

## Forensic DNA Fingerprinting Lehrerhandreichung

### Überlegungen zum Einsatz in der Schule

Durch verschiedenste Medien haben die Schülerinnen und Schüler sicherlich mitbekommen, dass winzige Mengen von DNA ausreichen um Personen zu identifizieren. Durch die DNA Fingerprinting Analyse können beispielsweise Straftaten noch nach vielen Jahren aufgeklärt werden. Außerdem wird DNA Fingerprinting in medizinischen und forensischen Verfahren, sowie in der Vaterschaftsbestimmung verwendet, um genetische Beziehungen zwischen Individuen auf molekularer Ebene zu erkennen.

Diese Kontexte eignen sich als Anknüpfungspunkte für das Fingerprinting Verfahren. Der Realitätsbezug soll das Interesse der Schülerinnen und Schüler wecken und sie für das Thema sensibilisieren. Will man die Methode im Unterricht durchführen, muss man auf entsprechende Kits der Lehrmittelhersteller zurückgreifen.

Die vorliegende Beschreibung bezieht sich auf das Forensic DNA Fingerprinting Kit von BIO RAD. Durch dieses Kit wird den Schülerinnen und Schülern teilweise ermöglicht, in die Rolle eines forensischen Wissenschaftlers zu schlüpfen. Die Schülerinnen und Schüler bekommen sechs verschiedene Proben von Plasmid-DNA. Eine davon ist die am hypothetischen Tatort gesammelte Probe und die übrigen fünf Proben gehören zu verschiedenen Tatverdächtigen. Diese sechs Proben gilt es zu vergleichen, um so den Täter zu identifizieren. Dieses Kit ist aufgrund seiner Komplexität eher für Schülerinnen und Schüler der Oberstufe zu empfehlen. Nichtsdestotrotz lässt sich dieses Kit, mit entsprechender Anleitung, auch in der Mittelschule oder Realschule (ab Jahrgangsstufe 9) einsetzen.

Zur Unterstützung der Schülerinnen und Schüler wurden die einzelnen Schritte in einer Handreichung ([Forensic DNA Fingerprinting\\_Anleitung](#)) und einem Tutorial ([Schülervideo\\_Fingerprinting](#)) dargestellt, so dass die Schülerinnen und Schüler die Arbeitsanweisungen selbständig durchführen und bei Bedarf auf das Tutorial zurückgreifen können.

Die vorzubereitenden Arbeiten der Lehrkraft sind in dem Tutorial ([Lehrervideo\\_Fingerprinting](#)) und nachfolgend dargestellt.

### Vor der Bestellung und der eigentlichen Vorbereitung

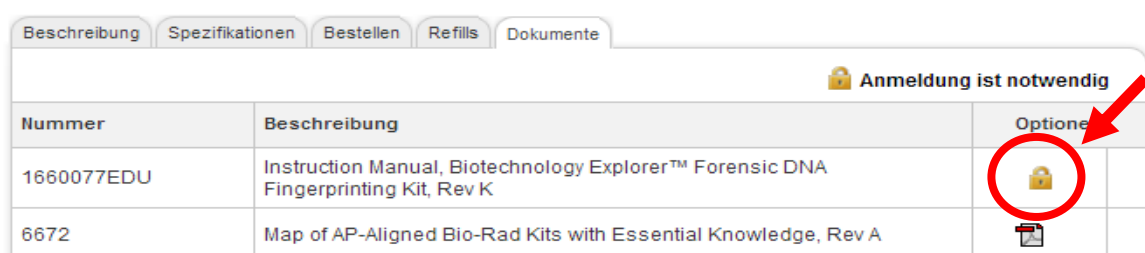
Bevor das Kit bestellt wird und bevor die eigentlichen Vorbereitungen beginnen können, sollte ein passender Zeitraum für die Versuchsdurchführung gewählt werden. Die Vorbereitungen, die von der Lehrkraft durchgeführt werden müssen, nehmen nur für das Ansetzen und Rehydrieren der Flüssigkeiten einige Zeit (mind. eine Stunde) in Anspruch und anschließend müssen die Proben in einem Zeitfenster

von ca. 12 Stunden verwendet werden. Also muss gut überlegt werden, wann und wie dieser Versuch im Unterricht eingesetzt werden kann.

## Bestellung des DNA Fingerprinting Kits

Das Kit kann online über BIO RAD bestellt werden, kostet ungefähr 160 Euro und reicht für eine Durchführung. Ausgelegt ist das Kit für ca. 32 Schülerinnen und Schüler. Was bedeutet, dass es acht Stationen mit jeweils vier Schülerinnen und Schülern geben könnte.

In dem Kit sind alle benötigten Reagenzien enthalten. Laborgeräte wie zum Beispiel die Elektrophoresekammern oder die Pipetten beinhaltet das Kit nicht, diese Geräte müssen falls nicht vorhanden extra bestellt werden. BIO RAD stellt ein Begleitheft zu diesem Kit zur Verfügung, welches online heruntergeladen werden kann. Dazu ist allerdings eine Registrierung auf der BIO RAD Homepage notwendig, denn diese Datei ist nicht frei zugänglich (siehe Abbildung 1.).





Nummer	Beschreibung	Optionen
1660077EDU	Instruction Manual, Biotechnology Explorer™ Forensic DNA Fingerprinting Kit, Rev K	
6672	Map of AP-Aligned Bio-Rad Kits with Essential Knowledge, Rev A	

Abbildung 1: Bestellseite für das Forensic DNA Fingerprinting Kit von BIO RAD\*

## Erhalten des DNA Fingerprinting Kits

Das Kit wird bei Raumtemperatur ausgeliefert und sollte nach dem Erhalten sofort geöffnet werden. Es wird empfohlen, die gekennzeichnete Reagenzien-Tasche bei -20°C aufzubewahren und das Kit innerhalb von 3 Wochen einzusetzen. Sind die enthaltenen Proben erst einmal rehydriert und angesetzt, müssen diese innerhalb von 12 Stunden im Unterricht eingesetzt werden.

## Sicherheitshinweise

Trinken, Essen, Auftragen von Kosmetika und Rauchen ist im Arbeitsbereich nicht gestattet. Es wird empfohlen eine Schutzbrille und Handschuhe während des Versuchs zu tragen. Die Schülerinnen und Schüler sollten vor und nach der Bearbeitung ihre Hände mit Seife waschen. Sollte ein Teilnehmer eines der Lösungsmittel ins Auge bekommen, ist dies mit Wasser für 15 Minuten auszuspülen. Auch wenn das Färbemittel (Fast Blast DNA) nicht giftig ist, sollten Handschuhe getragen werden, um die Hände vor Verfärbungen zu schützen. Darüber hinaus können Laborkittel oder andere Schutzkleidung getragen werden, um Verfärbungen der Kleidung zu verhindern.

\*Abbildung 1: Forensic DNA Fingerprinting Kit von BIO RAD; Quelle: [http://www.bio-rad.com/de-de/product/forensic-dna-fingerprinting-kit?pcp\\_loc=catprod](http://www.bio-rad.com/de-de/product/forensic-dna-fingerprinting-kit?pcp_loc=catprod)

## Benötigt Materialien

- DNA Fingerprinting Kit
- Wasserbad oder Wärmekammer
- Horizontale Elektrophoresekammer
- Schutzbrillen
- Handschuhe
- Laborkittel
- Pipetten (2-20  $\mu\text{l}$  und 100-1000  $\mu\text{l}$ )
- Passende Pipettenspitzen
- Permanent Marker
- Kochplatte oder Mikrowelle
- Waage
- Thermometer
- Spatel
- Eieruhr
- Eis
- Becherglas (für das Agarosegel und als Müllbecher)
- Erlenmeyerkolben (für den TBE-Puffer und das Färbemittel)
- Färbeschale (dafür auch gut geeignet Frischkäseschalen)
- Waschschale (dafür auch gut geeignet Eiscremeschalen)

## Vorbereitungen für die erste Unterrichtsstunde (vgl. Lehrervideo\_Fingerprinting)

Die gefriergetrockneten DNA-Proben und der gefriergetrocknete Enzym Mix müssen vor Gebrauch rehydriert werden. Die DNA-Proben haben eine bunte Banderole und der Enzym- Mix befindet sich in dem bräunlichen Fläschchen.

1. Die Schutzkappen der DNA-Proben entfernen, so dass die Fläschchen nur noch durch die grauen Stöpsel verschlossen sind.
2. Die grauen Stöpsel vor dem Pipettieren aus dem Fläschchen entfernen und aufbewahren. Hierbei ist darauf zu achten, dass später jeder Stöpsel wieder sein Fläschchen verschließt, um ein Vermischen der Proben zu verhindern.
3. Nun werden je **200  $\mu\text{l}$**  des sterilen Wassers zu jeder der gefriergetrockneten DNA-Proben (bunte Banderole) pipettiert.
4. Danach das Fläschchen wieder mit dem Stöpseln verschließen und kräftig schütteln, damit sich der gesamte Inhalt auflösen kann.
5. Die bunten DNA-Proben für **15 min** bei Raumtemperatur wirken lassen und zwischendurch schütteln.
6. Den kompletten Inhalt der rehydrierten Proben in einen farblich passenden Microtube umfüllen, dies macht das Pipettieren für die Schülerinnen und Schüler später einfacher.
7. Nun den Stöpsel von dem Enzym-Mix entfernen und **750  $\mu\text{l}$**  des sterilen Wassers dazu pipettieren.
8. Das Fläschchen wieder mit dem Stöpsel verschließen und kräftig schütteln, damit sich der gesamte Inhalt auflösen kann.

9. Den Enzym-Mix für **5 min auf Eis** wirken lassen, danach vom Eis nehmen und den Stöpsel wieder entfernen.
10. Je **80 µl** des Enzym-Mixes in acht klare Microtubes pipettieren und mit **ENZ** beschriften. So erhält bei der späteren Versuchsdurchführung jede Gruppe eine eigene Probe.
11. Der rehydrierte Enzym-Mix sollte innerhalb von **12 Stunden** verwendet werden.

Der Elektrophorese Puffer wird als 50x konzentrierte Lösung geliefert und muss verdünnt werden, um die richtige Konzentration der TBE-Pufferlösung zu erhalten (1x konzentrierte Lösung). Dieser TBE-Puffer wird für das Gießen der Agaroseplatte und als Laufpuffer für die eigentliche Elektrophorese benötigt.

1. Es werden **2,94 l** destilliertes Wasser mit **60 ml** des Electrophoresis-Buffer 50x TAE z.B. in einem Erlenmeyerkolben verdünnt.
2. Das Gefäß anschließend verschließen oder abdecken und bei Raumtemperatur bis zum Einsatz lagern.

DNA ist naturgemäß farblos und deshalb nicht in dem Agarosegel zu sehen. Um die DNA-Banden sichtbar zu machen, müssen diese angefärbt werden. Dies geschieht mit dem Fast Blast DNA Stain. Auch diese Lösung wird hochkonzentriert geliefert und muss daher verdünnt werden.

1. Es werden **400 ml** destilliertes Wasser mit **100 ml** Fast Blast z.B. in einem Erlenmeyerkolben verdünnt.
2. Das Gefäß anschließend verschließen oder abdecken und bei Raumtemperatur bis zum Einsatz lagern.

Falls die Schülerinnen und Schüler die Agaroseplatten nicht selber gießen sollen, kann dies auch vorbereitet werden. Hierbei ist auf die Anzahl der Elektrophoresekammern zu achten. Ist nicht für jede Gruppe eine eigene Kammer vorhanden, können sich auch immer zwei Gruppen eine Elektrophoresekammer teilen. Dazu müssen nur zwei Gelkämme mit etwas Abstand in die Elektrophoresekammer eingesetzt und das Agarosegel anschließend gegossen werden.

1. Es wird **1 g Agarose** in einem Becherglas abgewogen und mit **100 ml TBE-Pufferlösung** gemischt. Diese Menge reicht für ca. für 2-3 Platten. Die Suspension mit einem Spatel umrühren und mit Hilfe einer Kochplatte oder Mikrowelle zum Sieden bringen, bis eine klare Lösung entstanden ist.

2. Das Becherglas (Vorsicht heiß) von der Kochplatte nehmen und auf eine geeignete Unterlage stellen.
3. Die Lösung sollte auf **60 °C** abkühlen, hierfür die Temperatur mit einem Thermometer kontrollieren.
4. Das Agarosegel langsam in die dafür vorgesehene Kammer gießen. Die Agaroseschicht sollte eine Dicke von ca. **0,5 - 0,7 cm** besitzen
5. **Wichtig:** Die Taschen müssen auf der Seite des Minuspols (schwarz) liegen. Die Elektrophoresekammer jetzt nicht mehr bewegen, damit das Agarosegel gegossen werden kann.
6. Danach das Agarosegel für ca. **10 – 15 min** bei Raumtemperatur aushärten lassen. Jetzt die Kammer nicht mehr bewegen, damit das Agarosegel gleichmäßig aushärten kann.
7. Das Gel wird im Abkühlprozess langsam milchig. Nach den 10 – 15 min sollte es komplett milchig und das Agarosegel ist somit einsatzbereit sein.
8. Im letzten Schritt der Agarosegel-Vorbereitung muss der Gelkamm vorsichtig aus dem festen Gel entfernt werden, hierfür den Kamm senkrecht nach oben herausziehen. Das Gel kann jetzt bis zum Einsatz, in einer Plastiktüte verpackt (schützt vor Austrocknung), im Kühlschrank gelagert werden.

### **Vorbereitungen für die zweite Unterrichtsstunde**

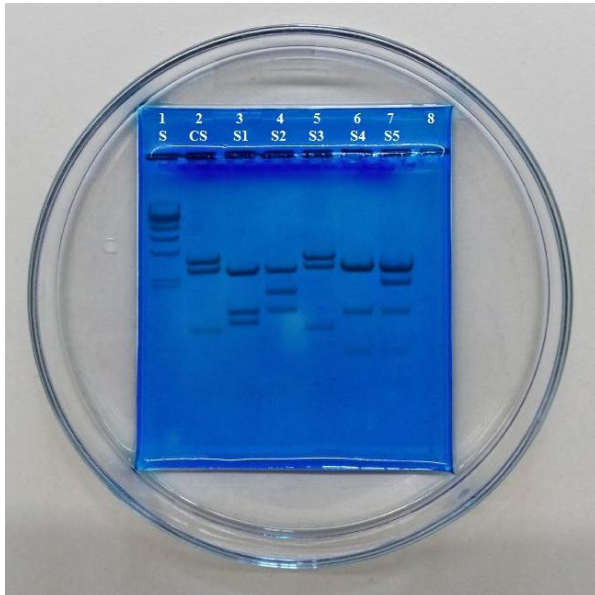
(vgl. Lehrervideo\_Fingerprinting)

1. Es werden **20 µl** der DNA Stample Loading Dye zur Hind III lamda digest (DNA Standard) dazu pipettieren.
2. Diese Probe für **5 min bei 65°C** im Wasserbad oder Wärmeschrank erhitzen und danach auf Eis abkühlen.
3. Die Probe vom Eis nehmen. Je **15 µl** der angesetzten Probe in acht klare Microtubes pipettieren und mit „**S**“ beschriften. So erhält bei der späteren Versuchsdurchführung jede Gruppe eine eigene Probe.
4. Danach in weitere acht klare Microtubes je **50 µl** DNA Stample Loading Dye pipettieren und mit „**LD**“ beschriften. So erhält bei der späteren Versuchsdurchführung jede Gruppe eine eigene Probe.

## Auswertung und Ergebnisse:

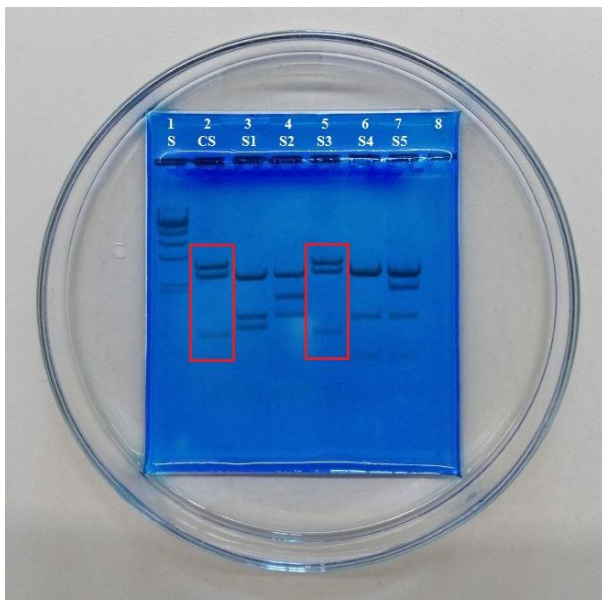
Nach den angegebenen 20 Minuten bei 200 Volt ist das Versuchsergebnis nicht immer eindeutig zu erkennen, eventuell muss die Elektrophorese etwas länger laufen gelassen werden. Es ist laut Hersteller auch möglich die Elektrophorese bei 100 Volt für 30 Minuten laufen zu lassen.

Im Idealfall ergibt sich folgendes Bild (siehe Abbildung 3 als auch Abbildung 4).



- Tasche 1 enthält die HindIII lamda digest (S).
- Tasche 2 enthält die „Crime Scene“ (CS).
- Tasche 3 enthält das Suspect 1 (S1).
- Tasche 4 enthält das Suspect 2 (S2).
- Tasche 5 enthält das Suspect 3 (S3).
- Tasche 6 enthält das Suspect 4 (S4).
- Tasche 7 enthält das Suspect 5 (S5).
- Tasche 8 ist eine leere Spur, ohne Probe.

Abbildung 3: Agaroseplatte mit den im Versuch entstandenen Bandenmustern.



Es ist zu erkennen, dass die DNA Probe „Crime Scene“ (CS in Tasche 2) und die DNA Probe Suspect 3 (S3 in Tasche 5) identisch sind.

Abbildung 4: Agaroseplatte mit den im Versuch entstandenen Bandenmustern, zur Verdeutlichung rot markiert.

Anhand der so ermittelten DNA Probe konnte ein erster Nachweis erbracht werden, um den potentiellen Täter zu überführen. Aber für eine Verurteilung müssten noch mehr Beweise erbracht werden, um die Schuld des Tatverdächtigen zu beweisen. Weitere Hinweise auf den Täter, die an einem Tatort sichergestellt werden können, sind z.B. der Schuhabdruck, der klassische Fingerabdruck, die Zeugenbefragung, aber auch ballistische (Ballistik = Lehre von Schusswaffen, Munition und Schusswirkung) Spuren. Auf der Homepage [www.kriminalwissenschaft.de](http://www.kriminalwissenschaft.de) gibt es unter dem Unterpunkt „Kriminaltechnik“ neben den genannten, noch einige weitere Nachweisverfahren, um einen potentiellen Täter zu überführen.

Da es sich bei diesem Versuch um eine Simulation der Täterüberführung mittels Fingerprinting handelt, sind die DNA Segmente komprimiert und nur einige Bandenmuster zu sehen. Bei einer echten DNA Fingerprinting Analyse wären die DNA Segmente viel größer, es würde viel mehr Bandenmuster geben. Zusätzlich wäre die Anzahl der zu untersuchenden Proben, die es zu identifizieren gilt, größer. Um die Schülerinnen und Schüler nicht zu überfordern, ihnen einen Einblick in dieses Verfahren zu gewähren und die Auswertung der Ergebnisse übersichtlicher zu gestalten, wurde in diesem Kit auf eine Vielzahl an verschiedenen Bandenmustern verzichtet.



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

