



IMST – Innovationen machen Schulen Top

Kompetent durch praktische Arbeiten – Labor, Werkstätte & Co

POLYMERASE KETTENREAKTION (PCR)

HAUTNAH

DIE SCHLÜSSELTECHNIK DER MOLEKULARBIOLOGIE IM SCHÜLERINNEN- UND SCHÜLERVERSUCH

ID 1493

MMag.^a Dr.ⁱⁿ Birgit Huber

Mag. Josef Gottsbachner

BG/BRG Freistadt



Freistadt, Juli 2015

INHALTSVERZEICHNIS

ABSTRACT	4
1 EINLEITUNG	5
1.1 Die Ausgangssituation	5
1.2 Die Idee zu <i>Polymerase Kettenreaktion hautnah</i>	5
1.3 Die PCR Reaktion.....	6
2 ZIELE	7
2.1 Ziele auf SchülerInnenebene	7
2.2 Ziele auf LehrerInnenebene	8
2.3 Verbreitung der Projekterfahrungen.....	8
3 DURCHFÜHRUNG	9
3.1 Bau eines Thermocyclers im WPG Physik	9
3.1.1 Beschaffung des Thermocyclers	9
3.1.2 Elektrotechnische Grundlagen und Bau des Thermocyclers	9
3.1.3 Erste Funktionstests und Präsentation.....	10
3.2 PCR Experiment in Biologie und Umweltkunde.....	10
3.2.1 Erarbeitung der Grundlagen.....	10
3.2.2 Das Prinzip der Polymerase Kettenreaktion.....	11
3.2.3 Anwendungsmöglichkeiten der PCR	11
3.2.4 Einführung in das Arbeiten im Labor	12
3.2.5 Amplifikation der Alu-Sequenz mit dem gebauten Thermocycler	12
3.2.6 Auswertung und Interpretation der PCR Ergebnisse	12
3.3 Austausch zwischen SchülerInnen der beiden Fächer.....	13
3.4 Information der Lehrer in den ARGES	13
4 EVALUATIONSMETHODEN	14
5 ERGEBNISSE	15
5.1 Ergebnisse zu Ziel Motivation.....	15
5.2 Ergebnisse zu Ziel Selbsttätigkeit	17
5.3 Ergebnisse zu Ziel Fachliches Verständnis	18
5.4 Ergebnisse zu Ziel Handwerklich-technische Kompetenzen	19
5.5 Ergebnisse zu Ziel Selbsttätigen Lernprozess begleiten.....	20
5.6 Ergebnisse der PCR-Reaktionen	21
6 DISKUSSION/INTERPRETATION/AUSBLICK	23

7 LITERATUR 25

ABSTRACT

Das Projekt „Polymerase Kettenreaktion hautnah“ zielte darauf ab, SchülerInnen mit einer im biowissenschaftlichen Bereich entscheidenden Technik vertraut zu machen, die normalerweise in allgemeinbildenden Schulen nur schwer durchzuführen ist. SchülerInnen des Wahlpflichtfachs Physik der 10. Schulstufe bauten mittels eines Bausatzes einen Thermocycler, der dann mit Hilfe der FH Hagenberg von den BiologieschülerInnen der 11. Schulstufe verwendet worden ist, um erste PCR Reaktionen zu testen. Der selbsttätig-forschende Ansatz sollte die SchülerInnen motivieren und ihre fachlichen und handwerklich-technischen Kompetenzen steigern. Dies wurde mittels Fragebögen, SchülerInnenbefragungen und Unterrichtsbeobachtungen evaluiert. Die Ergebnisse zeigten, dass diese Ziele durchaus erreicht worden sind und die SchülerInnen größtenteils vom Projekt profitieren konnten.

Schulstufe:	10./11. Schulstufe
Fächer:	Biologie und Umweltkunde, Wahlpflichtgegenstand Physik
Kontaktperson:	Birgit Huber
Kontaktadresse:	Zemannstraße 4, 4240 Freistadt
Zahl der beteiligten Klassen:	2
Zahl der beteiligten SchülerInnen:	28

Urheberrechtserklärung

Ich erkläre, dass ich die vorliegende Arbeit (=jede digitale Information, z.B. Texte, Bilder, Audio- und Video Dateien, PDFs etc.) selbstständig angefertigt und die mit ihr unmittelbar verbundenen Tätigkeiten selbst erbracht habe. Alle aus gedruckten, ungedruckten oder dem Internet im Wortlaut oder im wesentlichen Inhalt übernommenen Formulierungen und Konzepte sind zitiert und durch Fußnoten bzw. durch andere genaue Quellenangaben gekennzeichnet. Ich bin mir bewusst, dass eine falsche Erklärung rechtliche Folgen haben wird. Diese Erklärung gilt auch für die Kurzfassung dieses Berichts, sowie eventuell vorhandene Anhänge.

1 EINLEITUNG

1.1 Die Ausgangssituation

Der naturwissenschaftliche Unterricht am BG/BRG Freistadt ist vor allem in den Realklassen durch eine verstärkte Berücksichtigung von SchülerInnenexperimenten geprägt, die vor allem in speziell dafür vorgesehenen Laborstunden in den Fächern Physik, Chemie und Biologie durchgeführt werden. Die Wahlpflichtgegenstände (WPGs), die von den AHS SchülerInnen der 10.-12. Schulstufe frei wählbar sind, haben in den Naturwissenschaften eine vorwiegend praktisch-experimentelle Ausrichtung. Gerne wird auch fächerübergreifend gearbeitet, was sich innerhalb des naturwissenschaftlichen Bereichs oft anbietet.

Die heute untrennbare Verbindung von Lebenswissenschaften und Technik ist die Basis vieler neuer Erkenntnisse und Forschungsfelder. Vor allem neue Zweige wie die Biotechnologie sind stark auf technische Innovationen angewiesen. Um den SchülerInnen heute wichtige Technologien und Verfahren moderner Forschungsrichtungen wie Molekularbiologie und Genetik nicht nur in der Theorie, sondern auch in der Praxis näher zu bringen, bedarf es aber oft aufwändiger und teurer Apparaturen und Materialien sowie einer speziellen Laborausrüstung. Da aus diesem Grund solch komplexe Techniken nur selten in schülergerechten Experimenten nachvollzogen werden können, haben sie auch am BG/BRG Freistadt noch kaum Eingang in den sonst recht umfassenden praktischen Unterricht gefunden. Als Alternative wurde zum Teil auf das Angebot externer Einrichtungen zurückgegriffen.

1.2 Die Idee zu *Polymerase Kettenreaktion hautnah*

Vor allem die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und anschließende Methoden der Auswertung und Verarbeitung der Daten nehmen heute eine zentrale Stellung in den Biowissenschaften ein. Wir haben nun nach einem Weg gesucht, um mit den SchülerInnen diese grundlegende Technologie, die auch in AHS Lehrbüchern der 12. Schulstufe einen festen Platz hat (KOCH & KOCH, 2014, S. 74-75), auf projektorientierte und selbsttätig forschende Weise zu erarbeiten und den naturwissenschaftlichen Unterricht damit auch zeitgemäß zu gestalten. Die für die PCR notwendigen Apparate (Thermocycler) sind recht teure Geräte, weshalb deren Einsatz an allgemein bildenden Schulen in der Regel nicht möglich ist. Aufgrund dessen strebten wir also einen Selbstbau an, wofür sich die Kooperation der Fächer Biologie und Physik natürlich anbot. Das Know-How beider Unterrichtsfächer ist dafür nötig. Immer wieder diskutierten wir die (Un)Möglichkeiten eine einfache und kostengünstige Version eines Thermocyclers an der Schule mit den SchülerInnen als Teil des Physik-Laborunterrichts herzustellen und dann im Biologie-Laborunterricht zu nutzen. Konkret wurden unsere Pläne aber erst, nachdem wir von einem kleinen Unternehmen in den USA erfuhren, das Bausätze für einen „DIY“ Thermocycler herstellt, dessen Preis bei ca. 625 Euro (mit Versand nach Österreich) liegt.

Somit war nun eine realistische Möglichkeit gegeben, die SchülerInnen die PCR hautnah erleben zu lassen. Aus Erfahrungen mit dem bisherigen Biologieunterricht war die Technik der PCR zum Teil recht schwierig zu vermitteln, da durch eine rein theoretische Auseinandersetzung mit dem Thema, trotz Grafiken, Animationen, Videos etc., kein ausreichendes „Begreifen“ der Inhalte erreicht werden konnte. Laut SchülerInnenrückmeldungen im Unterricht waren genau die Dinge schwer nachzuvollziehen, die das Prozedere des Reaktionsansatzes (Was genau kommt hinein?; Wie sieht das jeweils in der Realität aus?; Wieviel ist in der Praxis ein Mikroliter?; Wie geht man mit so kleinen Mengen um?; und ähnliche Fragen) und den Thermocycler an sich (Aussehen/Größe des Geräts, Funktion, Bedienung) betreffen. Vermutlich führte genau dieses Unverständnis zu Aussagen wie „Das ist mir zu kompliziert.“, „Ich kann mir das nicht wirklich vorstellen.“ etc. Daher schien hier eine innovative Art des Kompetenzerwerbs besonders lohnenswert und war es uns ein Anliegen, den SchülerInnen Realerfahrungen in diesem Bereich zu ermöglichen, um einerseits die Motivation zu steigern und natürlich auch die Selbsttätigkeit zu fördern. Der selbständige Bau des Thermocyclers und die Durchführung

und Auswertung eines PCR-Experiments sollte den SchülerInnen diese Schlüsselmethode auf eine spannende und nachhaltige Art verständlich machen.

Im Fach Physik wurden die Grundlagen der Elektronik und Elektrotechnik zum Teil auch anhand von Experimenten erlernt, den SchülerInnen fehlte aber oft der Realitätsbezug. Es war deshalb sehr wünschenswert, das anders als sonst im allgemeinbildenden Schulwesen üblich, eine praktische Aufgabe gelöst werden musste, die ein einsatzfähiges Produkt als Ergebnis hatte, nämlich der Bau eines Geräts, das von anderen SchülerInnen benötigt wird. Dabei sollten die SchülerInnen nebst fachlichen auch handwerklich-technische Kompetenzen erwerben.

1.3 Die PCR Reaktion

Im Biologieunterricht entschieden wir uns für die Analyse eines bestimmten Alu-Elements. Alu-Sequenzen sind ganz spezielle, sich wiederholende DNA-Sequenzen in nicht-codierenden Bereichen des Genoms von Primaten. Sie sind meist um die 300 Basenpaare lang und machen einen beträchtlichen Anteil des menschlichen Genoms aus (>5%). Die genaue Entstehung dieser Elemente und ihre Funktionen sind Gegenstand aktueller Forschung. Man schätzt, dass alle hundert Jahre der Einbau eines Alu-Elements an einer neuen Stelle im Genom erfolgt. Die vorhandenen Alu-Sequenzen werden weitervererbt und während einige bei allen Menschen auftreten (Einbau evolutionär früher passiert), kommen andere bei manchen Menschen vor („++“) oder nicht („--“) bzw. gibt es auch Menschen, die dieses Alu-Element nur von einem Elternteil vererbt bekommen haben („+-“)¹

Die BiologieschülerInnen sollten die PCR nutzen, um ein solches „dimorphes“ Alu-Element, bezeichnet als PV92, auf Chromosom 16 zu vervielfältigen. Die SchülerInnen konnten damit ohne ethische Bedenken (nicht-codierender Bereich, keine medizinische Aussage) ihre eigene DNA als Kopiervorlage nutzen, um festzustellen, ob sie die Alu-Sequenz PV92 auf keinem, einem oder beiden betreffenden Chromosomen (väterlich/mütterlich) tragen. Gleichzeitig ermöglichte dieser Ansatz auch eine Einführung in heute sehr verbreitete DNA-Analyseverfahren in der Forensik und bei Vaterschaftsnachweisen (Genetischer Fingerabdruck), die auf demselben Prinzip beruhen (KOCH & KOCH, 2014, S. 73-76).

¹ siehe SCHULZ, 2010, S. 5; GRAW, 2008; <https://de.wikipedia.org/wiki/Alu-Sequenz>

2 ZIELE

Im naturwissenschaftlichen Unterricht mit seinen teils sehr komplexen Inhalten ist es für uns von großer Bedeutung, durch eigenständiges Handeln und Ausprobieren einen nachhaltigen Kompetenzerwerb bei den SchülerInnen anzuregen. Naturwissenschaftlicher Unterricht ist für uns in erster Linie Experimentalunterricht, die Freude am Selbst-Tun ein wichtiger Motivator. Auch relativ abstrakte Inhalte, wie hier Aspekte der Elektrotechnik und die Polymerase Kettenreaktion, sollen durch experimentellen Unterricht interessieren statt abschrecken und ein Kompetenzerwerb in diesen Bereichen als positiv herausfordernde Aufgabe betrachtet werden. Die Steigerung der Motivation durch Selbsttätigkeit war auf SchülerInnenebene ein übergeordnetes Ziel, das unter anderem helfen sollte, auch die anderen Ziele zu erreichen.

2.1 Ziele auf SchülerInnenebene

- Motivation

Durch den Bau und Betrieb des Thermocyclers soll den SchülerInnen die Sinnhaftigkeit und die praktische Bedeutung einiger Teilbereiche des Unterrichtsstoffs klarer vor Augen geführt werden. Dadurch erhoffen sich die betreuenden Lehrkräfte eine Steigerung der Motivation der SchülerInnen. Das Experimentieren soll den SchülerInnen Spaß machen und sie anregen, sich intensiv mit Thema zu beschäftigen.

- Selbsttätigkeit

Die SchülerInnen und Schüler sollten in Lage sein, selbständig einen Bausatz nach der beiliegenden Aufbauanleitung zusammenzustellen. Sie sollten in der Lage sein, unter intensiver Aufsicht, die in einer Arbeitsanleitung beschriebene PCR durchzuführen und die Ergebnisse der Gelelektrophorese zu interpretieren und diskutieren. Sie sollten sich aktiv ihren Aufgaben widmen und damit zum Erfolg des ganzen Projekts beitragen.

- Fachliches Verständnis

Der sehr abstrakte Ablauf einer PCR sollte den SchülerInnen durch die eigenständige Durchführung der PCR näher gebracht werden. Außerdem sollte dabei das Diskutieren und eventuell auch Lösen von Problemen bei auftretenden Schwierigkeiten oder negativen Ergebnissen zum generellen Lernerfolg beitragen. Das Experimentieren sollte also die Lernwirksamkeit erhöhen und zum besseren Verstehen des Lehrstoffs beitragen.

- Handwerklich-technische Kompetenzen

Die Benutzung von Werkzeugen beim Bau des Geräts und auch bei der Durchführung der PCR sollte trainiert und perfektioniert werden. Motorische Feinkoordination und auf das Ziel hingeringtetes handwerkliches Handeln sollten geübt werden. Die Scheu vor handwerklicher Betätigung, sowie die Angst, etwas kaputt machen zu können, sollte abgebaut bzw. vermindert werden.

Das technische Verständnis für die Handhabung der im Bausatz vorkommenden Komponenten sollte vermehrt werden. Konkret sollten folgende Fertigkeiten trainiert werden: räumliches Denken; korrektes Festziehen von Schrauben (nicht zu fest oder zu locker); Arbeiten bei beschränktem zur Verfügung stehendem Platz oder an schwer zugänglichen Stellen; Handhaben äußerst empfindlicher Bauteile (ein extrem dünnes Kabel eines Temperatursensors); Dosierung der Muskelkraft, sodass die Aufgabe zuverlässig gelöst werden kann, aber nichts zerstört oder beschädigt wird; Auge-Hand-Koordination bei der Verwendung von Werkzeug in einem praxisnahen technischen Kontext; Lösen schwierig erscheinender handwerklicher Aufgaben; Anordnung beweglicher Bauteile, sodass die Funktion des Geräts nicht beeinträchtigt wird (Kabel verlegen, dass es ordentlich aussieht und die Luftzirkulation im Gerät nicht behindert wird).

2.2 Ziele auf LehrerInnenebene

- Selbsttätigen Lernprozess begleiten

Die Lehrerin sollten durch das Begleiten der selbständigen Erarbeitungsphase der molekularen Grundlagen und der Durchführung der PCR durch die SchülerInnen ihre Fähigkeiten, die SchülerInnen in ihren selbsttätigen Lernprozessen zu unterstützen und zu begleiten, vermehren.

2.3 Verbreitung der Projekterfahrungen

- Workshop mit Fachkollegen
- SchülerInnen unterschiedlicher Schulstufen tauschen sich aus
- Radiobeitrag

3 DURCHFÜHRUNG

Die Planungsarbeiten für das Projekt beinhalteten den Bestellvorgang des Bausatzes für den *Open-PCR*² Thermocycler und Koordinierung und Terminfindung mit der Ansprechperson an der FH Hagenberg.

3.1 Bau eines Thermocyclers im WPG Physik

3.1.1 Beschaffung des Thermocyclers

Der Aufgabenbereich der Wahlpflichtgruppe Physik, bestehend aus einer Schülerin, vier Schülern und einem Lehrer, lag darin, den für die Polymerase Kettenreaktion benötigten Thermocycler aufzubauen und einige grundlegende Funktionstests durchzuführen. Die Dokumentation des Bausatzes ist im Sinne der OpenSource Bewegung quelloffen. Viele Bestandteile des Bausatzes sind handelsübliche Komponenten, beispielsweise aus der Computertechnik, oder werden im Bereich der Maker-Szene gerne verwendet. So kommt zur Steuerung des Geräts etwa eine Arduino-Plattform zum Einsatz; der Quellcode der Firmware wurde offengelegt. Viele andere Komponenten wiederum, wie etwa fast der gesamte mechanische Aufbau, die gerätespezifische Erweiterungsplatine für den Arduino, sind speziell für den Bausatz entwickelt und gefertigt worden. Es ist auch hier eine ausführliche Dokumentation verfügbar.

3.1.2 Elektrotechnische Grundlagen und Bau des Thermocyclers

Die SchülerInnen der Wahlpflichtfachgruppe Physik eigneten sich die wichtigsten Grundlagen der Elektronik und Elektrotechnik an. Einer Phase des Besprechens der theoretischen Grundlagen des Teilgebiets in Form eines Lehrervortrags folgte eine ausgedehnte Phase des Experimentierens, des Aufbaus und der Inbetriebnahme der entsprechenden Schaltung durch die SchülerInnen beziehungsweise der Messung der beim Experiment maßgeblichen physikalischen Größen. Zum reinen Zusammenbau des Geräts waren diese physikalischen und technischen Grundlagen zwar nicht unbedingt erforderlich, doch sollte der Bauvorgang in einen fachlichen Kontext eingeordnet werden.

Nach einer Kurzeinführung in den Zweck des Geräts und seiner Funktion durch den Lehrer wurde die Bauanleitung³ für den Thermocycler gelesen und besprochen. Die gelieferten Teile wurden kontrolliert. Dann erfolgte eine Aufteilung des Zusammenbaus der Baugruppen des Geräts auf die einzelnen SchülerInnen bzw. SchülerInnengruppen. Die einzelnen Baugruppen (Deckel, zentrale Funktionseinheit, Gerätefront, Gehäuse) wurden jeweils von Gruppen aus zwei SchülerInnen zusammengebaut. Manche Teilaufgaben auch von einzelnen SchülerInnen. Die Aufteilung der Baugruppen erfolgte spontan durch den Lehrer, je nach Arbeitsgeschwindigkeit der Schüler und der Komplexität der Baugruppen. Gegen Ende der Bauphase erfolgte der Zusammenbau der einzelnen fertig zusammengebauten Baugruppen zu einem funktionierenden Gerät schrittweise bei Verfügbarkeit der fertiggestellten Baugruppen durch eine Gruppe aus zwei Schülern.

Der Zusammenbau und die Inbetriebnahme beziehungsweise der Funktionstest nahmen insgesamt zwei Doppelstunden intensiven Arbeitens in Anspruch.

Beim selbständigen Zusammenbau war es von großer Bedeutung genau und verlässlich zu arbeiten. Die SchülerInnen sollten bei den Bautätigkeiten eine gewisse „Werkzeugbenutzungskompetenz“ erwerben und sie vor allem vertiefen.

² <http://openpcr.org/>

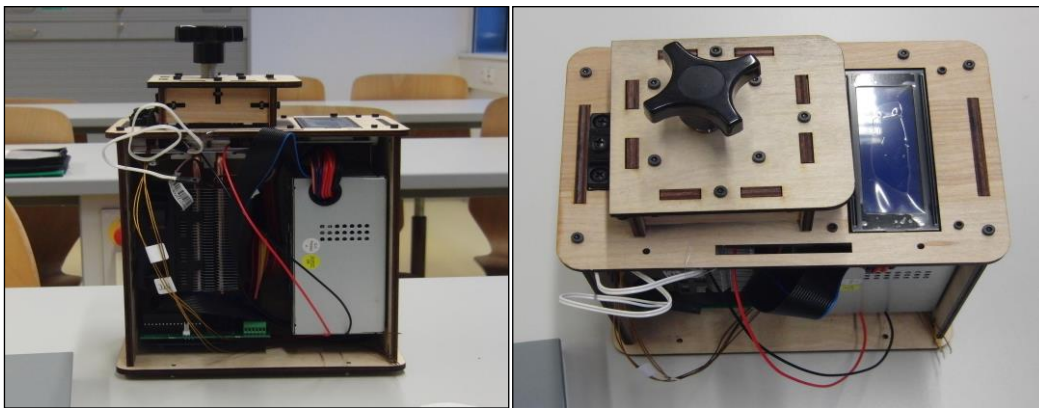
³ <http://download.openpcr.org/build/OpenPCR-BuildInstructions-1.2.pdf>

Ursprünglich wäre noch geplant gewesen, die Erweiterungsplatine und die Firmware des verwendeten Microcontrollerboards genauer zu untersuchen. Es stellte sich aber entgegen der ursprünglichen Annahme heraus, dass die oben genannte Erweiterungsplatine bereits fertig zusammengebaut und gelötet war und hier nur mehr Anschlussstecker einzustecken waren.

3.1.3 Erste Funktionstests und Präsentation

Die SchülerInnen führten nach der Fertigstellung des Thermocyclers erste Trockentests durch, um den BiologieschülerInnen ein auch sicher funktionstüchtiges Produkt übergeben zu können. Es wurde getestet ob das Gerät der Programmierung entsprechend heizte und kühlte und ob auch der Deckel sich wie erwünscht aufheizte. Es mussten einige Adjustierungen an der Verschraubung des Geräts vorgenommen werden bevor die PhysikscherInnen den älteren BiologieschülerInnen den Thermocycler vorstellen und über ihre Erfahrungen beim Zusammenbau berichten konnten.

Die den Aufgabenbereich der Physik Wahlpflichtfachgruppe abschließenden grundlegenden Funktionstests verliefen schließlich erfolgreich: Das Gerät schien wie gewünscht zu funktionieren.



Der fertige Thermocycler mit Blick auf das Innenleben.

3.2 PCR Experiment in Biologie und Umweltkunde

3.2.1 Erarbeitung der Grundlagen

Im Pflichtfach Biologie und Umweltkunde haben sich im Vorfeld des Projekts SchülerInnenteams (je 4 SchülerInnen) mit den molekularen Grundlagen der Genetik: Bau der DNA, Replikation, Weg vom Gen zum Merkmal und Mutationen auseinandergesetzt. Nachdem der Bau der Nukleinsäuren durch einen Vortrag der Lehrerin vermittelt wurde, widmeten sich die SchülerInnen im Rahmen von 6 Unterrichtseinheiten den oben genannten Themen. Mittels geeigneter Infotexte und dazu formulierter Fragestellungen⁴ (Beispiel siehe Anhang 1) haben sich die SchülerInnen zum Großteil selbständig die wichtigsten Inhalte angeeignet. Jede SchülerInnengruppe (je 4-5 SchülerInnen) hatte einen Themenbereich (DNA Packung im Kern, Erbinfo in Proteinen oder DNA?, Struktur der DNA, Replikation, Transkription/Translation) zu bearbeiten. Eine Gruppe mit 4 Repetenten übernahm dabei das Thema Transkription und Translation, das Vorwissen voraussetzte und bildete im Stationenbetrieb die letzte Station. Die SchülerInnen beschäftigten sich intensiv mit den Arbeitsblättern (lesen, verstehen, Aufgaben lösen, recherchieren) und gaben dann als Experten auf ihrem Gebiet ihr Wissen an die anderen SchülerInnengruppen in einem Stationensystem weiter. In mehreren zwischengeschalteten Ple-

⁴ In Anlehnung an Unterrichtsmaterialien des Deutschen Nationalen Genomforschungsnetzes (Modul 1); <http://www.ngfn-2.ngfn.de/genialeinfach/>

numphasen mit Präsentation wurden dann offene Fragen geklärt, Ergebnisse verglichen und das generelle Verständnis überprüft.

Dem essentiellen Vorgang der Replikation, dessen Verständnis für die Technik der PCR grundlegend ist, wurde noch speziell Zeit gewidmet. Die SchülerInnen führten auch ein Rollenspiel durch (Klasse in zwei große Gruppen geteilt), in dem sie die Replikation mit Körpereinsatz simulierten⁵.

3.2.2 Das Prinzip der Polymerase Kettenreaktion

Zuerst wurde mit den SchülerInnen überlegt, was man dazu braucht, um eine bestimmte DNA-Sequenz in vitro kopieren zu können. Da bei der PCR mit Hilfe natürlich vorkommender Enzyme im Laborgefäß Reaktionen ablaufen, die der Replikation in der Zelle sehr ähneln (wenn auch einfacher), sollten die SchülerInnen hier mit ihrem Wissen über die Replikation einige Komponenten nennen können (Polymerase, DNA-Proben, Nukleotide, Primer, Wasser/Puffer). Ideen wurden an der Tafel gesammelt, und zum Schluss von mir mit den noch nicht genannten Komponenten ergänzt. Außerdem sollte überlegt werden, wo man unter künstlichen Bedingungen sehr wahrscheinlich auf Probleme stoßen würde (Trennung der Doppelstränge, passende Temperaturbedingungen und Zusammensetzung des Reaktionsansatzes).

Der Ablauf einer Polymerase Kettenreaktion mit den sich mehrfach wiederholenden Amplifikationszyklen, Start- und Abschlussphase wurde dann den SchülerInnen mit Hilfe einer PowerPoint Präsentation⁶ näher gebracht. Den SchülerInnen wurde dabei auch verdeutlicht, dass der Einsatz programmierbarer Heizblöcke, sogenannter Thermocycler, die PCR heute automatisiert ablaufen lässt, wohingegen man früher die Versuchsansätze von Hand in Wasserbäder mit den unterschiedlichen Temperaturen, die für die Amplifikation nötig sind, einstellte.

In der darauffolgenden Unterrichtseinheit wurde auch das erste Mal der in der Zwischenzeit von der Physik WPG Gruppe zusammengebaute Thermocycler den BiologieschülerInnen durch die PhysikschülerInnen vorgestellt. Die fünf SchülerInnen präsentierten das Gerät und seine Funktionsweise und sprachen über ihre Erfahrungen beim Zusammenbau.

3.2.3 Anwendungsmöglichkeiten der PCR

Die Molekularbiologie des Genetischen Fingerabdrucks spielte für das PCR Experiment in diesem Projekt eine wichtige Rolle und wurde deshalb im Vorfeld auch behandelt. Dazu lösten die SchülerInnen nach einem informierenden Input von der Lehrerin eine schriftliche Aufgabe zum Thema Täteridentifikation in der Kriminalistik (Arbeitsaufgabe siehe Anhang 2). Mit dem gewonnenen Wissen sollten die SchülerInnen dann selbst überlegen, wie ein Vaterschaftsnachweis funktionieren könnte und welche Proben man dazu unbedingt braucht. Weiters wurde auch erklärt, wie im Prinzip ein Vaterschaftsnachweis durchgeführt wird und einige konkrete Beispiele zu VNTR (variable number tandem repeat) Polymorphismen durchbesprochen (mündliche Aufgaben anhand gezeigter Gelbilder). Ideen für die Vermittlung wurden unter anderem aus dem Lehrerhandbuch zum Experimentierkit GeneProfile™ (STOBINSKY & LUTZ, 2004, S. 7-16) gewonnen. In diesem Zusammenhang gab es auch eine kurze Einführung in die Bedeutung von Alu-Sequenzen, da die SchülerInnen diese im biowissenschaftlichen Labor der Fachhochschule Hagenberg untersuchen würden.

⁵ Ebert, Veronika: Die DNA-Verdopplung als Rollenspiel. Eine Unterrichtssequenz zur Biochemie.

⁶ http://www.ngfn-2.ngfn.de/genialeinfach/htdocs/ngfn_modul2_praesentationen.html

3.2.4 Einführung in das Arbeiten im Labor

Ein spezieller Termin im Labor wurde dazu genutzt, den SchülerInnen mit den wichtigsten Laborregeln vertraut zu machen (siehe auch BARKER, 2006, S. 14-16; 30-31). Es wurde das Pipettieren mit automatischen Mikroliterpipetten geübt, andere gängige Laborutensilien (Tischzentrifugen, Vortex/Wirbelmischer, Inkubator/Heizblock bzw. Wasserbad, Heizplatte mit Magnetrührer, Parafilm, Pipettierhilfen, Spritzflaschen, Eppiständer) und deren richtige und sichere Verwendung vorgestellt (BARKER, 2006, S. 44 ff.).

3.2.5 Amplifikation der Alu-Sequenz mit dem gebauten Thermocycler

Die Funktionstüchtigkeit des selbstgebauten Thermocyclers in der Praxis wurde mit fachlicher und materieller Unterstützung der Fachhochschule Hagenberg getestet und mit einem dort vorhandenen professionellen Gerät verglichen.

Wie in der Einleitung schon erwähnt, untersuchten die SchülerInnen dafür ihre eigene DNA auf das Vorhandensein einer sogenannten Alu-Sequenz (PV92), ein Insert auf Chromosom 16. Dabei gibt es 3 Genotypen: homozygote Träger („++“), homozygote Nichtträger („--“) und heterozygote Träger („+-“). Das heißt, es ergeben sich auch drei mögliche Bandenmuster in der anschließenden Gelelektrophorese. Die Alu-Sequenz wurde deshalb gewählt, weil diese PCR an der FH Hagenberg immer wieder erfolgreich durchgeführt wird, weil sie den SchülerInnen die Möglichkeit bietet, ihre eigene Probe zu untersuchen und sie das Prinzip des Genetischen Fingerprintings in einfachster Weise ganz gut veranschaulicht.

Mittels einer Versuchsvorschrift (in Anlehnung an SCHULZ, 2010, S. 5-6) isolierten die SchülerInnen selbständig in Kleingruppen (2-3 SchülerInnen) ihre eigene DNA aus Mundschleimhautzellen. Die gewonnene DNA wurde dann als Template für die PCR eingesetzt. Es wurden in der Folge pro SchülerIn je zwei Reaktionsansätze gemacht, um unseren Thermocycler und zum Vergleich auch ein professionelles Gerät der Fachhochschule damit zu bestücken. Der Ansatz wurde mit Puffer, Nukleotiden, Primern und Polymerase komplettiert und dann in die Thermocycler gestellt (in Anlehnung an SCHULZ, 2010, S. 6-8).

Die Zeit der Amplifizierung im Thermocycler wurde genutzt, um Gele und Laufpuffer für die Elektrophorese herzustellen (in Anlehnung an SCHULZ, 2010, S. 9-10). Außerdem wurden Eigenschaften und Bedeutung von Alu-Sequenzen noch einmal ganz genau vom verantwortlichen Fachhochschulmitarbeiter erläutert und mit den SchülerInnen diskutiert.

Nach dem Lauf der PCR wurden die Proben mit Laufpuffer versetzt und zusammen mit einem Marker von den SchülerInnen in die Geltaschen pipettiert und danach unter UV-Licht betrachtet und fotografiert.

3.2.6 Auswertung und Interpretation der PCR Ergebnisse

Im Ergebnisteil finden sich die beschrifteten Gele, deren Bandenmuster den SchülerInnen Aufschluss über ihren jeweiligen Genotyp gaben. Bei fast allen beteiligten SchülerInnen konnte dabei eindeutig der Genotyp festgestellt werden. Bei den SchülerInnen ohne eindeutiges Ergebnis wurden im Anschluss mögliche Fehler während des Arbeitsprozesses überlegt und diskutiert. Für einen weiteren Versuch mit der Schülergruppe war leider die Zeit zu knapp.

3.3 Austausch zwischen SchülerInnen der beiden Fächer

Wie schon erwähnt, präsentierten die jüngeren SchülerInnen (16 J.) des WPG Physik den älteren BiologeschülerInnen (17-18 J.) Bau und Funktionsweise eines Thermocyclers am Beispiel ihres selbst zusammengebauten Geräts.

Andererseits teilten die BiologeschülerInnen der kleinen WPG Gruppe mit, wofür sie das Gerät verwendet haben und welche Ergebnisse der erste Test im Labor brachte. Dabei erklärten sie den jüngeren SchülerInnen das grundsätzliche Prinzip der Polymerase Kettenreaktion auf einfache Weise und gingen auf Fragen der PhysikschülerInnen ein.

3.4 Information der Lehrer in den ARGES

Die FachkollegInnen der ARGES Physik und Biologie und Umweltkunde wurden vor dem Start von unserem Projekt informiert und dann auf dem Laufenden gehalten. In einem kleinen Workshop für die ARGE Biologie und Umweltkunde wurden dann die Ergebnisse den anderen LehrerInnen mitgeteilt, das Gerät in seiner Bedienung vorgestellt, sowie die Möglichkeiten erläutert, die der Einsatz des Geräts im Unterricht bietet.

4 EVALUATIONSMETHODEN

Zur Evaluation der Ziele auf SchülerInnenebene kamen folgende Methoden zum Einsatz.

METHODE	ZIEL
1. Fragebogen <i>nach der Erarbeitung der theoret. Grundlagen, (siehe Anhang 3)</i>	Motivation Selbsttätigen Lernprozess begleiten
SchülerInnenbefragung <i>während des gesamten Projektzeitraums</i>	Motivation Fachliches Verständnis
Unterrichtsbeobachtungen* <i>besonders während der Erarbeitungs- und Experimentierphasen in den Austauschseinheiten</i>	Motivation, Engagement der SchülerInnen Selbsttätigkeit Handwerklich-technische Entwicklung Fachliches Verständnis
Kompetenzorientierte inhaltliche Fragen* <i>nach der Erarbeitung der theoret. Grundlagen und nach Abschluss des Projekts</i>	Fachliches Verständnis
Befragung des Projektkollegen <i>nach der praktischen Arbeit im Labor</i>	Selbsttätigen Lernprozess begleiten
2. Fragebogen <i>nach Abschluss des Projekts, (siehe Anhang 3)</i>	Selbsttätigen Lernprozess begleiten

*Bei den Unterrichtsbeobachtungen und den kompetenzorientierten inhaltlichen Fragen wurden die Daten nach männlichen und weiblichen SchülerInnen getrennt.

Mittels der Fragebögen wurde auch die Fähigkeit der Lehrerin, selbsttätiges Lernen entsprechend zu begleiten, beurteilt. Außerdem wurden Beobachtungen während des Unterrichts miteinbezogen. Auch der Lehrer der Physik WPG Gruppe wurde in Bezug auf den Laborteil dazu befragt.

5 ERGEBNISSE

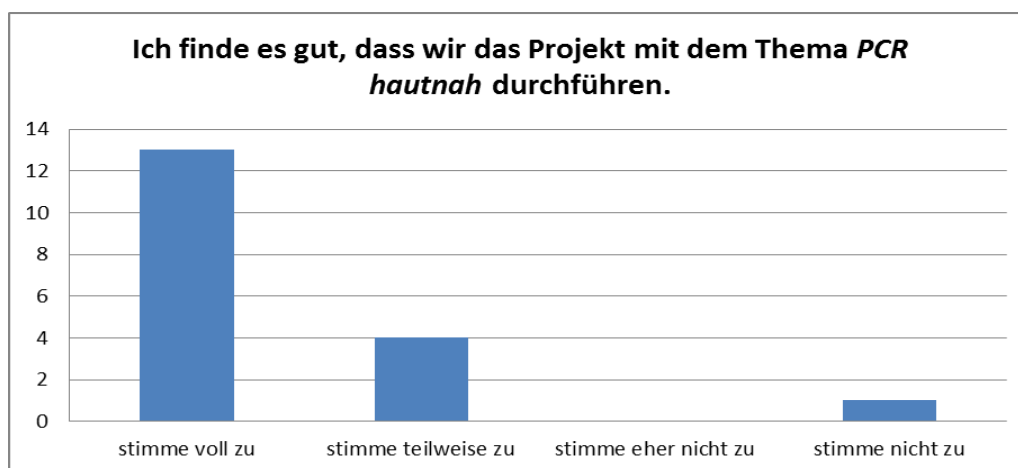
5.1 Ergebnisse zu Ziel Motivation

Der Lehrer konnte beobachten, dass die SchülerInnen der Physik-Wahlpflichtgruppe in der überwiegenden Zeit der vorbereitenden Erarbeitung der Grundlagen mit großer Begeisterung am Werk waren. Vor allem die Möglichkeit, selbst tätig zu werden, die Erfolgserlebnisse nach dem mühsamen Aufbauen der Schaltungen und nach den unzähligen notwendigen Fehlerkorrekturen an den aufgebauten Schaltungen waren im Vorbereitungsteil Grundlage der Steigerung der Motivation.

Beim Zusammenbau des Thermocyclers führte das Wissen darum, eine auf einen bestimmten Einsatzzweck ausgerichtete Tätigkeit auszuführen, zu einer deutlich erhöhten Motivation. In einer mündlichen Befragung der kleinen Gruppe von vier Schülern und einer Schülerin während des Gerätebaus gaben alle SchülerInnen an, dass es für sie wichtig sei, dass mit dem Produkt ihrer Arbeit tatsächlich weitergearbeitet werde. Das Selbsttun und die Tatsache, dass das funktionstüchtige Gerät dann von anderen SchülerInnen benötigt wurde, waren also wichtige Motivatoren des Unterrichts.

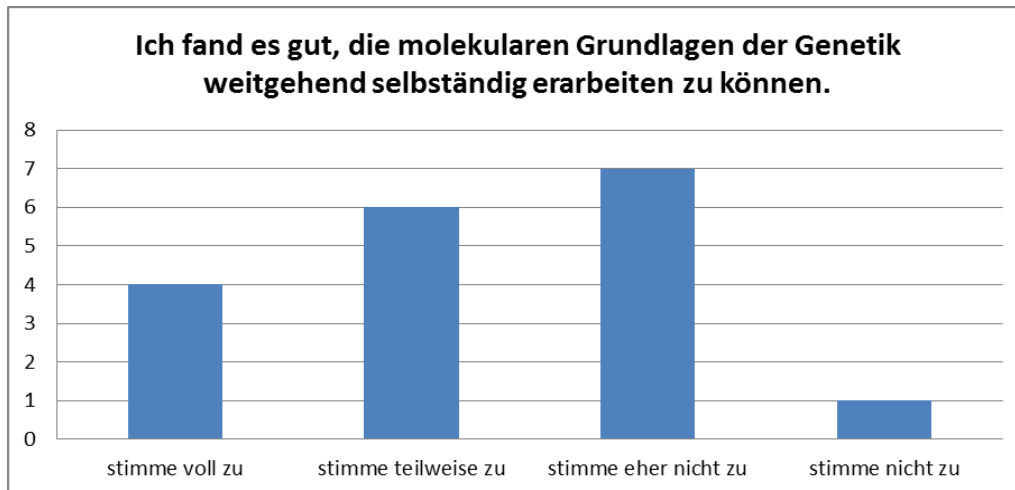
Darüber hinaus diente die Aussicht auf diese praktische Tätigkeit auch als Maßnahme zur Verstärkung der Motivation bei den vorbereitenden Übungen aus dem Bereich Elektronik und Elektrotechnik, die sowieso unabhängig vom vorliegenden Projekt als Unterrichtsinhalte im WPG Physik vorgesehen waren. Die SchülerInnen äußerten sich hierzu mehrfach positiv.

Im Biologieunterricht wurde ein Fragebogen ausgegeben, der neben den Unterrichtsbeobachtungen unter anderem die Stimmung vor Durchführung der praktischen Arbeit mit dem Thermocycler erheben sollte. Das folgende Diagramm zeigt, dass ein Großteil der 18 befragten SchülerInnen gegenüber dem Projekt positiv gestimmt war (y-Achse: Anzahl der SchülerInnen, gilt auch für alle folgenden Diagramme).



Interessant waren auch die zusätzlichen Anmerkungen der SchülerInnen auf dem Fragebogen. Gründe für ihre Antworten waren demnach an erster Stelle die erwartete Abwechslung zum regulären Unterricht, die Umsetzung von etwas Gelerntem/Theoretischem in die Praxis, die Möglichkeit Labor- und wissenschaftlich-technische Erfahrungen zu sammeln und besseres Verstehen der Methode. Die Ergebnisse des Fragebogens bei dieser Frage decken sich auch mit den Unterrichtsbeobachtungen, die grundsätzlich eher positive SchülerInnenäußerungen im Vorfeld des praktischen Teils des Projekts zeigten. Ein/e SchülerIn konnte dem Projekt zum Zeitpunkt der Befragung noch nichts abgewinnen und begründete mit fehlendem Interesse am Thema.

Die selbständige Arbeitsweise in Gruppen bei der Erarbeitung der molekularen Grundlagen der Genetik sollte der Motivationssteigerung dienen. Die SchülerInnen konnten ihr Arbeitstempo selbst bestimmen, das zugeteilte Thema und die Aufgaben dazu wurden in der Gruppe diskutiert und das angeeignete Wissen an andere Gruppen weitergegeben. So konnten die SchülerInnen von ihren KollegInnen lernen. Auf die Frage, wie gut die 18 befragten SchülerInnen zu Beginn des Projekts mit den Inputtexten, den Fragen und der Erarbeitungsweise in Gruppen zurechtkamen, waren die Antworten recht divers (siehe folgendes Diagramm).



Begründungen der Antworten ließen erkennen, dass die vielen Fachbegriffe das Verstehen erschwerten, die Texte für sie zum Teil nicht/schwer verständlich und die Arbeitsblätter teils unübersichtlich waren. Gründe für (teilweise) zustimmende Rückmeldungen waren, dass die selbständige Arbeitsweise grundsätzlich geschätzt wurde und das angeeignete Fachwissen erfahrungsgemäß eher im Gedächtnis bleibt, weil man sich intensiv mit dem Thema auseinandersetzen muss.

Einige SchülerInnen äußerten sich während des Unterrichts mit der Bemerkung, dass es viel weniger anstrengend und somit für sie besser sei, die Informationen aufbereitet vom Lehrer präsentiert zu bekommen, anstatt sie mühsam selbst erarbeiten zu müssen. Somit konnte ich zumindest die SchülerInnen mit dieser Einstellung durch den vorwiegend selbsttätigen Arbeitsauftrag nicht motivieren.

Nach Abschluss des Projekts im aktuellen Schuljahr gaben alle befragten SchülerInnen an, dass ihnen die Arbeit im Labor Spaß gemacht hatte. Auch Bemerkungen wie „Ich möchte unbedingt mal in einem Labor arbeiten.“, „Das können wir jede Woche machen.“ und „Ich finde das voll spannend.“ während des Laborunterrichts spielten diese Stimmung wider.

Auf die Frage, was die SchülerInnen am Projekt besonders interessant fanden, antworteten sie mit:

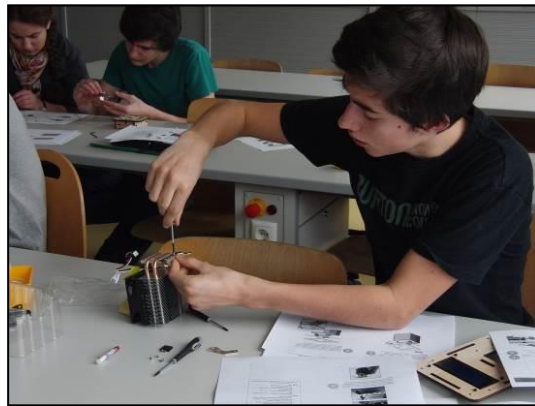
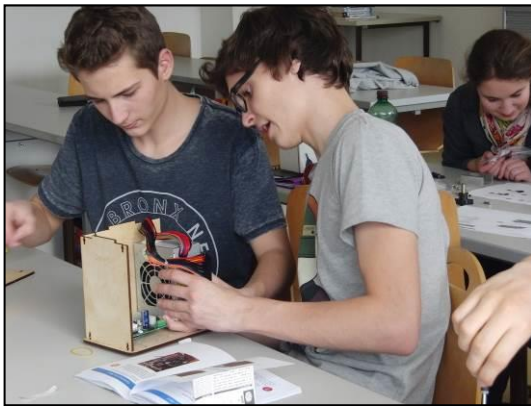
- etwas Theoretisches mal praktisch umsetzen,
- Laborerfahrung sammeln,
- das Rollenspiel zur Replikation,
- das Pipettieren von so kleinen Volumina,
- die Zusammenarbeit mit SchülerInnen einer anderen Klasse,
- Anwendung der PCR in Forensik und bei Vaterschaftstests,
- und die Untersuchung der eigenen DNA.

Weniger interessant fanden die SchülerInnen laut ihrer Antworten allen voran die Erarbeitung der molekularen Grundlagen der Genetik. Weiters wurden noch die langen Wartezeiten beanstandet. Diese Kritik bezieht sich wahrscheinlich auf den langen Lauf des Thermocyclers und die Aufteilung der Klasse in zwei Gruppen, wodurch es zu längeren Wartezeiten für die SchülerInnen kam, die aber zum Teil mit einem Vortrag über Alu-Sequenzen überbrückt worden sind.

5.2 Ergebnisse zu Ziel Selbsttätigkeit

Die SchülerInnen der Physik WPG Gruppe waren beim Bau des Thermocyclers sehr engagiert. Der Lehrer half, wenn Probleme und Fragen auftauchten, zu einem großen Teil wurde das Gerät aber selbständig von den SchülerInnen zusammengebaut. Das funktionsfähige Gerät selbst war somit auch ein Beweis für ihr präzises und engagiertes Arbeiten. Es konnten von Seiten des betreuenden Lehrers dabei keine Unterschiede zwischen dem einzigen Mädchen der Gruppe und den vier Buben festgestellt werden. Bei der Präsentation des Geräts stellten die SchülerInnen sehr selbstsicher die Tätigkeiten in ihren jeweiligen Aufgabenbereichen und wie sie zum Gelingen des Produkts beigetragen hatten vor.

Die folgenden Bilder zeigen die Physik WPG Gruppe beim Zusammenbau des Thermocyclers:



Im Biologieunterricht konnten ähnliche Beobachtungen gemacht werden. Die BiologeschülerInnen zeigten ein hohes Maß an motivierter Selbsttätigkeit sowohl beim Diskutieren und Präsentieren der zugeteilten Themen in den Gruppen bei der Erarbeitung der theoretischen Grundlagen, aber vor allem auch beim Arbeiten im Labor. Die Arbeitsaufträge für die PCR, die Herstellung der Gele und des Puffers und das Beladen der Gele für die Elektrophorese wurden größtenteils selbständig durchgeführt. Die Ergebnisse (siehe 5.6) sprechen für die Qualität dieser Arbeit. Der Ehrgeiz, genau und richtig zu arbeiten, war unter anderem vermutlich deshalb groß, weil die SchülerInnen die empfindlichen Geräte nicht beschädigen und gute Ergebnisse bekommen wollten, und andererseits die Ansprechperson an der FH Hagenberg anwesend war.

Bei den Mädchen konnte generell ein etwas größeres Engagement in punkto Genauigkeit und Richtigkeit ihres Handelns festgestellt werden. Sie waren besorgter um die richtige Ausführung und fragten mehr nach.

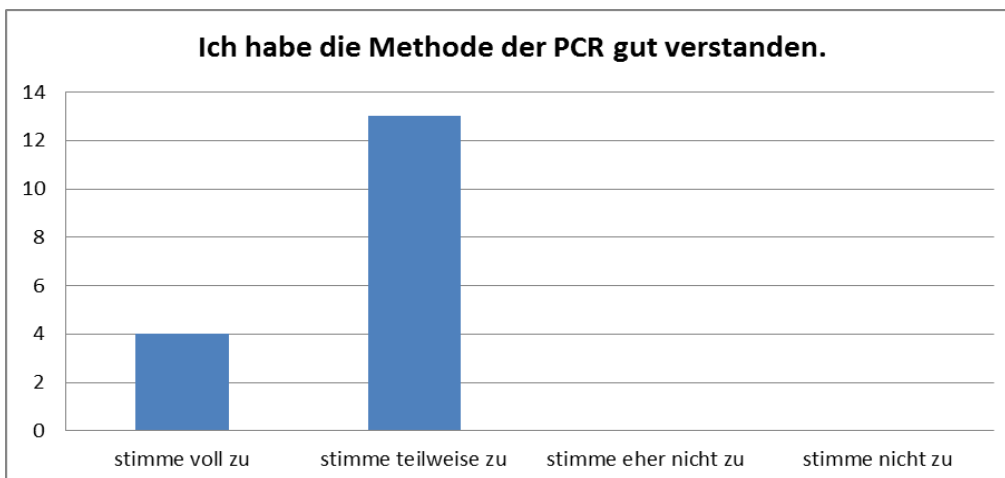


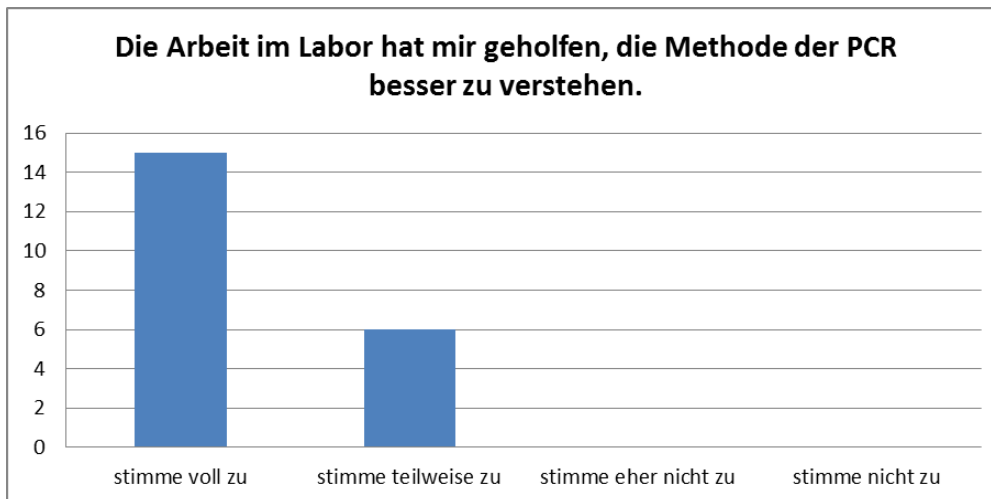
Die obigen Fotos zeigen die BiologieschülerInnen beim Auftragen der PCR Proben nach dem Lauf im Thermocycler auf ein Agarosegel.

5.3 Ergebnisse zu Ziel Fachliches Verständnis

Fachliches Verständnis war ein wichtiges Ziel des vorliegenden Projekts. Neben kompetenzorientierter Fragestellungen, mit denen das Erreichen des Ziels überprüft wurde, zielten auch Fragen des Fragebogens darauf ab, die Selbsteinschätzung der SchülerInnen in dieser Hinsicht für einen Vergleich zu ermitteln.

Die BiologieschülerInnen wurden nach dem allgemeinen Verständnis der Polymerase Kettenreaktion nach der Erarbeitungsphase der theoretischen Grundlagen, jedoch vor der praktischen Durchführung einer solchen Reaktion gefragt. Ein Großteil der 18 Befragten (bei einem Bogen nicht beantwortet) stimmte der Aussage „Ich habe die Methode der PCR gut verstanden“ nur teilweise zu (siehe unten stehendes Diagramm). Auch während des laufenden Unterrichts war mir aufgefallen, dass bei den SchülerInnen einige Fragen zur PCR offen geblieben waren, die sich aber am besten im praktischen Tun klären ließen (Und wie geht das jetzt genau?, Wie sieht das aus?, etc.). In der Befragung nach der praktischen Durchführung der PCR im Labor verschob sich dann das Verhältnis und die meisten der 21 befragten SchülerInnen gaben an, dass die Arbeit im Labor ihnen geholfen hätte, die Methode besser zu verstehen (siehe unten stehendes Diagramm).





Die Ergebnisse der Lernzielkontrollen in Biologie zeigten ein ähnliches Bild. Vor der praktischen Arbeit konnten die Aufgaben von den meisten SchülerInnen gut bis zufriedenstellend gelöst werden, einige Zeit danach waren die Ergebnisse bei vielen SchülerInnen sehr gut. Die Erklärungen und der Bericht der BiologieschülerInnen (vier SchülerInnen haben diese Aufgabe übernommen) in der Austauschereinheit mit den Physik WPG SchülerInnen waren sehr verständlich und die jüngeren SchülerInnen konnten die vermittelten Inhalte gut wiedergeben, was vermuten lässt, dass sie den Ausführungen entsprechend folgen konnten. Die gestellten Fragen wurden von den älteren SchülerInnen größtenteils gut beantwortet. Ihre Vermittlungskompetenz war sehr gut.

Aufgrund dieser Ergebnisse kann darauf geschlossen werden, dass das fachliche Verständnis durch die selbständige Anwendung einer PCR verbessert wurde bzw. dadurch die Motivation stärker war, sich mit dem Thema noch einmal intensiver auseinanderzusetzen. Sicher trug auch das Diskutieren der möglichen Gründe für die bei manchen SchülerInnen negativen Ergebnisse und die nur schlecht funktionierende PCR am selbst gebauten Thermocycler (siehe 5.6) zu einer verstärkten Auseinandersetzung mit dem Thema bei. Es gab bei den BiologieschülerInnen keinen erkennbaren Zusammenhang zwischen Geschlecht und erbrachter Leistung.

5.4 Ergebnisse zu Ziel Handwerklich-technische Kompetenzen

Handwerklich-technische Fertigkeiten sollten vor allem im Physikunterricht, aber auch beim praktischen Arbeiten im Labor vermehrt werden. In Physik war präzises Arbeiten Voraussetzung für den Erhalt eines funktionierenden Geräts. Unterrichtsbeobachtungen zeigten, dass die handwerklichen Fertigkeiten während des Projekts vermehrt werden konnten. Das trat besonders bei kniffligen Teilschritten beim Zusammenbau des Geräts deutlich zu Tage. Im Verlauf des Bauprozesses gelang der Umgang mit dem verwendeten alltagsüblichen Werkzeug immer besser.

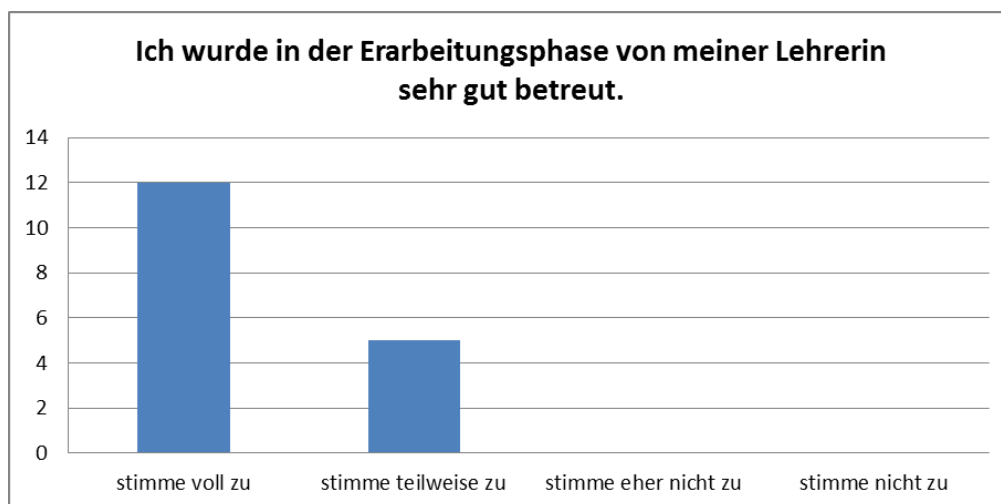
Auch im Umgang mit den Laborgeräten konnte eine deutliche Steigerung der handwerklich-technischen Kompetenzen bemerkt werden, wobei das Geschlecht dabei keine erkennbare Rolle spielte. Das Ergebnis der ersten selbst durchgeführten PCR bestätigte, dass die SchülerInnen größtenteils schon recht gut mit den automatischen Mikropipetten umgehen konnten. Beim Pipettieren der PCR Produkte in die Geltaschen, was für AnfängerInnen immer eine recht knifflige Aufgabe ist, waren die SchülerInnen schon recht geschickt (siehe Bilder in 5.2). Soweit von den Lehrpersonen festgestellt werden konnte, gingen die SchülerInnen nach einiger Zeit auch recht professionell mit Geräten wie zum Beispiel der Tischzentrifuge um.

Leider konnten wir bisher erst einen ersten PCR-Testlauf machen. Weitere Experimente, die fürs kommende Schuljahr geplant sind, werden sehr wahrscheinlich die handwerklich-technischen Kompetenzen der SchülerInnen in diesem Bereich noch wesentlich steigern.

5.5 Ergebnisse zu Ziel Selbsttätigen Lernprozess begleiten

Vor allem in der Phase der selbständigen Arbeit in Gruppen bei der Erarbeitung der molekularen Grundlagen der Genetik und bei der praktischen Arbeit im Labor war es nötig, als Lehrperson die Rolle eines Lernbegleiters einzunehmen. So hielt ich mich abgesehen von einigen notwendigen Inputphasen bewusst im Hintergrund, war um eine anregende Lernumgebung bemüht und half jederzeit bei Problemen und Fragen.

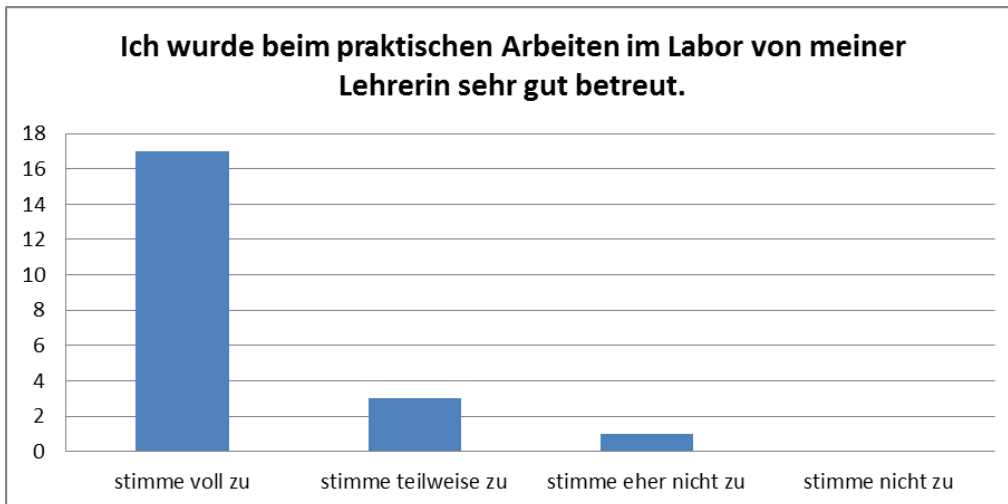
Meine Fähigkeit zur Begleitung eines selbsttätigen Lernprozesses wurde unter anderem mithilfe der SchülerInnenrückmeldungen auf Fragen in den beiden ausgegebenen Fragebögen eingeschätzt. Was die Gruppenarbeit zum theoretischen Teil angeht, fühlten sich die SchülerInnen zum Großteil sehr gut betreut (siehe folgendes Diagramm). Diese Ergebnisse decken sich auch mit meiner eigenen Einschätzung. Meine Tipps bei Problemen wurden gut angenommen und die Beantwortung von SchülerInnenfragen schien auch zu passen. Umso mehr verwundert mich das in 5.1 präsentierte Ergebnis zur Frage der Motivation bei dieser Form der Erarbeitung, wobei sich zeigte, dass viele SchülerInnen Textverständnisprobleme hatten, dies mir gegenüber aber nicht äußerten.



Die Arbeit im Labor lief recht gut. Die SchülerInnen waren bei den ersten Trockenübungen mit den Laborgeräten mit Begeisterung am Werk. Nach einer kurzen Vorstellung diverser Geräte und Hilfsmittel und einiger allgemeiner Laborregeln, führten die SchülerInnen die Anweisungen des Arbeitszettels durch. Dabei gab es immer wieder Fragen seitens der SchülerInnen, die von mir beantwortet wurden. Manches musste von mir nochmals vorgezeigt werden.

Die Aufgaben, die die SchülerInnen bei der Durchführung der PCR relativ selbständig durchzuführen hatten, wurden großteils auch ganz gut gemacht, wie auch die Ergebnisse (5.6) zeigen. Meine Aufgabe bestand vor allem darin, den SchülerInnen vor allem beim Bedienen der Geräte wieder mit Rat und Tat zur Seite zu stehen. Ich hatte das Gefühl, dass ich den SchülerInnen damit ganz gut weithelfen konnte, ohne dass sie sich über- oder unterbetreut fühlten. Wesentlich für das Gelingen der Laborarbeit war auch, dass wir die große Klasse der BiologieschülerInnen in zwei Gruppen zu je 10 und 11 SchülerInnen eingeteilt hatten, die zeitversetzt die DNA-Isolierung und den PCR Ansatz gemacht hatten. Das machte es auch mir leichter, mich um die SchülerInnengruppen in angemessener Weise zu kümmern.

Das folgende Diagramm fasst die Rückmeldungen der SchülerInnen nach dem Laborunterricht zusammen. Ein großer Teil fühlte sich sehr gut betreut. Auch das Feedback durch den Kollegen und Projektmitarbeiter, der uns ins Labor begleitete, bestätigte dieses Ergebnis. Da es trotz der kleineren Gruppen zu zehn bzw. elf SchülerInnen schwierig war, bei allen spontan auftretenden Fragen und Problemen sofort zu reagieren, könnte das ein Grund für Unzufriedenheiten gewesen sein.

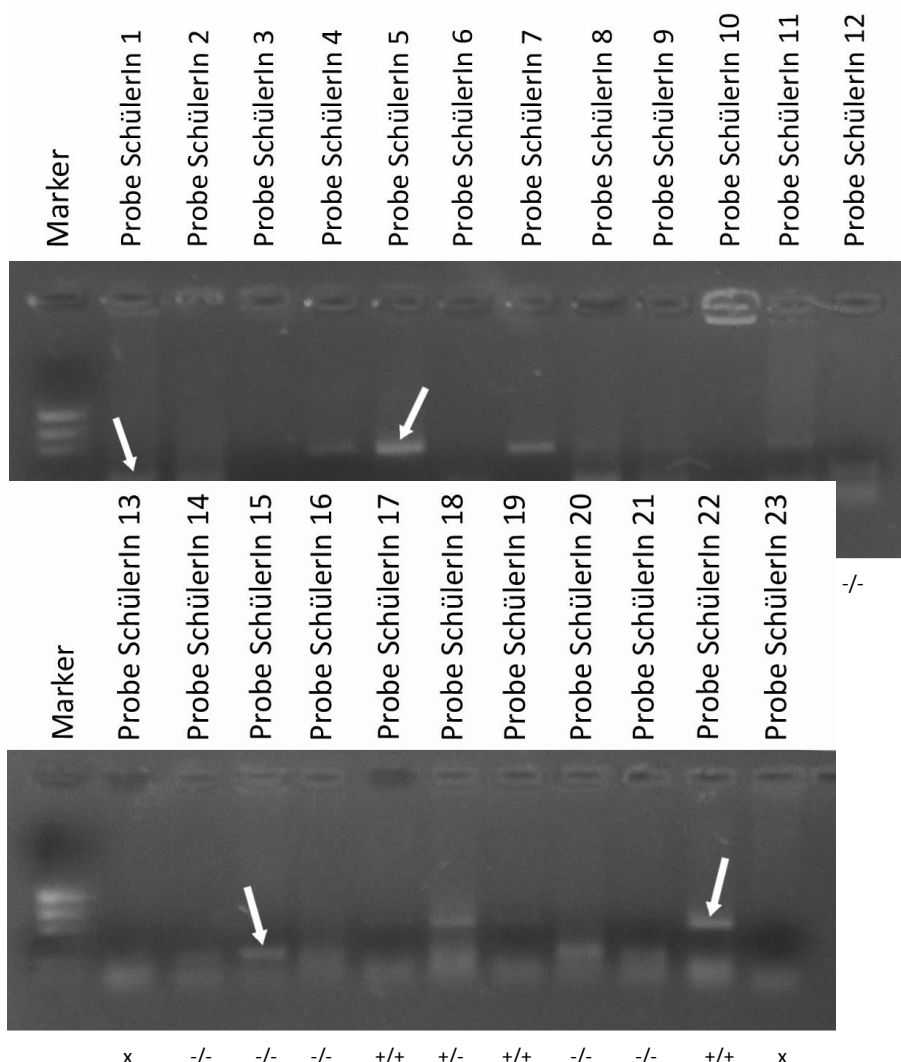


5.6 Ergebnisse der PCR-Reaktionen

Folgende Ergebnisse konnten mit 1) dem professionellen Gerät der FH Hagenberg und 2) dem selbstgebauten Thermocycler erzielt werden.

1) Gerät FH Hagenberg

Die fertig gelaufenen Proben wurden auf Agarosegele aufgetragen und die Amplifikate dann elektrophoretisch getrennt. Die folgenden Bilder wurden unter Bestrahlung mit UV-Licht gemacht. Die Banden fluoreszieren unter UV Licht (siehe Pfeile). Diffus fluoreszieren vermutlich unverbrauchte Primer oder RNA.

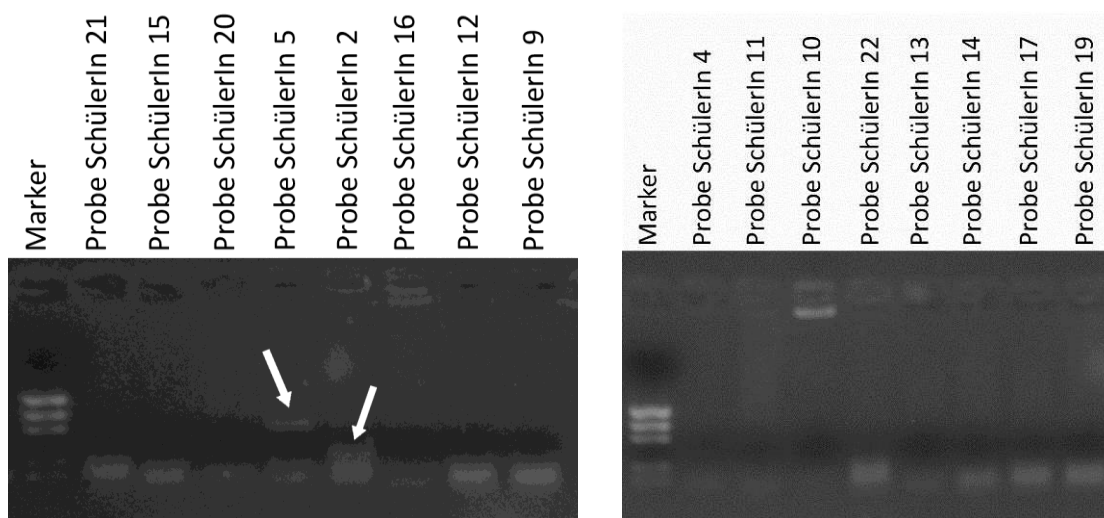


Gel 1 nach einem ca. 20-minütigen Lauf. Die Pfeile zeigen jeweils auf das PCR-Produkt ohne Alu-Insert (415 bp) und das PCR-Produkt mit Alu-Insert (715 bp). (-/-) homozygoter Nichtträger, (+/+) homozygoter Träger, (+/-) heterozygoter Träger.

Gel 2 nach einem ca. 20-minütigen Lauf. Die Pfeile zeigen jeweils auf das PCR-Produkt ohne Alu-Insert (415 bp) und das PCR-Produkt mit Alu-Insert (715 bp). (-/-) homozygoter Nichtträger, (+/+) homozygoter Träger, (+/-) heterozygoter Träger.

Die meisten Proben ergaben mit dem professionellen Thermocycler gut erkennbare Banden (kein Produkt bei Proben 3, 10, 13, 23) und die Ergebnisse ließen eine Einteilung der SchülerInnen in drei Genotypen zu: homozygot mit zwei gleichgroßen Alu-Allelen (715 bp oder 415 bp/Nichtträger) oder heterozygot mit zwei unterschiedlichen Alu-Allelen (715 bp und 415 bp).

2) Von den SchülerInnen selbst gebautes Gerät



Gel 1 und Gel 2 nach ca. 25 min Lauf.

Nur die Proben von SchülerIn 5 und 2 haben ein Ergebnis gebracht. Bei der Probe der Schülerin 10 ist wie in Gel 1 wieder Fluoreszenz an der Geltasche zu sehen, was vermutlich auf Probleme bei der Extraktion der DNA zurückzuführen ist (Chelex, das die DNA vor DNAsen schützt, mitpipettiert).

Der professionelle Thermocycler der FH Hagenberg lieferte Amplifikate in ausreichender Menge und die jeweiligen Ergebnisse waren auf dem Agarosegel gut zu sehen. Unser selbstgebautes Thermocycler hingegen funktionierte deutlich schlechter, allerdings gab es einige wenige Banden, die zumindest den Rückschluss zulassen, dass das Gerät grundsätzlich funktioniert (siehe Ergebnisteil). Mit den SchülerInnen wurden mögliche Ursachen für dieses Ergebnis und Möglichkeiten der Optimierung diskutiert (längere Laufzeit als Ursache → Verkürzung der Denaturierungs-, Annealing- und/oder Elongation-Zeiten, Änderung der Annealing-Temperatur, manuelles Einrichten des Abstands zwischen beheiztem Deckel und Reagenzgefäß etc.).

6 DISKUSSION/INTERPRETATION/AUSBLICK

Das praktische Arbeiten sowohl beim Bau des Thermocyclers als auch beim ersten Durchführen einer PCR hat bei den SchülerInnen großes Engagement hervorgerufen. Ein technisches Gerät aufzubauen, das von anderen SchülerInnen an unserer Schule dann tatsächlich verwendet wird, war ein großer Motivator für die PhysikschrülerInnen.

Der ursprüngliche Zeitplan konnte leider nicht eingehalten werden, da es aufgrund der deutlich längeren Dauer der einföhrenden grundlegenden Elektronik-Versuche, ohne die der Beginn des Zusammenbaus nicht sinnvoll erschien, zu Verzögerungen gekommen war. Außerdem nahm auch die Beschaffung des Bausatzes (Klärung technischer Fragen vor dem Kauf, Abklärung der Importmodalitäten, Abwicklung der Zahlung, deutliche Verzögerung der eMail-Antworten) mehr Zeit als geplant in Anspruch (mehrere Wochen). Das führte unter anderem dazu, dass die SchülerInnen statt mehrerer PCRs (u.a. auch an unserer Schule) im Rahmen des Projekts vorerst nur eine Test-PCR an der FH Hagenberg durchführten.

Leider hat der erste Versuch, Alu-Sequenzen mit dem eigenen Thermocycler zu amplifizieren, nur bei zwei von sechzehn Proben geklappt (siehe 5.6). Die Gesamtlauzeit der PCR war beim OpenPCR-Gerät deutlich länger als beim Gerät der FH Hagenberg. Die Tatsache, dass der erste Testversuch mit dem selbst gebauten Thermocycler nur mäßig erfolgreich war, minderte aber nicht die Begeisterung, mit der die SchülerInnen am Arbeiten waren. Es wurde auch intensiv darüber diskutiert, welche Gründe die PCR am eigenen Thermocycler schlechter funktionieren ließen und welche Parameter bei einigen SchülerInnen Gründe für das Fehlen eines Produkts auch mit dem professionellen Gerät gewesen sein könnten. Genau diese Probleme führten, sowohl bei den Physik- als auch den BiologieschrülerInnen, letztendlich zu einer wirklich intensiven Auseinandersetzung mit der Arbeitsanleitung und den vorher gelernten Grundlagen. Das schlug sich auch in den Leistungsfeststellungen, die nach dem praktischen Arbeiten gemacht wurden, deutlich nieder. Ein großer Teil der SchülerInnen schnitt dabei sehr gut ab, im Gegensatz zu den Überprüfungen, die einige Zeit zuvor, nach der rein theoretischen Auseinandersetzung mit dem Thema, gemacht worden waren.

Da es bei den BiologieschrülerInnen laut Fragebogenergebnissen (siehe 5.1) zu Verständnisproblemen in Bezug auf die Arbeitsunterlagen für die Erarbeitung der theoretischen Grundlagen gekommen war, ist die Überarbeitung dieser Unterlagen für einen erneuten Einsatz beabsichtigt. Um die Eignung der Materialien dann vor dem neuen Einsatz in der Klasse festzustellen, wäre es denkbar, sie vorab mit 1-2 SchülerInnen in einem Pilotversuch zu testen.

Zwischen männlichen und weiblichen SchülerInnen waren bei Motivation, fachlichem Verständnis und handwerklich-technischen Fertigkeiten kaum Unterschiede zu beobachten. Beim Engagement und der Genauigkeit beim selbsttätigen Arbeiten war jedoch innerhalb der BiologieschrülerInnengruppe zu erkennen, dass die Mädchen mehr Ehrgeiz hatten, die Aufgaben genau und richtig zu lösen. Die vier Repetenten in der Biologiegruppe waren grundsätzlich desinteressierter am Projekt und zeigten in fast allen Bereichen weniger Engagement. Nur während der Durchführung der PCR wurde auch bei ihnen Interesse und Freude am Selbsttun bemerkt.

Aufgrund der Ergebnisse der ersten Test-PCR (Probleme vor allem in der Geschwindigkeit mit der die unterschiedlichen Temperaturen erreicht wurden) musste der Thermocycler nochmals von den SchülerInnen der WPG Physik Gruppe untersucht werden. Der Thermocycler befindet sich also bis dato noch in der Optimierungsphase und läuft trotz Anstrengungen noch nicht zur Zufriedenheit der beteiligten Lehrer. Es wurde schon mehrmals Rücksprache mit dem Hersteller des Bausatzes gehalten und aufwendige Kontrollmessungen am eigenen Gerät gemacht, um die Leistungsfähigkeit des Geräts zu kontrollieren und mit den Herstellerangaben abzugleichen. Die Fachhochschule Hagenberg stellt freundlicherweise Material und Labor für die Optimierung des PCR Protokolls und die Ermittlung der Limitierungen des OpenPCR-Geräts im Vergleich zu einem professionellen Gerät zur Verfügung. Diese Maßnahmen werden in den nächsten Wochen getroffen werden.

Wenn dies zur Zufriedenheit verläuft, ist für das kommende Schuljahr dann geplant, mit den BiologeschülerInnen eine einfache PCR an der Schule zu etablieren. Wichtig wäre auch noch die Möglichkeit zur Elektrophorese für die Auswertung der Proben nach der PCR. Dafür werden die Physik WPG SchülerInnen im kommenden Jahr voraussichtlich eine geeignete Vorrichtung konstruieren und bauen.

Das Projekt wurde bereits den Mitgliedern der jeweiligen ARGes vorgestellt und in einem Mini-Workshop wurden die wichtigsten Ergebnisse präsentiert. Die BiologielehrerInnen an unserer Schule haben nach einer kurzen Einführung in das Arbeiten mit dem Thermocycler schon Interesse bekundet, das Gerät zukünftig auch in ihrem Unterricht zu verwenden.

7 LITERATUR

BARKER, Kathy (2006). *Das Cold Spring Harbor Laborhandbuch für Einsteiger*. München: Elsevier.

GRAW, Jochen (2008). Alu-Elemente – funktionelle Bedeutung bei der Genregulation. Online unter http://www.biospektrum.de/blatt/d_bs_pdf&_id=966003 [05.06.2015]

KOCH, Barbara & KOCH, Eva-Maria (2014). *Kernbereiche Biologie 8*. Wien: E. Dorner.

SCHULZ, Holger (2010). *Skript zur Lehrveranstaltung Populationsgenetik / Molekulare Ökologie*. Online unter http://www.unilandau.de/umwelt/study/content/files/archiv/H.Schulz/WS09/Populationsgenetik/Populationsgenetik_Laborskript_2010-03-01.pdf [27.04.2015]

STOBINSKY, Hans & LUTZ, Rolf (2004). *GeneProfileTM. Der Genetische Fingerabdruck: Verwandtschaftsnachweis mit PCR*. Online unter http://www.schule-bw.de/unterricht/faecher/biologie/material/zelle/lutz/PCR_Script.pdf [24.02.2015]

ANHANG

1) Arbeitsblätter zur Replikation

Dieses Arbeitsmaterial wird zu Unterrichtszwecken vom Nationalen Deutschen Genomforschungsnetz auf ihrer Homepage (<http://www.ngfn-2.ngfn.de/genialeinfach>) Lehrern zur Verfügung gestellt:

http://www.ngfn-2.ngfn.de/genialeinfach/material/Modul%201/Mod_1_AB_4.pdf

Die **FORM** gibt die **FUNKTION** vor:
Wie die DNA verdoppelt wird

» Mit dem Modell der DNA-Doppelhelix beantworteten Watson und Crick nicht nur die Frage, wie das zentrale Molekül der Genetik überhaupt aufgebaut ist. Sie leisteten weit mehr – und das wussten sie auch, wie aus dem Schlusssatz ihrer Originalveröffentlichung aus dem Jahre 1953 zu entnehmen ist:

„It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.“

„Es ist uns nicht entgangen, dass die spezifische Paarung, die wir vorgeschlagen haben, direkt auf einen möglichen Mechanismus der Vervielfältigung des genetischen Materials hinweist.“

(James D. Watson und Francis H. C. Crick (1953), Molecular Structure of Nucleic Acids, Nature No. 4356)

AUFGABE:

1. Wie ist das Zitat von Watson und Crick gemeint? Entwickeln Sie aufgrund Ihres Wissens über den Aufbau der DNA eine Hypothese, wie die DNA verdoppelt werden kann. Zeichnen Sie Ihren Vorschlag neben die untenstehende Abbildung!

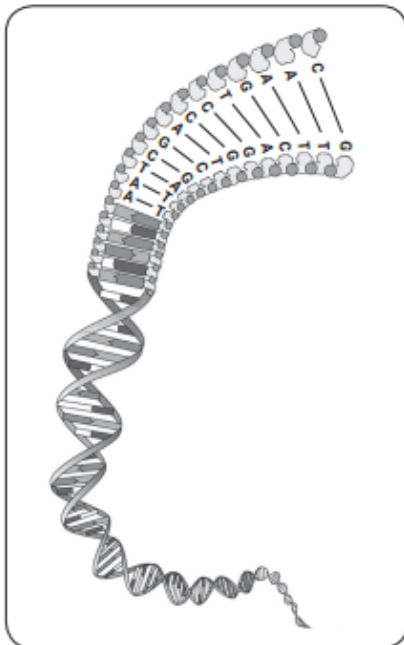


Abbildung 1: Doppelt verpackte Erbsubstanz – Die DNA-Doppelhelix besteht aus zwei komplementären Strängen. Die Basenpaare befinden sich in der Mitte. Außen verlaufen die gegenläufigen Zucker-Phosphat-Ketten.
© Ernst Klett Verlag GmbH, Stuttgart
Grafiker: Prof. Jürgen Wirth, Visuelle Kommunikation, Dreieich

Nach Veröffentlichung des Doppelhelix-Modells im Jahr 1953 war allen Experten klar: Die beiden alten DNA-Stränge können als Kopiervorlage (Matrize) für die neu zu synthetisierenden Tochterstränge dienen. Der Mechanismus der DNA-Replikation war jedoch unverstanden. Die entscheidende Frage war: Paaren sich am Ende der Replikation die beiden neuen Stränge miteinander und finden die beiden Ursprungsstränge wieder zusammen oder bestehen sie zu gleichen Teilen aus alten und neuen Anteilen? Anders ausgedrückt: Verläuft die Replikation konservativ oder semikonservativ, bewahrend oder halb bewahrend?

Die Antwort gaben **Matthew Meselson** und **Franklin Stahl** fünf Jahre nach der Veröffentlichung der DNA-Doppelhelix mit einem relativ einfachen Experiment: Zunächst züchteten sie Darmbakterien der Art *Escherichia coli* in einem Nährmedium, das anstelle des normalen Stickstoffs (^{14}N) das Stickstoff-Isotop ^{15}N enthielt. Der Kern dieses Stickstoff-Isotops hat ein Neutron mehr als normaler Stickstoff: ^{15}N ist also schwerer als ^{14}N . Folglich ist die DNA von mit ^{15}N gefütterten Bakterien schwerer als die DNA von Bakterien, denen diese Spezialdiät verweigert wird. Und genau diesen winzigen Gewichtsunterschied nutzten Meselson und Stahl aus.

Möglich war dies durch eine Technik mit dem unhandlichen Namen Dichtegradienten-Zentrifugation. Dabei handelt es sich um ein physikalisches Verfahren, mit dem gelöste Makromoleküle anhand ihres Gewichts in einer Ultrazentrifuge bei bis zu 100.000 Umdrehungen in der Minute getrennt werden können. Der Trick dabei: Das Zentrifugengefäß, in das die zu trennenden Moleküle gegeben werden, enthält eine Salzlösung, deren Konzentration zum Boden des Gefäßes hin immer weiter zunimmt. Moleküle versinken in dieser Salzlösung nur bis zu einer bestimmten Tiefe – je schwerer sie sind, desto tiefer. Trennt man die schwere ^{15}N -DNA der Bakterien zusammen mit der DNA normaler Bakterien – hier als ^{14}N -DNA bezeichnet – mithilfe der Dichtegradienten-Zentrifugation, sind im Zentrifugenglas zwei Banden deutlich zu erkennen: eine obere Bande mit der leichten ^{14}N -DNA und eine untere mit der schweren ^{15}N -DNA. Meselson und Stahl setzten die Bakterien, die den schweren Stickstoff in ihre DNA eingebaut hatten, nach einiger Zeit in ein normales Nährmedium zurück. In folgenden Replikationsschritten bauten sie also wieder ^{14}N in ihre DNA ein. Schließlich wurde die DNA dieser Bakterien extrahiert und aufgetrennt. Das Muster der Banden der Dichtegradienten-Zentrifugation war eindeutig, die Frage nach der Art der Replikation war beantwortet!

GENies: Die weltweite **Bedrohung mit Biowaffen** ist das Thema mit dem sich **Matthew Meselson** in den vergangenen Jahren beschäftigt hat. Damit hat der Professor für Molekularbiologie an der Harvard University einen – fachlich gesehen – langen Weg hinter sich, der seinen Ausgangspunkt in den Laboren des Meeresforschungsinstituts Woods Hole an der US-Atlantikküste hat. Dort begann der 1930 in Denver geborene Meselson im Jahr 1954 seine Zusammenarbeit mit dem ein Jahr älteren **Franklin Stahl**. Drei Jahre später führten sie gemeinsam jenes Experiment durch, das ihre Namen verewigte und als eines der „schönsten in der Biologie“ gilt.

AUFGABEN:

2. Welches Ergebnis erwarten Sie, wenn Sie Bakterien mit schwerer DNA in ein normales Medium zurücksetzen – für die neu zu synthetisierenden DNA-Abschnitte also nur noch leichter Stickstoff zur Verfügung steht? Zeichnen Sie in die untenstehende Abbildung die Banden der DNA im Dichtegradienten ein, die Sie nach einer bzw. zwei Generationen erwarten würden, wenn die DNA-Replikation konservativ und wenn sie semikonservativ verläuft.

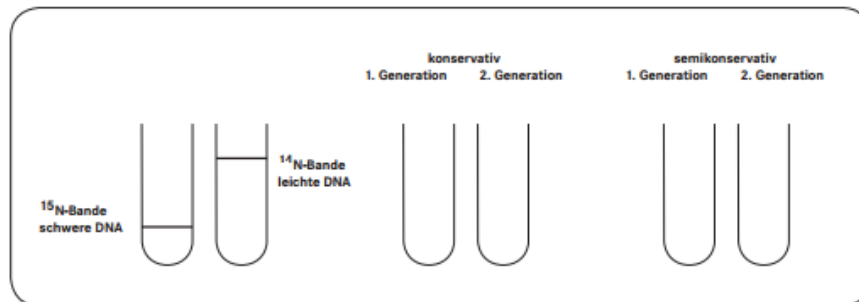


Abbildung 2: Aufbau des Meselson-Stahl-Experiments

3. Schauen Sie sich im Kurs den Film zur DNA-Replikation an. Vervollständigen Sie anschließend den folgenden Lückentext, nehmen Sie gegebenenfalls Ihr Lehrbuch zu Hilfe.

Die Verdopplung der DNA im Zellkern heißt In einem ersten Schritt wird der DNA-Doppelstrang zunächst von dem Enzym in seine zwei zerlegt. Das Enzym spaltet dazu die zwischen den Basenpaaren. Um zu verhindern, dass die Einzelstränge sich wieder verbinden, lagern sich spezielle Proteine unmittelbar hinter den Trennungsstellen an. Die einzelnen DNA-Stränge dienen nun als Damit die mit der Arbeit beginnen kann, benötigt sie eine Startsequenz aus kurzen RNA-Molekülen, sogenannte..... Sie werden von dem Enzym gebildet. Die kann nun im Zellplasma frei schwimmende als Bausteine für den Basenstrang verwenden: Adenin paart sich dabei immer mit , Cytosin mit Die Kette der Nukleotide wächst dabei immer nur in 5'-3'-Richtung. Das hat zur Folge, dass einer der beiden Stränge der Doppelhelix kontinuierlich in 5'-3'-Richtung verlängert werden kann, der gegenläufige jedoch nur diskontinuierlich. Der Trick dabei ist, dass die am gegenläufigen Strang zunächst circa 1.000 Nukleotidstücke häppchenweise synthetisiert. Dann löst sie sich von dem Basenstrang und setzt in Richtung der voranschreitenden Helicase wieder an, um einen weiteren DNA-Abschnitt zu produzieren. Die so entstandenen Abschnitte heißen nach ihrem Entdecker Zwischen ihnen befinden sich Lücken und zwar immer an den Stellen, an denen ein Primer saß. Die Aufgabe der ist es nun, die Primer zu entfernen und die Lücken mit Nukleotiden aufzufüllen. Die verbindet die Okasaki-Fragmente schließlich miteinander – fertig sind zwei neue DNA-Stränge: die kann beginnen.

Verwenden Sie folgende Begriffe (Mehrfachnennungen sind möglich).

DNA-Ligase, DNA-Polymerase I, DNA-Polymerase III, Einzelstränge, Guanin, Helicase, komplementären, Matrize, Nukleotide, Okazaki-Fragmente, Primase, Primer, Thymin, Tochterstrang, Wasserstoffbrückenbindungen, Zellteilung, Replikation.

2) Arbeitsaufgabe zum genetischen Fingerabdruck

VNTRs (variable number tandem repeats) oder STRs (short tandem repeats) sind von wenigen bis zu 150 bp lange DNA-Stücke, die sich tandemartig wiederholen (z.B. das sehr kurze GATA im Übungsbeispiel unten). Solche Regionen, die nicht im Bereich von Genen liegen (nicht-codierend), dienen oft als spezifisches Merkmal (Marker). Durch häufige Mutationen in diesen Regionen variiert nämlich die Anzahl der Wiederholungen sehr stark in der menschlichen Population. Unterschiedliche Menschen haben also unterschiedlich lange Marker-Regionen. Diese Unterschiede in der Länge können dann (nach einer PCR) mittels Gelelektrophorese sichtbar gemacht werden.

Im menschlichen Genom gibt es viele Abschnitte (Loci; lat. Locus, Ort) mit solchen sich wiederholenden (repetitiven) Elementen. Je mehr verschiedene dieser Loci verwendet werden, desto genauer ist der individuelle genetische Fingerabdruck.

Aufgabe:

Ein Einbruch wurde begangen und es wurden Spuren gefunden (Ergebnis der genetischen Analyse in der unten stehenden Abbildung). Es gibt drei Tatverdächtige, von denen Haarproben genetisch untersucht wurden. Man hat dabei die Anzahl der Wiederholungen einer kurzen Basensequenz in der Marker-Region D7S280 bestimmt. Die Tabelle zeigt die Ergebnisse für die drei verdächtigen Personen. Ermittle die Anzahl der sich wiederholenden kurzen Sequenzen (repeats) in diesen DNA-Stücken und ergänze dann das jeweilige Bandenmuster der Tatverdächtigen nach der gelelektrophoretischen Auftrennung in der Abbildung.

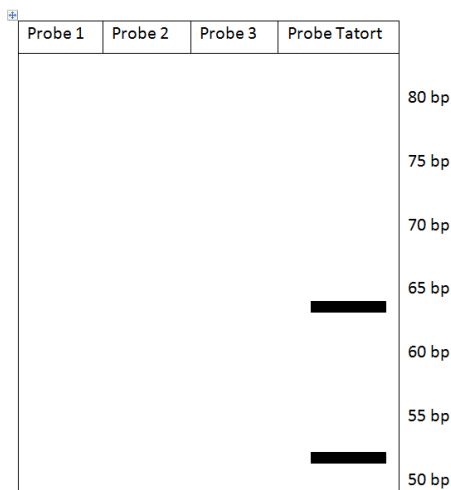
a) Von welchen Tatverdächtigen kann das am Tatort gefundene Material nicht stammen?

b) Warum kann der Täter mit dieser Untersuchung noch nicht überführt werden?

Probe	TV	DNA-Basensequenz*
1	1	5'acgaactaac gata gata gata gata gata gata gata gata gata gata gata gata gata gata gacagattga3' 5'acgaactaac gata gata gata gata gata gata gata gata gacagattga3'
2	2	5'acgaactaac gata gata gata gata gata gata gata gata gata gata gata gacagattga3' 5'acgaactaac gata gata gata gata gata gata gata gata gacagattga3'
3	3	5'acgaactaac gata gata gata gata gata gata gata gata gata gata gata gata gata gata gacagattga3' 5'acgaactaac gata gata gata gata gata gata gacagattga3'

*die jeweils zwei Basensequenzen stammen aus dem mütterlichen und väterlichen Chromosom 7

TV = Tatverdächtiger



3) Fragebögen

Fragebogen 1

1) Ich finde es gut, dass wir das Projekt „PCR hautnah“ durchführen.

<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
stimme voll zu	stimme teilweise zu	stimme eher nicht zu	stimme nicht zu

Begründe:

2) Ich fand es gut, die molekularen Grundlagen der Genetik weitgehend selbständig erarbeiten zu können.

<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
stimme voll zu	stimme teilweise zu	stimme eher nicht zu	stimme nicht zu

Begründe:

3) Ich wurde in der Erarbeitungsphase von meiner Lehrerin sehr gut betreut.

<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
stimme voll zu	stimme teilweise zu	stimme eher nicht zu	stimme nicht zu

4) Ich habe die Methode der PCR gut verstanden.

<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
stimme voll zu	stimme teilweise zu	stimme eher nicht zu	stimme nicht zu

Fragebogen 2

1) Die Arbeit im Labor hat mir Spaß gemacht.

<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
stimme voll zu	stimme teilweise zu	stimme eher nicht zu	stimme nicht zu

2) Was war am Projekt besonders interessant und was weniger?

3) Die Arbeit im Labor hat mir geholfen, die Methode der PCR besser zu verstehen.

<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
stimme voll zu	stimme teilweise zu	stimme eher nicht zu	stimme nicht zu

4) Ich wurde beim praktischen Arbeiten im Labor von meiner Lehrerin sehr gut betreut.

<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
stimme voll zu	stimme teilweise zu	stimme eher nicht zu	stimme nicht zu