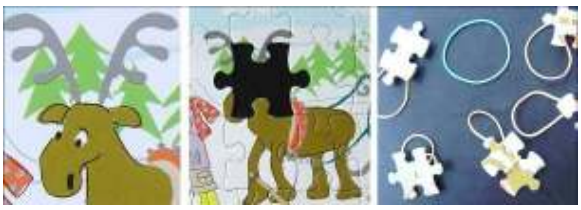
Dit document is gedownload door () op November 22, 2026.
Mag alleen gekopieerd worden voor gebruik binnen de school van 'gebruiker'. Zie ook de abonnementsvoorwaarden van Leapo.

BOBB
Biologisch onderzoek breder bekend

docentenhandleiding

De *LEVENDE* *LEGPUZZEL*



Een leermiddel dat is ontwikkeld binnen Life Sciences & Technology van hogeschool Van Hall Larenstein en NHL Hogeschool in Leeuwarden. Deze puzzel is beschikbaar voor docenten biologie in het kader van het project *BOBB* (biologisch onderzoek breder bekend) waarbinnen eerder een vergelijkbaar leermiddel is gelanceerd (DNAbAND, een klittenbandmodel om uit te leggen hoe DNA vermeerdering werkt).

Met *de Levende Legpuzzel* kan interactief duidelijk worden gemaakt hoe het **kloneren** van DNA in zijn werk gaat.

van hall larenstein university of applied sciences

LS&T LEEUWARDEN

NHL HOGESCHOOL

© sinds 2006 Feike R van der Leij, Van Hall Larenstein, versie maart 2017

www.DNAbAND.nl

Woord vooraf



Het pakket bestaat uit TWEE puzzeldozen, die in plastic verpakt worden geleverd. Daarnaast zit in het pakket een zwarte zak met circa 20 gewone elastiekjes en 10 blauwe elastiekjes. Één van de twee dozen moet u zelf nog met een zwarte viltstift bewerken. Dit is de mutant met het fenotype "Headless Deer": het puzzelstukje dat is voorgetekend op het deksel kunt u inkleuren.



Met de twee dozen beschikt u ook over twee sets puzzelstukjes. Die zijn niet allemaal nodig, maar het is zaak wel die met de kop van het rendier te gebruiken. Alle gewone elastiekje verknoopt u met puzzelstukjes. De blauwe elastiekjes blijven los in de zak, en er blijven ook nog puzzelstukjes zonder verknoopt te zijn. Hoeveel daarvan nodig zijn hangt van de grootte van de klas af. **Heel veel plezier gewenst!**

Dit document is gedownload door () op November 22, 2026.
Mag alleen gekopieerd worden voor gebruik binnen de school van 'gebruiker'. Zie ook de abonnementsvoorwaarden van Leapo.

Inleiding

Met de Levende Legpuzzel wordt uitgelegd hoe kloneren van DNA werkt. Je kunt het principe van antibioticumresistentie en de veelgebruikte blauw-wit screening ermee aanschouwelijk maken. Begrippen als genotype, fenotype, mutatie, dominant en recessief komen speels aan de orde, evenals competente bacteriën en DNA overdracht via transformatie.

Enige achtergrondinformatie - *Cloning* is een Engels woord

Het Engelse woord *cloning* kent twee Nederlandse vertalingen die niet hetzelfde betekenen. Voor jezelf en voor de klas is het handig het onderscheid helder te hebben. Het werkwoord "**klonen**" betekent het maken of vermeerderen van identieke organismen. Het eenvoudigste voorbeeld van klonen (zelfstandig naamwoord) is een eeneiige tweeling: dat zijn klonen van elkaar (identiek genotype). Aardappels en andere ongeslachtelijk voortplantende organismen zijn ook klonen van elkaar. Bacteriën binnen een enkele kolonie zijn ook klonen.
Het werkwoord "**kloneren**" wordt gebruikt om het vangen van een gezocht stukje DNA mee uit te drukken. Als het eenmaal gevangen is worden er van de bacterie die het bezit kolonies gekweekt (die bacteriën zijn dus klonen, zie hierboven). Kloneren van DNA gebeurt door middel van knippen en plakken. Hoe dat gaat is een ander verhaal, belangrijk is dat je DNA in stukjes kunt knippen, en dat je die stukjes gericht in een dragermolecuul kunt plakken.

Plasmiden lijken op elastiekjes*

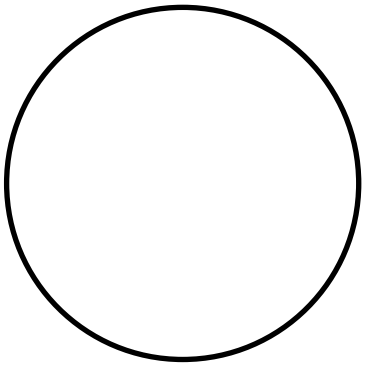
De dragermoleculen worden vectoren genoemd. De meest gebruikte vectoren zijn de zogenaamde **plasmiden**: cirkelvormige DNA-moleculen van enkele duizenden basenparen (meestal zo'n 3 kb = 3000 bp) waarin stukken DNA van circa 100 tot 10.000 bp (0,1 – 10 kb) geplakt kunnen worden. Een plasmide bevat in dit voorbeeld van zichzelf twee genen: een **penicillineresistentie**gen en een ***LacZ*** gen. Het eerste zorgt ervoor dat de bacteriën kunnen groeien in de aanwezigheid van penicilline (bacteriën zonder dat gen groeien niet zodra er penicilline in het groeimedium zit).
Het *Lac*Z gen is een gen dat zorgt voor blauwe kolonies. In de agar met groeimedium kan een stofje (X-gal) worden toegevoegd dat door de bacteriën met een actief *Lac*Z gen omgezet wordt in een blauwe kleur.
In de praktijk wordt *Lac*Z gebruikt om op een plek in dat gen het plasmide open te knippen. Het is de bedoeling in dat opengeknipte molecuul een **insert** (een stukje vreemd DNA) te plakken. Dat lukt niet altijd even goed, sterker nog, dat gaat vaker niet dan wel gebeuren. Om alle gevallen waarin het niet gebeurt te onderscheiden van de mogelijke succesgevallen wordt daarom de **blauw-wit** screening gebruikt. Plasmiden zonder insert plakken weer dicht en leveren een intact *Lac*Z gen op dat zorgt voor blauwe kolonies. Plasmiden mét insert onderbreken op die manier het *Lac*Z gen met als gevolg witte kolonies.
Meer over het *Lac*Z gen en het genproduct β-galactosidase is te vinden in standaard lesboeken, catalogi (bijv. Invitrogen, Promega) en op internet.

*Ook qua gedrag lijken plasmiden op elastiekjes: intacte (covalent gesloten) plasmiden kunnen zich tot compacte propjes vouwen en lopen dan sneller door een elektroforese-gel dan de "relaxte" soortgenoten.

Dit document is gedownload door () op November 22, 2026.
Mag alleen gekopieerd worden voor gebruik binnen de school van 'gebruiker'. Zie ook de abonnementsvoorwaarden van Leapo.

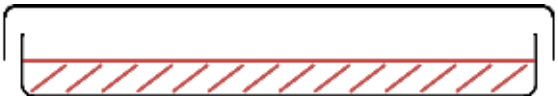
1 Voorbereiding

Je hebt in de klas een bord o.i.d. nodig dat je naast de powerpoint (ppt) presentatie in staat stelt één en ander toe te lichten. De ppt presentatie is te downloaden vanaf de levende legpuzzel site via www.DNAbAND.nl
Je hebt twee puzzeldozen (de wildtype en de mutant) en een zwarte zak met daarin de losse puzzelstukjes, waarvan een deel verknoopt met "witte" elastiekjes en een deel los in de zak (puzzelstukjes met de kop van het rendier moeten verknoopt zijn met "witte" elastiekjes). Daarnaast zijn er nog blauwe elastiekjes waaraan géén puzzelstukjes geknoopt zijn.



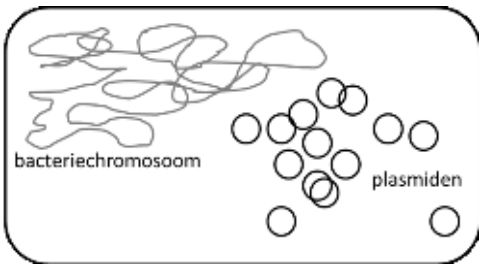
2 Een aardige manier om te beginnen

Teken op het bord een grote cirkel en vraag aan de klas wat het voorstelt. Je krijgt dan natuurlijk de meest fantastische antwoorden. Vertel dan dat je die cirkel ook anders kunt tekenen:

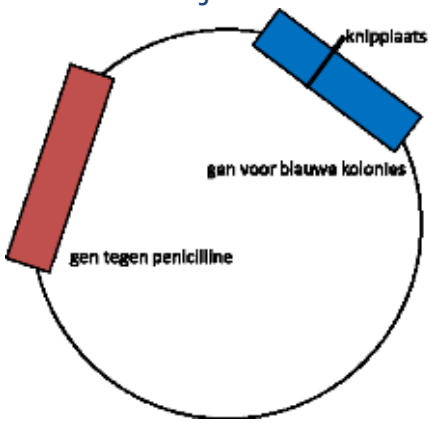


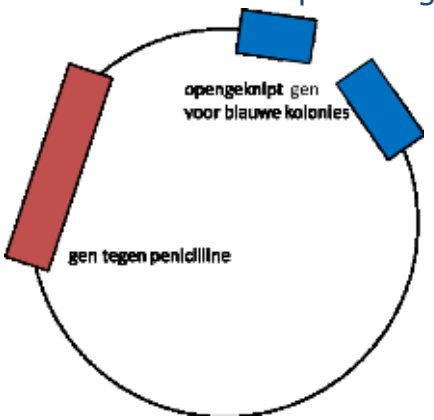
Hiermee laat je een doorsnede/zijaanzicht van een petrischaal met agar zien (de cirkel was een bovenaanzicht). De agar kun je arceren om uit te leggen dat er veel voedingsstoffen inzitten en ook penicilline en een stofje dat kleurloos is van zichzelf, maar blauw kleurt als je de goeie bacterie laat groeien. Je kunt op de agar blauwe en witte kolonies tekenen, en dat kun je ook doen in de cirkel van boven bekeken (zie powerpoint).

Enig besef van wat een bacterie is zul je hier misschien moeten bijbrengen. Bijv door een rechthoek op het bord te tekenen (de bacterie) met daarin een enkel bacterie-chromosoom en daarnaast kleine cirkeltjes: de plasmiden. Elke bacterie kan wel honderd plasmiden bevatten en in een kolonie groeien miljoenen cellen: met een kolonie die overnacht groeit op de agar heb je al gauw honderdmiljoen kopieën (ook wel "kloontjes" genoemd) van een enkel startplasmide.



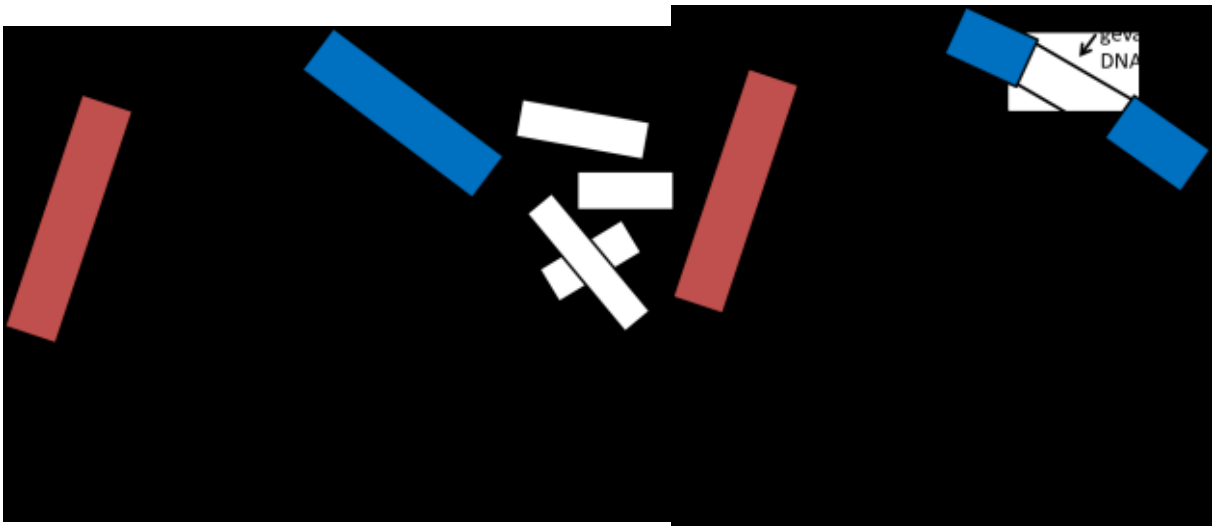
Teken nu weer een grote cirkel, net zoals de eerste keer en vraag wat het is. De petrischaal zal genoemd worden en je kunt de klas prijzen om hun snelle begrip. Maar.... gefopt, het is een uitvergroting van één van die kleine cirkeltjes van zonet: een plasmide dus. Teken daarop twee genen.

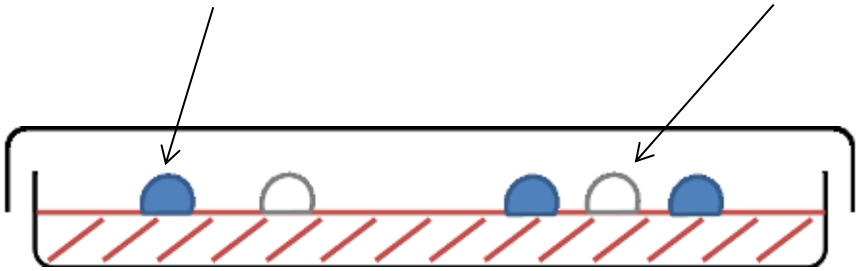




Dit document is gedownload door () op November 22, 2026.
Mag alleen gekopieerd worden voor gebruik binnen de school van 'gebruiker'. Zie ook de abonnementsvoorwaarden van Leapo.

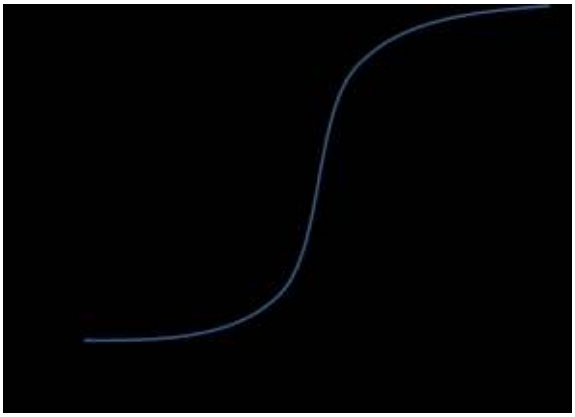
In het gen dat voor blauwe kolonies zorgt kan een stukje vreemd DNA geplaatst worden. Dat gebeurt door het gen open te knippen en er dan één van de vele stukjes DNA die je aanbiedt erin te plakken. Dat gaat niet altijd even succesvol en dat kun je mooi laten zien:



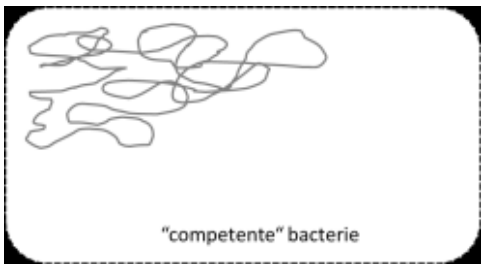




Dit gaat allemaal heel snel, dus kunnen we beter eerst even uitleggen hoe **transformatie** werkt. Met transformatie bedoelen we het proces waarmee een bacterie vreemd DNA tot zich neemt en handhaaft. Niet alle bacteriën kunnen dat: ze moeten **competent** gemaakt worden. Dat doe je door goed groeiende cellen te nemen (in de kracht van hun leven; net als de leerlingen/studenten waar we de levende legpuzzel mee gaan spelen) en met koude calcium oplossing te behandelen waardoor de bacteriemembraan doorlaatbaar wordt voor DNA. Dit is eventueel te illustreren met een groeicurve met lag (*lagging*); log (logaritmische) en plateau (stationaire) fase, en een tekening van een permeabele bacterie.



Ca^{++}
$0^{o}C$



Voor de meesten “ver van mijn bed”, dus gauw met het spel beginnen!

Dit document is gedownload door () op November 22, 2026.
Mag alleen gekopieerd worden voor gebruik binnen de school van 'gebruiker'. Zie ook de abonnementsvoorwaarden van Leapo.

Laat de puzzeldozen zien en vertel dat je een experiment met de klas wilt doen: we gaan een gen vangen! De klas moet zich voorstellen dat elk van hen een soort reuzenbacterie voorstelt, net als de puzzeldoos. De "officiële" naam van deze reuzenbacterie is: ***Jumbo legpuzzeliensis*** (latijnse naam volgens de regels schuin geschreven, geslachtsnaam met hoofdletter, soortsnaam niet).



Van de legpuzzel laat je het **wildtype** zien: de intacte puzzel. Maar... er is ook een variant waarin een **mutatie** is opgetreden: een **mutant**. De mutant is ietsje ander dan de wildtype puzzel: er is een verschil in **fenotype** (uiterlijk: het deksel). Daarvoor is het **genotype** verantwoordelijk: het DNA van de puzzel zijn de puzzelstukjes. De vraag is nu: welk gen van *Jumbo legpuzzeliensis* is nu zodanig gemuteerd dat de kop van het rendier ontbreekt: dát puzzelstukje gaan we kloneren!







Van de puzzel is dus een mutant gemaakt genaamd **Headless Deer** (de rendierkop ontbreekt). De mutatie heet *hld* (het is een **recessieve** mutatie en die schrijven we schuin met **kleine** letters) en we gaan op zoek naar het **dominante** *HLD* gen dat de *hld* mutatie op kan heffen (kan "repareren"). Dat doen we door een intacte puzzel (incl. dat ene stukje) in allemaal stukjes uiteen te halen en met elastiekjes te verknopen (we maken een genenbank van DNA in plasmiden).

Alles wordt doorelkaar gehusseld en gaat in een zwarte zak. De zak gaat door de klas: elke student pakt er één ding uit: óf een elastiekje, óf een puzzelstukje, óf een elastiekje waaraan een puzzelstukje zit verknoopt.

In de tussentijd vertel je dat elk een **mutante** *Jumbo legpuzzeliensis* voorstelt en dat je ze bij 0 graden Celsius ("op ijs" bibber bibber) DNA aanbiedt. Zij zijn de competente cellen die worden getransformeerd.

*De gewone elastiekjes zijn een beetje geelachtig en worden voor het gemak ook wel "wit" genoemd

Dit document is gedownload door () op November 22, 2026.
Mag alleen gekopieerd worden voor gebruik binnen de school van 'gebruiker'. Zie ook de abonnementsvoorwaarden van Leapo.

Vervolgens geef je nog een zogenaamde **hitteschok** (loop naar de radiator en de temperatuur in het lokaal gaat virtueel naar 42 graden! Puf puf). Deze transformatiemethode heet ook wel HEAT SHOCK method: één minuutje 42°C verhoogt het succes aanzienlijk. Nu moeten de cellen overnacht gaan groeien (doe evt. het licht uit) en moet ieder gaan **staan**.





Als iedereen staat leg je uit dat de bacterie is uitgeplaat op een petrischaal met voedingsbodem. In de voedingsbodem zit agar met daarin penicilline. Het elastiekje bevat een resistentie-gen tegen penicilline, dus iedereen die geen elastiekje heeft kan gaan zitten (die bacteriën zullen niet groeien). Dan blijven degene met elastiekjes over. Als er geen puzzelstukje in zit zijn die elastiekjes blauw. Met puzzelstukje zijn ze wit. We onderscheiden blauwe van witte kolonies: heb je een blauw elastiekje dan mag je gaan zitten. Uiteindelijk gaat iedereen zitten, behalve degene met het gezochte "gen": het puzzelstukje met daarop de rendierkop.

NB Zorg aan het einde van de les dat alles weer terugkomt (in ieder geval het puzzelstukje met de kop van het rendier!)
In het echt worden vaak overlappende klonen verkregen, dus je kunt het ook met TWEE van die stukjes doen (uitleggen dat DNA uit meer dan 1 cel wordt gewonnen)....

Er is een **powerpoint-presentatie** bij die al enkele jaren in Leeuwarden wordt gebruikt. Studenten onthouden deze les goed omdat ze massaal en fysiek moeten meedoen. Ze vinden het leuk bovendien want in het 3e jaar doen ze het met plezier nog een keer, terwijl in het 1e jaar dit ook al in verkorte versie de revue is gepasseerd!

De PPT kun je downloaden via www.DNAbAND.nl Een tweede PPT bevat de figuren die je zelf op het bord kunt tekenen. Heb je geen bord dan is die PPT een alternatief.
Op **LinkedIn** is een Community of Practice groep aangemaakt. HEEL GRAAG WILLEN WE RESPONS OVER ERVARINGEN, VERBETERINGEN ETC! Klik even door via www.DNAbAND.nl en sluit je aan bij de groep svp!

© sinds 2006 Feike R van der Leij, hogeschool Van Hall Larenstein. Met dank aan Jos Krabbe (foto's in de klas) en derdejaars studenten Life Sciences & Technology die in 2011 de module "Gene Hunting"volgden.