



Walvis-DNA

Wie is de vader van Luna?



Doelgroep

havo 4/5
vwo 4/5



Vak

Biologie



Duur

2 lesuren



Vaardigheden

Onderzoeksvaardigheden
Pipetteren

Omschrijving van de les

In deze les help jij een team van wetenschappers om te achterhalen wie de vader is van Luna, een pasgeboren bultrugwalvis. Dit doe je met een techniek die DNA-fingerprinting wordt genoemd. De naam zegt het al: we gaan hiermee kijken naar 'genetische vingerafdrukken'. Je vergelijkt het DNA van Luna met dat van haar moeder en drie verschillende walvismannetjes. Lukt het jou om Luna's vader te vinden?

Weetje

Bultrugmannetjes proberen op allerlei manieren indruk te maken op de vrouwtjes. Ze springen bijvoorbeeld uit het water of slaan met hun borstvinnen of staart op het wateroppervlak. Ook staan ze bekend om hun gezang. Je kunt hier online mooie filmpjes van vinden. Zoek bijvoorbeeld eens op 'humpback whale song'.

Introductie



Leerdoelen

Je kunt jouw kennis over DNA en erfelijkheid toepassen in een nieuwe context.
Je kunt een experiment met gelelektroforese uitvoeren en begrijpen.
Je kunt uit jouw resultaten conclusies trekken over verwantschap.



Benodigde voorkennis

Bouw DNA, mutaties, erfelijkheid, chromosomen, genetische variatie



Aansluiting SLO/syllabus

DNA, chromosoom, mutatie, niet-coderend DNA, PCR, restrictie-enzym, genenpool

Onderzoek naar de bultrug

In het verleden was de bultrugwalvis een bedreigde diersoort. Dit kwam door de commerciële walvisvaart. Door de jacht werd de genenpool van de populatie sterk verkleind. We noemen dit ook wel het flessenhalseffect. Tegenwoordig is het verboden om op bultruggen te jagen en zijn er initiatieven om de dieren te beschermen. Het aantal bultruggen is daardoor weer gegroeid en dat wil men graag zo houden. Daarom wordt er veel onderzoek naar deze dieren gedaan. Een team van wetenschappers volgt al drie jaar verschillende groepen bultruggen tijdens hun jaarlijkse wintermigratie. De bultruggen trekken dan naar warmere wateren om daar te paren. De onderzoekers bestuderen het voortplantingsgedrag en de genetische variatie in de populatie. Dit onderzoek is belangrijk voor het behoud van de soort.

Er is onlangs een nieuw walviskalfje geboren: Luna. Dit geeft het team de mogelijkheid meer te leren over het paargedrag van de bultrug. Door gedragsobservaties hebben ze al kunnen achterhalen wie Luna's moeder is. Er zijn echter drie mannetjes die de vader zouden kunnen zijn. Aan jou de taak om de onderzoekers te helpen en uit te zoeken wie Luna's vader is!

DNA-fingerprinting

Voor het vinden van Luna's vader gebruiken we een techniek die DNA-fingerprinting heet. Hiermee vergelijk je de 'genetische vingerafdruk' van individuen. In het niet-coderende gedeelte van het DNA komt repetitief DNA voor. Dit zijn stukjes DNA waarin korte sequenties steeds herhaald worden (bijvoorbeeld TCATCATCA). Hierin komen vaak mutaties voor, waardoor het aantal herhalingen per individu verschilt. Aan de hand van dit unieke patroon kun je mensen (of walvissen) identificeren. Omdat de variaties in het repetitief DNA van ouder op kind worden doorgegeven, wordt DNA-fingerprinting gebruikt voor verwantschapsonderzoek.

DNA-fingerprinting is eigenlijk een combinatie van verschillende technieken. Eerst wordt het DNA geïsoleerd uit de cellen. Daarna wordt de techniek PCR (polymerase chain reaction) toegepast. Hiermee vermenigvuldig je het DNA. Het DNA wordt vervolgens in stukjes geknipt met restrictie-enzymen. De lengte van deze stukjes verschilt per persoon, afhankelijk van het aantal herhalingen in het repetitief DNA. De stukjes DNA worden op lengte gescheiden met de techniek gelelektroforese. Tijdens het practicum van deze les ga je de gelelektroforese zelf uitvoeren. Dit levert een bandenpatroon op, dat vergeleken kan worden tussen individuen. Hoe meer de patronen op elkaar lijken, hoe groter de kans dat zij familie zijn.



Vorbereidende vragen

Voordat je aan het practicum begint, is het belangrijk dat je jouw kennis over DNA en DNA-technieken paraat hebt. Beantwoord daarom eerst de volgende vragen.

1 De wetenschappers onderzoeken o.a. de genetische variatie in de bultrugpopulatie. Waarom is het belangrijk dat er genetische variatie in de populatie is?

.....

2 Wat is de functie van DNA?

.....

3 Wat zijn chromosomen?

.....

4 Hoeveel chromosomen bevat een menselijke lichaamscel?

.....

5 Hoeveel procent van jouw DNA deel je met elk van je ouders? Leg je antwoord uit.

.....

6 Beschrijf hoe een DNA-molecuul eruit ziet. Denk bijvoorbeeld aan de vorm en bouwstenen van een DNA-molecuul.

.....

7 Welke stikstofbasen komen voor in DNA?

.....

8 Je gaat straks gelelektroforese gebruiken om DNA-fragmenten te scheiden. Deze techniek maakt gebruik van de lading van DNA. Is DNA positief of negatief geladen? Gebruik eventueel tabel 71C uit Binas.

.....



Practicum

Gelelektroforese

Benodigheden

- 1 MiniOne® Casting System (gelgietsysteem)
- 1 MiniOne® Elektroforesesysteem
- 1 agarose GreenGel™ cup (1%)
- 5 DNA samples
- Bekerglas met TAE-buffer (135 mL)
- 1 pipet (2-20 µL) en 5 pipetpuntjes
- Magnetron
- Fototoestel of telefoon met camera
- Demiwater of gedistilleerd water

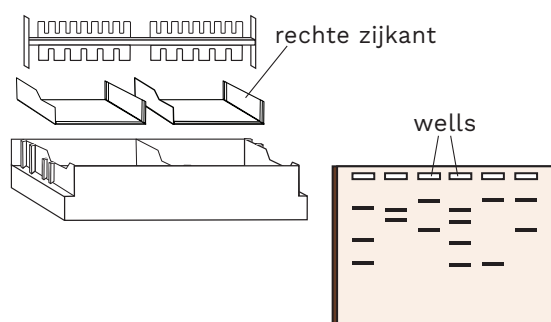
Denk om de veiligheid

Gebruik handschoenen en een veiligheidsbril als je werkt met vloeistoffen, bijvoorbeeld bij het maken en laden van de agarosegel.

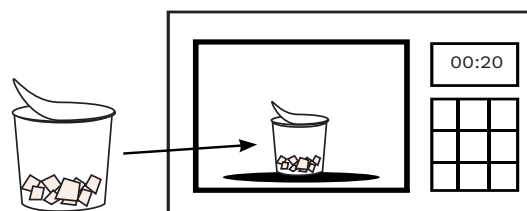
De gel maken

We beginnen met het maken van een agarosegel. Deze hebben we straks nodig om de DNA-fragmenten te scheiden.

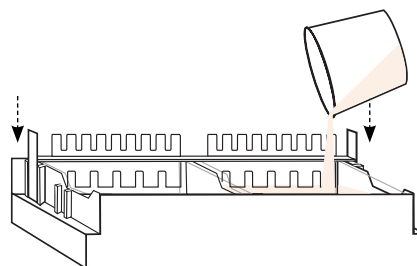
1 Zet het MiniOne® Casting systeem op een vlakke ondergrond en plaats de doorzichtige bakjes erin. Zorg dat de rechte zijkant rechts zit. Plaats de kam in de achterste gleufjes bovenaan het systeem. Zorg dat de kant met 6 tanden naar beneden wijst. Zo krijg je een gel met 6 putjes erin. Deze putjes noemen we wells.



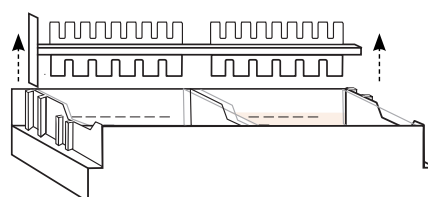
2 Haal het folie gedeeltelijk van de agarose GreenGel™ cup en zet deze 20 seconden in de magnetron. Laat de cup daarna 15 seconden afkoelen voordat je hem aanraakt. **Let op: zet niet meer dan 5 gel cups tegelijk in de magnetron!**



3 **Let op: de gel cup kan heet zijn!** Giet de hete agaroseoplossing langzaam in één van de bakjes. Eén gel cup is genoeg voor het maken van één agarosegel. Zorg dat er geen luchtbelletjes in de oplossing zitten. Laat de agarosegel stollen totdat deze ondoorzichtig is geworden. Dit duurt ongeveer 10 minuten. **Let op: laat de gel met rust tot de tijd voorbij is!**



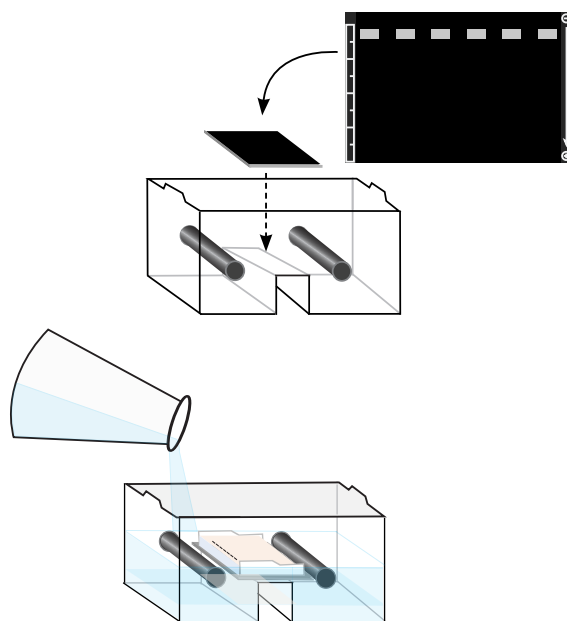
4 Verwijder de kam voorzichtig uit de gel. Haal het bakje met de gel uit het MiniOne® Casting systeem. Als er nog agarose aan de onderkant van het bakje zit, veeg dit dan af.



De gel laden

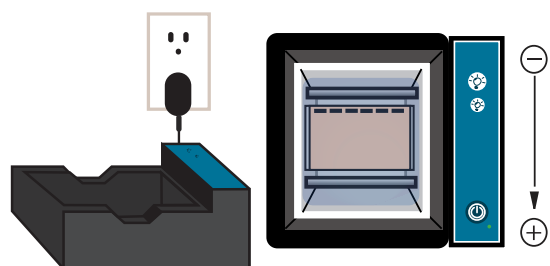
We gaan het elektroforesesysteem nu klaarzetten voor het scheiden van het DNA. Het 'laden' van de gel betekent dat we de DNA samples in de wells pipetteren.


1 Pak het MiniOne® Elektroforesesysteem erbij. Leg de zwarte ondergrond in de tank, met de ⊕ en ⊖ symbolen op de juiste plek. Zet de gel (nog in het bakje) hierbovenop. Zorg dat de wells van de gel overlappen met de vakjes bij het ⊖ symbool op de ondergrond.



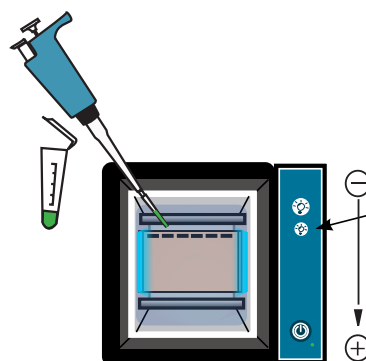
2 Meet 135 mL TAE-buffer af en giet dit in één helft van de tank tot de vloeistof de onderkant van de gel bereikt. Wacht even tot de lucht onder de gel is verdwenen, anders kun je straks het resultaat niet goed zien. Giet daarna het resterende buffer in de andere helft van de tank. De gel moet volledig bedekt worden met buffer.

3 Steek de stekker van het elektroforesesysteem in het stopcontact. Zet de tank op de juiste manier in de zwarte houder: de elektroden (zwarte staafjes) moeten contact maken met de gouden puntjes en de tank moet recht in de houder staan.

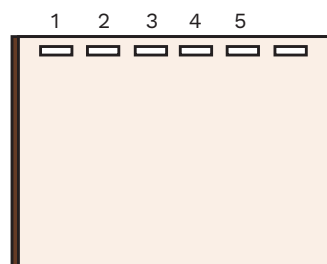


4 Druk op het tweede  knopje van boven op de houder. Hierdoor gaat het blauwe lampje aan op lage intensiteit, waardoor je de wells goed kunt zien. Gebruik de pipet om de gel te laden. Doe dit zoals in de tabel en afbeelding hieronder. Pipetteer dus 10 µL van DNA sample L in well 1, 10 µL van DNA sample M in well 2, etc. Gebruik voor elk sample een nieuw pipetpuntje.

Let op: beweeg de gel niet meer als deze eenmaal geladen is!



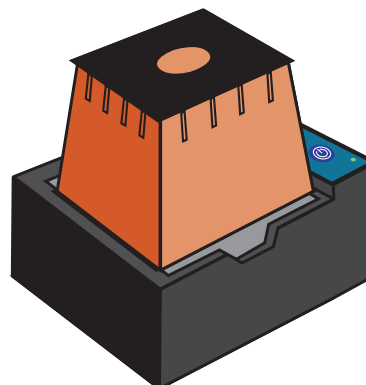
Well	Sample naam	Volume
1	DNA L (Luna)	10 µL
2	DNA M (moeder)	10 µL
3	DNA A (man A)	10 µL
4	DNA B (man B)	10 µL
5	DNA C (man C)	10 µL



Het DNA scheiden

We gaan nu de DNA-fragmenten scheiden met het elektroforesesysteem, zodat we de bandenpatronen kunnen vergelijken.

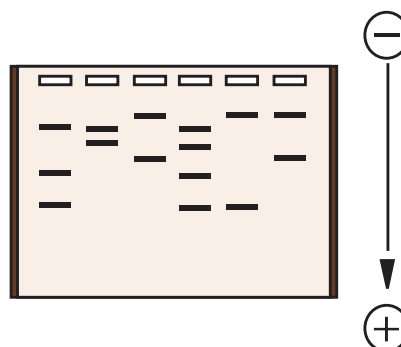
- 1 Zet de oranje kap op de houder. Zet het elektroforesesysteem aan door op de Ⓞ knop te drukken. Naast de knop gaat nu een groen lampje branden. De gelelektroforese is nu gestart.



Geen groen lampje? Check:

- Zit de tank goed in de houder?
- TAE-buffer in de tank?
- Teveel of te weinig buffer?
- Is de bufferconcentratie goed?
- Oranje kap op de houder?
- Stekker in het stopcontact?

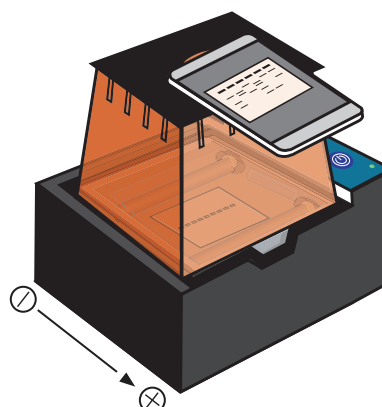
- 2 Wacht tot het DNA voldoende is gescheiden. Je kunt dan losse bandjes zien, zoals op de afbeelding hiernaast. Dit duurt ongeveer 25 minuten. Check af en toe het bewegen van de bandjes (ongeveer elke 5 minuten). **Let op: als je tijdens het wachten naar de gel wilt kijken, gebruik dan het lampje met lage intensiteit en laat deze niet te lang aan! Licht verzwakt het fluorescente signaal van het DNA.**



Het resultaat vastleggen

- 1 Als het klaar is, zet dan het elektroforesesysteem uit door op de Ⓞ knop te drukken. Veeg eventuele condens aan de binnenkant van de kap af met een doekje. Zet de kap weer terug op de houder. Druk op het eerste ⚡ knopje op de houder. Hierdoor gaat het blauwe lampje aan op hoge intensiteit.

- 2 Gebruik je telefoon of een foto toestel om via het venstertje in de kap een foto te maken van het resultaat. **Let op: zoom niet in, dan krijg je wazige foto's!**





Afsluitende vragen

Bekijk de resultaten van je gelelektroforese. Dit zijn de DNA-profielen van Luna, haar moeder en de walvismannetjes. Door de bandenpatronen te vergelijken, kunnen we conclusies trekken over verwantschap. Beantwoord de volgende vragen.

1 Uit hoeveel bandjes bestaat het DNA-profiel van Luna?

2 Uit hoeveel bandjes bestaat het DNA-profiel van haar moeder?

3 Hoeveel bandjes komen zowel bij Luna als bij haar moeder voor?

4 Hoeveel bandjes heeft Luna gemeen met mannetje A?

5 Hoeveel bandjes heeft Luna gemeen met mannetje B?

6 Hoeveel bandjes heeft Luna gemeen met mannetje C?

7 Welk bultrugmannetje is op basis van jouw resultaten waarschijnlijk Luna's vader?
Waarop baseer je deze conclusie?



Reflectievragen

Kijk even terug naar dit practicum en beantwoord de volgende vragen.

1 Bij het laden van de gel heb je het DNA in de wells van de gel gepipetteerd. Stel dat je een DNA sample per ongeluk naast de well zou pipetteren, hoe zou je dit dan terugzien in je resultaten?

.....

.....

2 Tijdens dit practicum lag de gel met de kant van de wells bij de negatieve elektrode. Waarom is het belangrijk dat de gel op deze manier in het elektroforesesysteem ligt?

.....

.....

3 Wat zou er gebeurd zijn als je de gel andersom in het elektroforesesysteem had gelegd? Hoe zou je dat terugzien in je resultaten?

.....

.....

4 Wat zou er gebeurd zijn als je het elektroforesesysteem veel langer dan 25 minuten aan had laten staan bij het scheiden van het DNA? Hoe zou je dat terugzien in je resultaten?

.....

.....

5 Wat ging bij jouw groepje goed bij het uitvoeren van dit practicum?

.....

.....

6 Zijn er dingen die je de volgende keer anders zou doen?

.....

.....

Begrippenlijst

Chromosoom	DNA dat om eiwitten (histonen) heen is gewikkeld en compact is opgerold, zodat het in de celkern past.
DNA	Desoxyribonucleïnezuur, de drager van erfelijke informatie in organismen.
DNA-fingerprinting	Techniek waarmee je het DNA van individuen kunt vergelijken. Maakt gebruik van DNA-isolatie, PCR, restrictie-enzymen en gelelektroforese.
Erfelijkheid	Het doorgeven van eigenschappen van een generatie naar de volgende.
Flessenhalseffect	Een sterke afname van het aantal individuen in een populatie door bijvoorbeeld een ziekte, ramp of menselijk handelen. Hierdoor wordt de genenpool sterk verkleind.
Gelelektroforese	Een techniek waarmee je DNA-fragmenten kunt scheiden op basis van hun lengte.
Genenpool	De verzameling van alle allelen die voorkomen in een populatie. Hoe groter de genenpool, hoe groter de genetische variatie.
Genetische variatie	Het bestaan van verschillende genotypen binnen een populatie of soort. Een grote genetische variatie is gunstig voor het overleven van de soort.
Mutatie	Verandering in het DNA.
Niet-coderend DNA	Gedeelten van het DNA die niet coderen voor een eiwit.
PCR	Polymerase chain reaction, een techniek waarmee je DNA kunt vermenigvuldigen.
Restrictie-enzym	Een enzym dat een specifieke sequentie in het DNA herkent en het DNA daar knipt.
Verwantschap	Biologische relatie tussen individuen. Afhankelijk van de context wordt hiermee evolutionaire afstamming van dezelfde voorouder of een familierelatie bedoeld.

