



Walvis-DNA

Wie is de vader van Luna?



Doelgroep

havo 4/5
vwo 4/5



Vak

Biologie



Duur

2 lesuren



Vaardigheden

Onderzoeksvaardigheden
Pipetteren

Deze docentenhandleiding is een toelichting bij de les 'Walvis-DNA: Wie is de vader van Luna?'. 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 werken leerlingen aan een verwantschapsvraagstuk met behulp van DNA-fingerprinting. Ze helpen een team van wetenschappers achterhalen wie de vader is van Luna, een pasgeboren bultrugwalvis. De leerlingen voeren zelf een gelelektroforese uit en trekken conclusies uit hun resultaten. Hierbij gebruiken ze hun kennis over DNA en erfelijkheid.

Inhoudsopgave

Didactische verantwoording.....	blz 2
Lesopzet.....	blz 3
Vorbereiding practicum.....	blz 4
Begeleiding practicum.....	blz 6
Antwoordmodel.....	blz 7
Achtergrondinformatie.....	blz 8
Bijlage I: Gelelektroforese.....	blz 9
Bijlage II: PCR.....	blz 10

Didactische verantwoording



Leerdoelen

- » Leerlingen kunnen hun kennis over DNA en erfelijkheid toepassen in een nieuwe context.
- » Leerlingen kunnen een experiment met gelelektroforese uitvoeren en begrijpen.
- » Leerlingen kunnen uit hun resultaten conclusies trekken over verwantschap.



Aansluiting syllabus

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

- » A5. Onderzoeken
- » B1. Eiwitsynthese: PCR, restrictie-enzym (vwo)
- » C1. Zelforganisatie van cellen: DNA, chromosoom, niet-coderend DNA
- » F1. Selectie: DNA, chromosoom, mutatie, genenpool

Benodigde voorkennis

Voorafgaand aan de les is het belangrijk dat leerlingen enige voorkennis hebben over de bouw van DNA, mutaties, erfelijkheid, chromosomen en genetische variatie. In de leerlingenhandleiding zijn voorbereidende vragen opgenomen om deze voorkennis op te frissen. Als hieruit blijkt dat bepaalde kennis mist, is het verstandig dit voor het practicum te herhalen. Daarnaast gaat de leerlingenhandleiding uit van enige voorkennis over DNA-technieken (gelelektroforese, PCR en restrictie-enzymen). 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 en II op blz. 9-11 gebruiken.

Inbedding curriculum

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

Moleculaire biologie

Moleculaire biologie is de afgelopen jaren een steeds belangrijker deel geworden van het biologiecurriculum. 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

Vorbereiding

60 min. ⌚

- Lees deze handleiding door.
- Lees de leerlingenhandleiding door.
- Zet het practicum klaar (zie 'Vorbereiding practicum', blz. 4).

Introductie*

15-30 min. ⌚

Afhankelijk van de voorkennis van de leerlingen kan een theoretische uitleg nodig zijn voorafgaand aan het practicum (zie 'Didactische verantwoording', blz. 2). Bespreek in ieder geval de context van het practicum en de voorbereidende vragen. Indien dit de eerste keer is dat leerlingen gaan werken met een pipet, raden we aan ook het gebruik hiervan kort toe te lichten.

Practicum

50 min. ⌚

Leerlingen voeren in groepjes het practicum uit, leggen hun resultaten vast en ruimen alle materialen weer op na afloop. Let op: het practicum bevat een paar momenten waar leerlingen even moeten wachten. Je kunt hen waar mogelijk alvast wat laten opruimen of aan hun eigen biologieopdrachten laten werken.

Afsluiting*

15 min. ⌚

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

* Bij weinig tijd kun je ervoor kiezen de introductie tijdens een eerdere les te doen en/of de afsluiting pas tijdens de les erna. We raden dit met name aan als leerlingen nog geen voorkennis hebben over gelelektroforese en/of geen ervaring hebben met pipetteren, omdat de introductie dan meer tijd in beslag zal nemen.

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 bekglas 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 bekglazen 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)

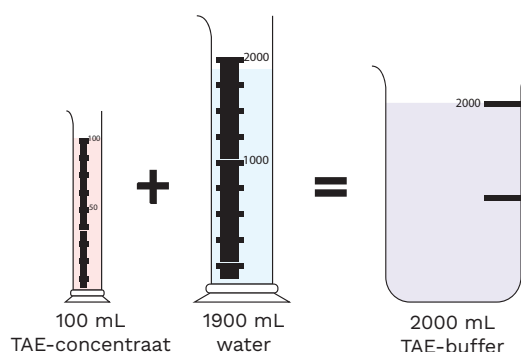
$$V_{\text{TAE}} = V_{\text{buffer}} / 20$$

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

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 (L, M, A, B en C).

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 het een fototoestel of telefoon met camera heeft om de 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.

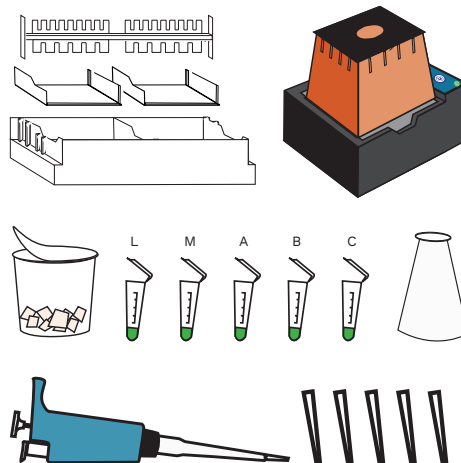
Benodigheden

- » 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)
- » 5 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

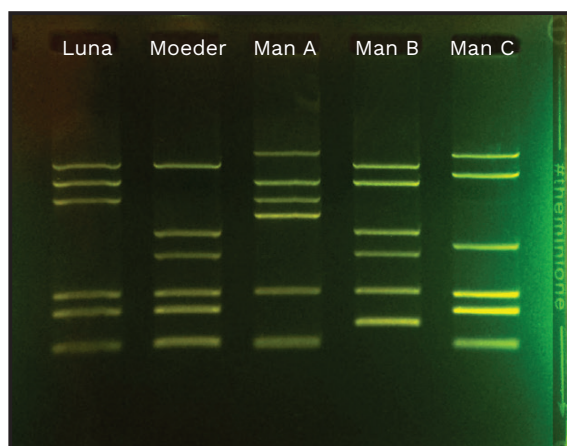
2 Dit practicum is zodanig aangepast dat alle stoffen ongevaarlijk zijn. Daarom mag de gel gewoon in de prullenbak en het TAE-buffer door de gootsteen.

Antwoordmodel

Vorbereidende vragen

1. Dit vergroot de kans op overleving van de bultrugpopulatie. Bij een verandering in de omgeving is de kans dan namelijk groter dat de populatie dieren bevat die hieraan goed zijn aangepast.
2. Bijvoorbeeld: DNA is de drager van erfelijke informatie, DNA codeert voor eiwitten, etc.
3. Chromosomen bestaan uit DNA dat om eiwitten (histonen) heen is gewikkeld en compact is opgerold, zodat het in de celkern past.
4. 46 chromosomen.
5. 50%. Eén set van 23 chromosomen heb je gekregen van je moeder en één set van 23 chromosomen van je vader.
6. Bijvoorbeeld: een DNA-molecuul heeft de vorm van een dubbele helix, het is dubbelstrengs, het is opgebouwd uit nucleotiden, etc.
7. Cytosine (C), guanine (G), adenine (A) en thymine (T).
8. DNA is negatief geladen.

Voorbeeld resultaat



Afsluitende vragen

1. Het DNA-profiel van Luna bestaat uit 6 bandjes.

2. Het DNA-profiel van haar moeder bestaat uit 6 bandjes.
3. 4 bandjes komen zowel bij Luna als bij haar moeder voor.
4. Luna heeft 4 bandjes gemeen met mannetje A.
5. Luna heeft 3 bandjes gemeen met mannetje B.
6. Luna heeft 3 bandjes gemeen met mannetje C.
7. Mannetje A is waarschijnlijk Luna's vader. Deze conclusie is gebaseerd op het feit dat mannetje A de meeste bandjes gemeen heeft met Luna en/of het feit dat het derde bandje van boven in Luna's DNA-profiel alleen is terug te vinden bij mannetje A. Ze heeft deze dus waarschijnlijk van hem geërfd.

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 bultruggen.
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)

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.

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:

- » Crime Scene Investigation: Wie is de dader?
- » Voedselinfectie: Een feestje met een bijsmaak.
- » Huntington: Een ziekte in de stamboom.
- » De beste koeien: Een boer met keuzestress.
- » Proeven aan genetica: Onderzoek je eigen DNA!

Bijlage I

Gelelektroforese

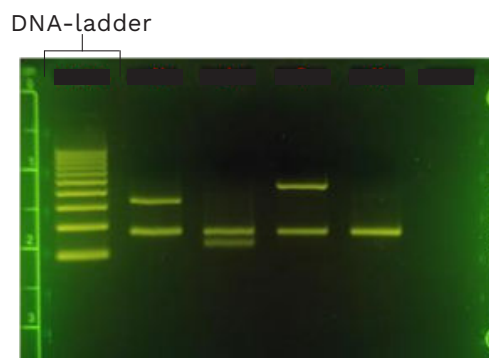
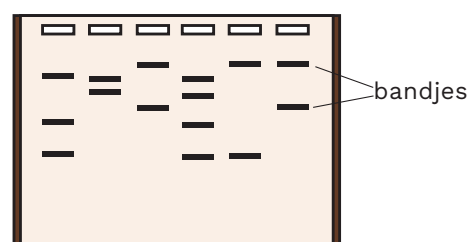
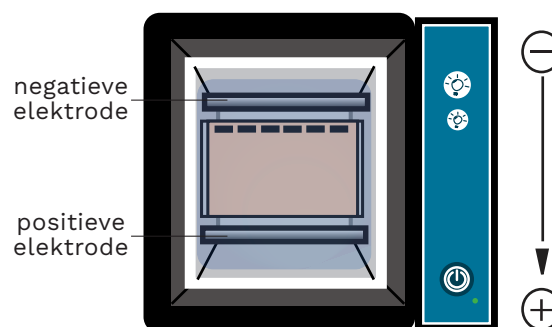
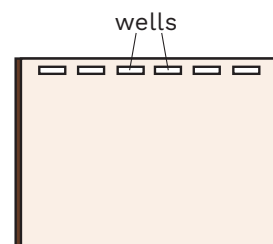
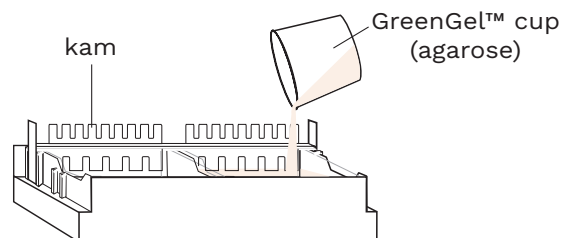
Gelelektroforese is een techniek waarmee je de componenten van een mengsel kunt scheiden. Dit kunnen mengsels zijn van DNA, RNA, eiwitten of kleurstoffen. De componenten worden gescheiden op basis van de grootte, lading en vorm van de moleculen. Hierbij wordt een gel gebruikt, waar de moleculen doorheen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



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 walvis-DNA.
- » **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. 11 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.

