De componenten worden gescheiden op basis van de grootte, lading en vorm van de moleculen. Hierbij wordt een gel gebruikt, waar de moleculen doorheen bewegen onder invloed van een elektrisch veld.

Voor het scheiden van DNA, zoals in dit practicum, wordt vaak een agarosegel gebruikt. Deze wordt gemaakt door gesmolten agarose in een bakje te gieten en hier een kam in te plaatsen. Als de agarose is gestold, wordt de kam verwijderd en heb je een gel met aan één zijde een rij wells (putjes). In deze wells pipetteer je het DNA dat je wilt scheiden. In dit practicum gebruiken we GreenGel™ cups om de gel te maken. Naast agarose zit hierin ook een DNA-kleuring, om het DNA zichtbaar te maken.

De gel wordt tussen een positieve en een negatieve elektrode geplaatst, zodat een elektrisch veld kan worden aangebracht. Omdat DNA negatief geladen is, zullen de moleculen vanuit de well richting de positieve elektrode bewegen. Hierbij bewegen kleine DNA-fragmenten het gemakkelijkst door de poriën van de gel, waardoor zij een grotere afstand zullen afleggen dan lange DNA-fragmenten.

Het resultaat is een bandenpatroon op de gel. Elk bandje bestaat uit DNA-moleculen met dezelfde lengte. De kortste DNA-fragmenten vormen een bandje onderin, terwijl bandjes van lange DNA-fragmenten meer bovenin zichtbaar zijn. Soms wordt in één van de wells een DNA-ladder gepipetteerd. Dit is een mengsel van DNA-moleculen met verschillende, bekende lengtes. Met de DNA-ladder kun je dan aflezen hoe lang de DNA-fragmenten uit je samples ongeveer zijn.

Gelelektroforese wordt o.a. gebruikt voor DNA-fingerprinting. Hierbij wordt het DNA van individuen vergeleken door de bandenpatronen naast elkaar te leggen, bijvoorbeeld voor forensisch onderzoek, verwantschapsonderzoek, in de gezondheidszorg of voor wetenschappelijk onderzoek.

