

Anleitung „Forensic DNA Fingerprinting“

für die Schülerinnen und Schüler

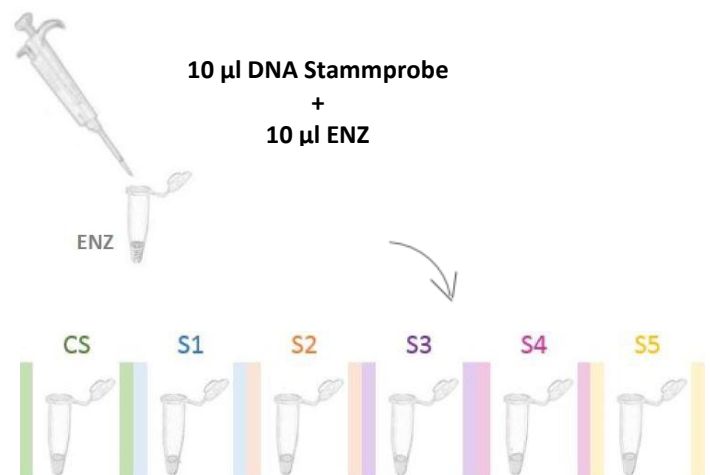
1. Beschrifte die bunten Tubes:

- grüner Tube **CS** (“crime scene”)
- blauer Tube **S1** (suspect 1)
- oranger Tube **S2** (suspect 2)
- violetter Tube **S3** (suspect 3)
- pinkere Tube **S4** (suspect 4)
- gelber Tube **S5** (suspect 5)



Notiere zusätzlich deinen Namen und deine Klasse auf den Tubes, damit die Proben nicht vertauscht werden.

2. **10 µl** von jeder **DNA Stammprobe** in die beschrifteten Tubes pipettieren. Die Flüssigkeit sollte in den Bodenbereich pipettiert werden.
Wichtig: Für jede Probe eine neue Spitze verwenden, um ein Vermischen der Proben zu verhindern.



3. Pipettiere **10 µl** des **Enzym-Mix (EZN)** dazu. Auch hier sollte die Flüssigkeit in den Bodenbereich pipettiert werden.
Wichtig: Für jede Probe eine neue Spitze verwenden, um ein Vermischen der Proben zu verhindern.

4. Deckel der Tubes schließen und die Proben kräftig mischen.
Entweder mit dem Finger gegen den Tube oder den Tube auf die Tischplatte klopfen.

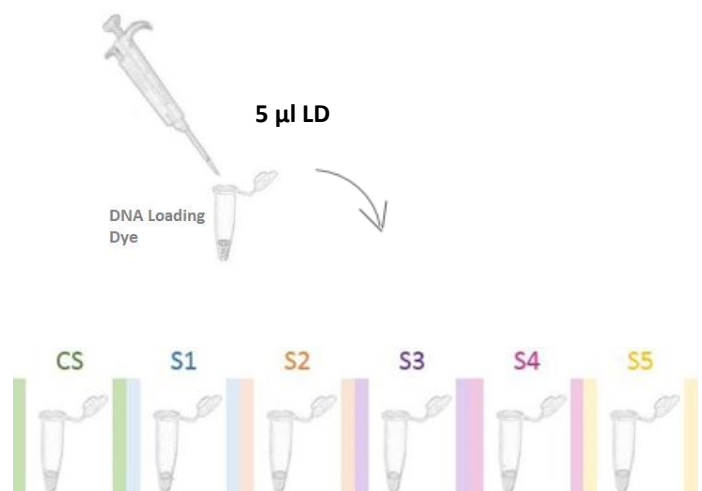


- Alle Tubes für 45 min bei 37°C im Wasserbad oder Wärmeschrank inkubieren.
- Agarosegel gießen (siehe Anleitung Agarosegel)

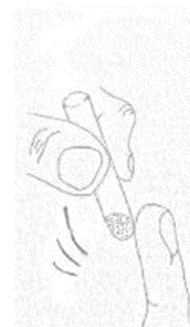
- Nach der Inkubation nochmals alle Proben kräftig mischen.
Entweder mit dem Finger gegen den Tube oder den Tube auf die Tischplatte klopfen.



- Pipettiere je 5 µl DNA Loading Dye (LD) in jede der sechs vorhandenen Proben.
Wichtig: Für jede Probe eine neue Spitze verwenden, um ein Vermischen der Proben zu verhindern.



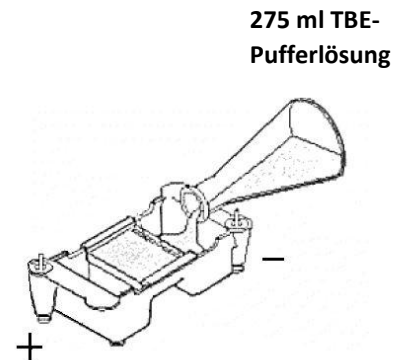
- Deckel der Tubes schließen und die Proben kräftig mischen.
Entweder mit dem Finger gegen den Tube oder den Tube auf die Tischplatte klopfen.



10. Elektrophoresekammer aufstellen und nicht mehr bewegen, damit die TBE-Pufferlösung eingegossen werden kann.

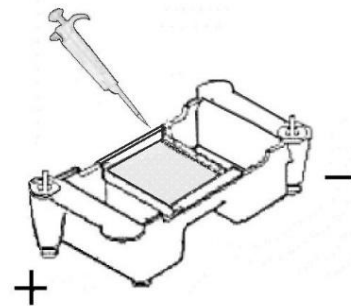
11. Kontrolliere nochmals ob die Taschen auf der Seite des Minuspols (schwarz) liegen!

12. Fülle die Elektrophoresekammer mit **275 ml TBE-Pufferlösung**, sodass das Agarosegel bedeckt ist.



13. Befülle die Taschen wie folgt:

- Tasche 1: **S** DNA Größenstandard, **10 μ l**
- Tasche 2: **CS** grüner Tube, **20 μ l**
- Tasche 3: **S1** blauer Tube, **20 μ l**
- Tasche 4: **S2** oranger Tube, **20 μ l**
- Tasche 5: **S3** violetter Tube, **20 μ l**
- Tasche 6: **S4** pinker Tube, **20 μ l**
- Tasche 7: **S5** gelber Tube, **20 μ l**



14. Setze vorsichtig den Deckel auf die Elektrophoresekammer. Verbinde die Elektroden mit dem Netzgerät (rot zu rot und schwarz zu schwarz).

15. Netzgerät einschalten und Elektrophorese für **20 min bei 200 V** starten.

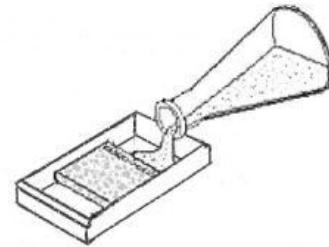
16. Nach 20 min das Netzgerät ausschalten und den Deckel abnehmen.



17. Mit Handschuhen ganz vorsichtig das Agarosegel aus dessen Einsatz herausnehmen. **Achtung**, das Gel ist sehr rutschig! Das pure Agarosegel in die Anfärbeschale überführen (Immer zwei Agarosegele pro Schale).

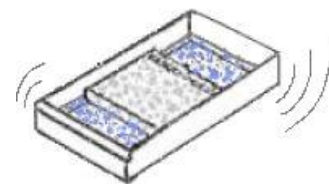
18. Gieße **120 ml Färbemittel** (Fast Blast DNA) in der Anfärbeschale über das Agarosegel.

120 ml Fast Blast
DNA



19. Färbemittel für **2 min** einwirken lassen. Vorsichtig das Färbemittel in einen Auffangbehälter abgießen.

20. Agarosegel in eine Waschschale überführen und mit warmen Wasser (40-55°C) für ca. **10 sek** spülen.



21. Durch **zweimaliges Waschen (je 5 min)** das Agarosegel abfärben. Die Waschschale dabei etwas hin und her schwenken.

22. Um das Ergebnis zu dokumentieren, kann jetzt entweder ein Foto von dem gemacht werden, oder der im Gel sichtbare Bandenverlauf wird in ein Heft gezeichnet. Das Agarosegel anschließend an der Luft trocknen lassen.

23. Ergebnisse auswerten.

Anleitung Agarosegel

In der Zwischenzeit die Agaroseplatte gießen (**Schritt 6**).

1. Wiege **1 g Agarose** in einem Becherglas ab und mische es mit **100 ml TBE-Pufferlösung**.
2. Mit einem Spatel gut umrühren und mithilfe einer Kochplatte zum Sieden bringen, bis eine klare Lösung entstanden ist.
3. Das Becherglas (Vorsicht heiß) von der Kochplatte nehmen und auf eine geeignete Unterlage stellen.
4. Die Lösung auf **60 °C** abkühlen lassen, hierfür die Temperatur mit einem Thermometer messen.
5. Elektrophoresekammer erschütterungsfrei aufstellen und den Gelkamm einsetzen.
6. **Wichtig:** Die Taschen müssen auf der Seite des Minuspols (schwarz) liegen. Die Elektrophoresekammer jetzt nicht mehr bewegen, damit das Agarosegel gegossen werden kann.
7. Agarosegel langsam in die dafür vorgesehene Kammer gießen. Die Schicht sollte ca. **0,5 - 0,7 cm** dick sein.
8. Agarosegel für ca. **10 – 15 min** bei Raumtemperatur aushärten lassen. Das Gel wird im Abkühlprozess langsam milchig. Das Agarosegel ist einsatzbereit, wenn es komplett milchig geworden ist.
9. Gelkamm vorsichtig aus dem festen Gel entfernen, hierfür den Kamm senkrecht nach oben herausziehen.

Weiter auf Seite 2 Schritt 7.



Das Projekt Lehrer-bildung@LMU wird im Rahmen der gemeinsamen „Qualitätsoffensive Lehrerbildung“ von Bund und Ländern aus Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung gefördert.

