

Beta Excellent Klas 4 2011-2012

**DNA**

**PRACTICUM**

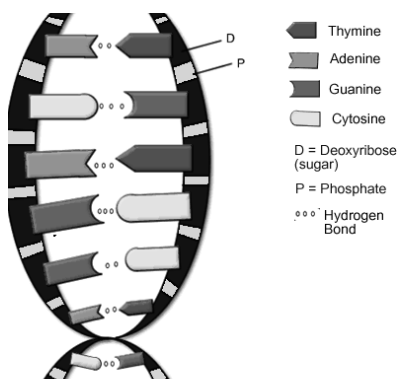
LEERLINGENHANDLEIDING

## Inleiding

In 1888 waarde door het Londonse East End de seriemoordenaar Jack the Ripper. Hij vermoordde prostituees, waarna hij met een mes enkele organen verwijderde. Ondanks uitvoerig onderzoek heeft men nooit de identiteit van Jack the Ripper weten te achterhalen. Zelfs nu nog worden er boeken geschreven over deze zaak en in 1993, meer dan honderd jaar na de moorden, kwamen onderzoekers nieuwe verdachten op het spoor.

Aan het eind van de negentiende eeuw had de politie nog maar weinig mogelijkheden tot onderzoek. De vingerafdruk werd pas vanaf 1901 gebruikt in onderzoek naar misdaden, waardoor de politie in 1888 grotendeels afhankelijk was van getuigen. Aangezien die er niet waren, kon Jack the Ripper ongestraft blijven.

De vingerafdruk maakte het werk van de politie een stuk minder ingewikkeld, doordat vingerafdrukken gevonden op de plek van het misdrijf konden worden vergeleken met de vingerafdrukken in de archieven. Helaas is de vingerafdruk niet te gebruiken als een crimineel handschoenen aan heeft. Een nieuwe identificatiemethode was welkom. Met behulp van technieken die de afgelopen twintig jaar zijn ontwikkeld is er nu zo'n methode.



## DNA

Ieder mens bewaart in al zijn cellen een unieke verzameling genetisch materiaal, het DNA. Het is nu mogelijk om mensen te identificeren aan de hand van dat DNA. Dit betekent dat een haar aanwezig op de plek van een misdrijf voldoende zou kunnen zijn om vast te stellen wie de dader is. Daarnaast kunnen met deze technieken ook relaties tussen individuen worden onderzocht (denk aan familieonderzoek) en gebruiken biologen deze technieken om verschillende organismen met elkaar te vergelijken. Van het te onderzoeken DNA wordt in al deze gevallen een zogenaamde DNA-vingerafdruk gemaakt

Tijdens dit practicum ga je verschillende technieken die bij een DNA-vingerafdruk worden gebruikt leren kennen en uitvoeren. Aan het eind van de proef ga je zelf een DNA-vingerafdruk analyseren. Elke paragraaf geeft een korte theoretische uitleg. Met behulp van de praktische handleiding (het 'protocol'), waarnaar je op gezette momenten in de tekst wordt verwezen, wordt de daadwerkelijke proef uitgevoerd. Moet je een tijdje wachten? Lees dan verder in de handleiding.

Bekijk de volgende animaties:

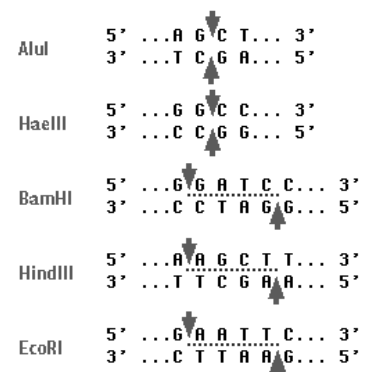
[http://www.bioplek.org/animaties/moleculaire\\_genetica/dna.htm](http://www.bioplek.org/animaties/moleculaire_genetica/dna.htm)

## Knippen van DNA

Het DNA in een menselijke cel bestaat uit 6,5 miljard stikstofbasen en heeft een lengte van ongeveer drie meter wanneer het niet gespiraliseerd is. Er zijn technieken waarmee de volgorde van de stikstofbasen kan worden bepaald, maar om met die technieken het DNA van twee mensen met elkaar te vergelijken zou jaren in beslag nemen. Met een DNA-vingerafdruk kunnen DNA monsters snel met elkaar worden vergeleken. Onmisbaar in het gebruik van deze techniek zijn de zogenaamde

Restrictie-enzymen knippen in het DNA op vaststaande plekken. Zo'n chemische reactie wordt een digestie genoemd. Verschillende restrictie-enzymen knippen op verschillende plekken. EcoRI is zo'n restrictie-enzym; het knipt DNA tussen de G en de A van de basenvolgorde GAATTC. De basenvolgorde die het restrictie-enzym herkent is palindromisch: de bovenste streng van links naar rechts is identiek aan de onderste (complementaire) streng van rechts naar links.

Ondertussen zijn er al meer dan 1200 restrictie-enzymen ontdekt die in totaal meer dan 150 verschillende stikstofbasenvolgorde kunnen herkennen. De herkenningsplek varieert in grootte van vier tot acht stikstofbasen en de enzymen knippen binnen die volgorde op verschillende plekken. Na een digestie van het DNA van een individu met één restrictie-enzym krijg je een verzameling van fragmenten van verschillende grootte. Knip je datzelfde DNA met een ander restrictie-enzym dan krijg je een andere verzameling van fragmenten van verschillende grootte.

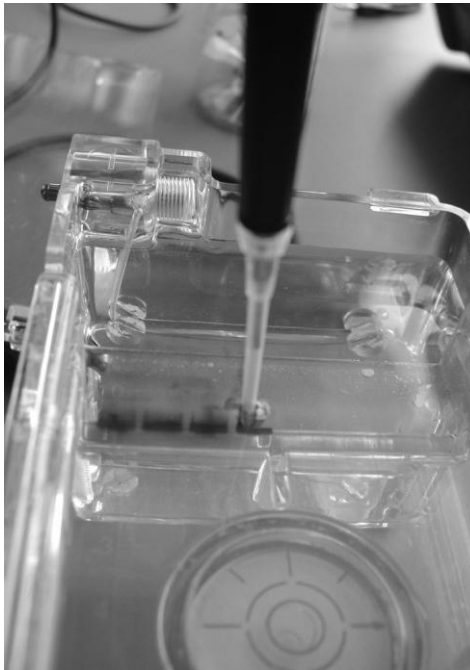


AluI and HaeIII produce blunt ends

BamHI HindIII and EcoRI produce "sticky" ends

## Analyseren van DNA-fragmenten

Nadat het DNA is geknipt moeten verschillende monsters met elkaar worden vergeleken. Hiervoor moet aan twee voorwaarden worden voldaan. Ten eerste moeten de verschillende fragmenten waarin het DNA is geknipt van elkaar worden gescheiden en ten tweede moet het DNA zichtbaar worden gemaakt. De techniek die je hiervoor gaat gebruiken heet DNA-gelelektroforese. Met deze techniek worden DNA-fragmenten gescheiden op grootte.



## Scheiden van DNA-fragmenten

Het principe van DNA-elektroforese is gebaseerd op de elektrische lading van DNA en de eigenschappen van de agarosegel.

De bouwstenen van DNA bestaan uit een stikstofbase (adenine, cytosine, thymine of guanine), een suiker (deoxyribose) en een fosfaatgroep. Deze fosfaatgroep is onder proefomstandigheden negatief elektrisch geladen. Breng je nu een spanningsverschil aan tussen beide zijden van de gel, dan zorgen de negatief geladen fosfaatgroepen ervoor dat het DNA richting de positieve pool loopt.

Agarose is zuivere agar, een stof die uit zeewier wordt gewonnen en in Japan als ingrediënt van voedsel wordt gebruikt. De structuur van agarose zorgt ervoor dat grote DNA fragmenten langzamer door de gel lopen dan kleinere fragmenten. Hierdoor kun je uiteindelijk de grotere fragmenten van de kleinere onderscheiden (zie ook figuur 2).

Om te voorkomen dat het DNA bij de positieve pool van de gel afloopt wordt een gekleurde 'laadbuffer' aan de monsters toegevoegd die sneller dan het DNA naar de positieve pool beweegt. Als de spanning van de gel wordt afgehaald voordat de kleurstof van de gel verdwijnt, weet je zeker dat het DNA nog niet van de gel is afgelopen.

Bekijk de volgende animatie:

[http://www.bioplek.org/animaties/moleculaire\\_genetica/gelelectrof2.html](http://www.bioplek.org/animaties/moleculaire_genetica/gelelectrof2.html)

## Kleuren van DNA

Nadat de spanning van de gel is gehaald wordt het DNA gekleurd met een kleurstof zodat de fragmenten zichtbaar worden. Na de kleuring kunnen de fragmenten met elkaar worden vergeleken.

