

EXPERIMENT

Von der Schule in den Weltraum – Experimente mit dem P51™-Fluoreszenz-Viewer

Fast 70 Jahre nachdem von Rosalind Franklin und ihrem Doktoranden Raymond Gosling das berühmte Foto 51, die Röntgenstruktur der DNA, aufgenommen wurde, umkreist nun „P51“ die Erde. Seit 2021 können Astronauten den P51™-Viewer der Firma miniPCR® auf der Internationalen Raumstation ISS nutzen (Abbildung 1), um fluoreszierende Biomoleküle sichtbar zu machen. Nun soll das kleine Gerät auch Einzug in deutsche Klassenzimmer halten. Was können diese kleinen Schachteln?

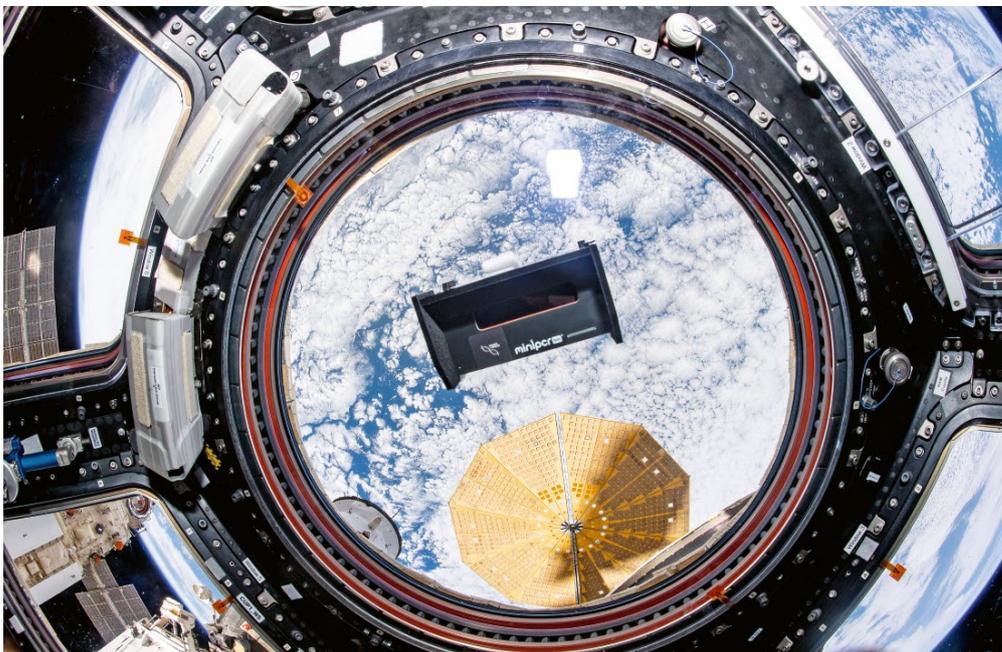


ABB. 1 P51™-Viewer in der Copula der ISS.
Foto: miniPCR®.

Watson und Crick nutzten 1953 das Foto 51, die Röntgenaufnahme der DNA, um die Doppelhelixstruktur der DNA abzuleiten. In der Schule (Abbildung 2) soll nun der P51™-Viewer genutzt werden, um u. a. das „Zentrale Dogma der Molekularbiologie“ (Abbildung 3) zu vermitteln. Auf sehr dünner Datengrundlage formulierte Crick nur vier Jahre nach der Entdeckung der DNA-Struktur sein Rahmenmodell. Der Begriff „Zentrales Dogma“ sollte nicht implizieren, dass dieses Modell kritiklos akzeptiert werden sollte, sondern betonen, dass diese Idee fundamental für das Verständnis von Leben und Vererbung ist. Im Nachhinein gestand Crick, dass er schlichtweg nicht wusste, was das Wort „Dogma“ bedeutete. Er verwendete es als Schlagwort, um die

Bedeutung als zentrale Hypothese zu betonen. Sie besagt, dass die DNA für RNA kodiert und diese wiederum für Proteine. Einen Weg zurück – vom Protein zur DNA – gibt es hingegen nicht. Das Bahnbrechende dieser Aussage war, dass sie die Entdeckung von Molekülen vorhersagte, die für die Übersetzung von DNA in Proteine verantwortlich sind. Obwohl noch immer neue Erkenntnisse über den genetischen Informationsfluss und seine Regulierung gewonnen werden, bleibt das „Zentrale Dogma“ in seiner Kernaussage bestehen.

Das Experimentier-Kit „Zentrales Dogma“ macht den genetischen Informationsfluss sichtbar. Der Prozess der Transkription von DNA zum Protein kann in Echtzeit beobachtet werden. Von der eingesetzten DNA

wird eine grün fluoreszierende mRNA abgelesen, die dann in ein rot fluoreszierendes Protein (RFP) übersetzt wird (Abbildung 4). Der Nachweis erfolgt simpel: Leuchtet es nach 15 Minuten grün, ist die mRNA entstanden und zeigt, dass die Abschrift (Transkription) stattgefunden hat. Leuchtet es am nächsten Tag rot, belegt dies die Übersetzung (Translation) in das rot fluoreszierende Protein. Zur Synthese der Proteine und der mRNA wird ein zellfreies BioBits®-System verwendet. Die BioBits® enthalten alle zellulären Komponenten wie RNA-Polymerase für die Transkription sowie Ribosomen und tRNAs für die Translation. Die als Bausteine zur Bildung von mRNA und Proteinen benötigten Ribonukleotide, Aminosäuren und ATP als Energiequelle sind auch bereits enthalten. So lässt sich mit jeder beliebigen kodierenden DNA ein Protein erzeugen, sobald man sie in das zellfreie System einbringt. Ein farbig fluoreszierendes Protein herzustellen, ist relativ einfach: In der Natur gibt es etliche Gene, die für bunt leuchtende Proteine kodieren. Etwas schwieriger ist es hingegen, eine mRNA zum Leuchten zu bringen. MiniPCR® verwendet hierfür ein Aptamer (Abbildung 5), das an die Sequenz des RFP-Gens angebaut wurde. Es trägt auch den Namen Brokkoli-Aptamer auf Grund des später entstehenden grünen Leuchtens. Dieser Bereich kodiert – nach Überschreibung in RNA – nicht für Aminosäuren, sondern bildet eine dreidimensionale Struktur, indem sich die Brokkoli-Units (eingekreiste Sequenz) der mRNA zu einem Doppelstrang falten. Diese Struktur bindet ganz spezifisch an den Chromophor (Abbildung 6) und umschließt ihn. Der grün fluoreszierende Chromophor ist im zellfreien System enthalten. Der Trick: Der Chromophor leuchtet erst dann grün, wenn er an das Aptamer gebunden hat und dadurch in die aktive, farbige Form gebracht wird. Der Rest der mRNA, die für das rot fluoreszierende Protein kodiert, wird davon nicht beeinträchtigt.

Um das „Zentrale Dogma“ zu untersuchen, setzen die Schüler/-innen vier Experimente an:

- Der erste Ansatz ist eine Negativkontrolle, bei der Wasser anstelle der DNA verwendet wird.
- Der zweite Ansatz stellt eine Referenzreaktion dar, bei der die DNA wie beschrieben erst zur grün leuchtenden mRNA und dann zu einem rot leuchtenden Protein umgesetzt wird.
- Der dritte Ansatz enthält die gleiche DNA, jedoch wird hier das Antibiotikum Kanamycin hinzugegeben, welches die Funktion der Ribosomen und damit die Translation hemmt.
- Der vierte Ansatz enthält eine andere DNA-Probe.

Vor dem Hintergrund ihres Vorwissens über die Struktur und Regulation eines Gens und seiner Expression sollen die Schüler/-innen die beobachtbaren Reaktionen erklären.

Einblicke in Laborarbeit

Das Experimentier-Kit „Zentrales Dogma“ ist didaktisch sehr gut aufgearbeitet. Das Lehrerhandbuch bereitet jede Phase des Unterrichts gut vor und leitet die Lehrperson durch die einzelnen Schritte der Vorbereitung. In einer PowerPoint-Präsentation wird jeder Arbeitsschritt visualisiert. Das Schülerhandbuch bereitet die Schüler/-innen auf die Durchführung des Praktikums vor und führt sie durch jeden einzelnen Schritt. So können sie mithilfe vorbereiteter Beobachtungstabellen jeweils ihre Vorhersage formulieren. Auf diese Weise gelingt die Auswertung des Versuches zuverlässig. Die Erklärung der Beobachtungen wird durch Tabellen zur Formulierung von Behauptung, Beweis und Argumentation ergebnisorientiert geführt. Vom Schwierigkeitsgrad her unterschied-

liche, spezifische, differenzierte Erläuterungen und Tipps ermöglichen auch schwachen Schüler/-innen die Auswertung, und durch das vorbereitende Arbeitsmaterial in Form von Konzeptkarten werden Schülerfragen bereits im Vorfeld geklärt. Außerdem gibt es für leistungsstarke Schüler/-innen weiterführende Fragen. Das Experiment ist kleinschrittig beschrieben; Vorgehensweise und Anleitung ähneln einem Kochrezept. Die Arbeitsaufträge sind nicht offen formuliert und bieten wenig Spielraum davon abzuweichen. Diese didaktische Reduzierung ist für Oberstufenschüler/-innen jedoch vertretbar.

Durch das Praktikum bekommen die Lernenden einen Einblick in die Arbeitsweisen in einem Labor. Hierfür sind keine teuren Geräte nötig und die Lehrpersonen können das Experiment mit vertretbarem Zeitaufwand für einen dreistündigen Kurs vorbereiten. Die Reaktionen sind so stabil, dass die Kontrolle auch eine Woche später erfolgen kann. Das Kit ist von der Anwendung her sehr einfach und die „molekularen Fabriken“ verzeihen auch so manchen kleinen Fehler. Die Lagerung ist bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis zu sechs Monate und im Kühlschrank bis zu drei Monate möglich.

Ein großer Kritikpunkt an diesem Kit ist sein Black-Box-Charakter. Die Schüler/-innen sehen zwar die unterschiedlichen Fluoreszenzen, doch um zu verstehen, was in den Reaktionsgefäßen passiert, ist viel Abstraktion erforderlich. Eine sorgfältige Einführung ist nötig, um verständlich zu machen, was da passiert. Zu diesem Zweck können neben dem bereits beschriebenen Material des Schüler- und Lehrerhandbuchs und der PowerPoint-Präsentation auch die guten Erklärvideos auf der Webseite von miniPCR® genutzt werden.



ABB. 2 P51™-Viewer im Einsatz in der Schule. Foto: Sarah Block.

Um etwas „Licht in die Black Box“ zu bringen, könnten weitere Kontrollen durchgeführt werden. Der Hemmstoff für die Translation ist ein Anfang, aber auch eher ein „Tropfen Zauberflüssigkeit“. Aus der Fragestellung an Schüler/-innen, welche Bedingungen für Transkription und Translation erforderlich sind, können sich weitere Experimente ergeben – so z. B.:

- (1) Was passiert, wenn man die Reaktion im Kühlschrank durchführt?
- (2) Was passiert, wenn man sie bei $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ durchführt oder das Reaktionsgefäß vorher kocht?
- (3) Was passiert, wenn der pH-Wert der Reaktionslösung unphysiologisch sauer oder alkalisch wird?
- (4) Was passiert, wenn man RNase oder DNase zugibt?
- (5) Was passiert, wenn man DNase zugibt, nachdem die RNA produziert wurde?

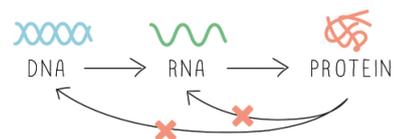


ABB. 3 Das „Zentrale Dogma der Molekularbiologie“: DNA wird über RNA in Protein übersetzt. Der umgekehrte Weg ist nicht möglich (von speziellen Ausnahmen abgesehen). Foto: miniPCR®.

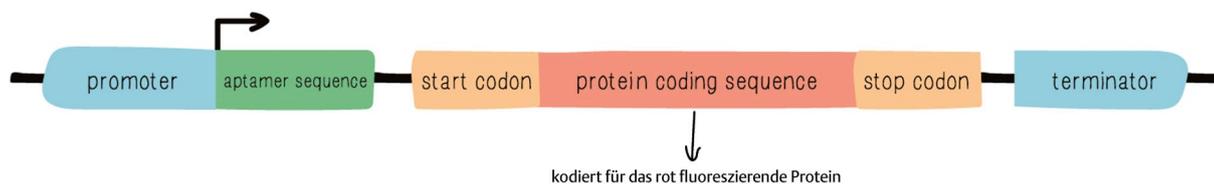


ABB. 4 Schema der für das Experiment verwendeten DNA-Sequenz. Foto: miniPCR®.

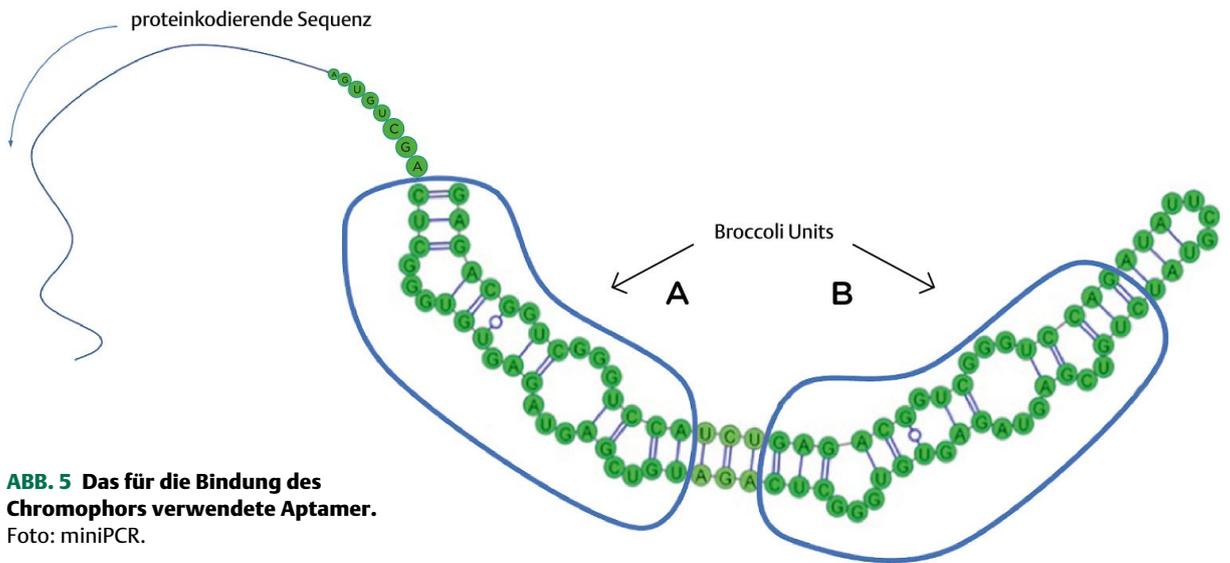


ABB. 5 Das für die Bindung des Chromophors verwendete Aptamer. Foto: miniPCR.

Ein Vorteil des P51TM-Fluoreszenz-Viewers ist, dass man die Palette an Experimenten – auch mit eigener Phantasie – enorm erweitern kann.

Schülerexperiment im Weltraum

Einfach, aber sehr instruktiv ist das „DNA Glow Lab“, in dem die DNA-Struktur einprägsam untersucht werden kann. Das Aufschmelzen von DNA und das Zusammenfügen (Hybridisierung) zur Doppelhelix kann damit in Echtzeit anhand der Fluoreszenz beobachtet werden. Dieses scheinbar so einfache Experiment lässt sich fast beliebig bis hin zu komplexen Reassoziationskinetiken erweitern. Mithilfe eines weiteren Experimentier-Kits können enzymatische Reaktionen in der Fluoreszenz untersucht werden.

Der recht kostengünstige Fluoreszenz-Viewer P51TM kann sogar in der Unter- und Mittelstufe benutzt werden, um fluoreszierende Farbstoffe in bunten Filzstiften sichtbar zu machen. Da dieses Gerät vielfältig

einsatzbar ist, überrascht es nicht, dass damit in diesem Jahr ein Experiment auf der ISS durchgeführt wird. Selin Kocalar von der *Leigh High School* in San José im Bundesstaat California gewann mit ihrer Idee 2021 den amerikanischen Schüler-Wettbewerb „Genes in Space“. Sie entwickelte gemeinsam mit ihrer Mentorin Bess Miller von der *Harvard Medical School* in Boston eine Möglichkeit, Pathogene wie *Pseudomonas aeruginosa* mit dem zellfreien Biosensor im Weltall nachzuweisen. In der Geschichte der Raumfahrt kam es immer wieder zu Verunreinigungen von Trinkwasser – sowohl beim Apollo-Programm als auch auf der ISS. Im Zuge der Apollo-13-Mission erkrankte ein Crewmitglied ernsthaft an einer Infektion durch *Pseudomonas aeruginosa*. Wasserproben mussten bisher immer zur Erde transportiert und in einem Labor durch rRNA-Sequenzierung auf Kontaminationen geprüft werden. Das erschwert eine Sicherstellung von sauberem Trinkwasser besonders bei langen Missionen – z. B. zum Mars. Selin Kocalars preisgekrönte Idee bietet genau das: eine einfache, benutzerfreundliche, tragbare Methode um die Wasserqualität zu testen – und zwar nicht nur im Weltraum, sondern auch auf der Erde, wo kontaminiertes Wasser in vielen Regionen ein großes Problem darstellt.

Was bisher nur amerikanischen Schüler/-innen vorbehalten war, soll nun auch in Deutschland möglich werden. Die kleine Firma BioWissKomm plant mit Unterstützung des VBIO den Schülerwettbewerb „Genes in Space“ auch in Deutschland einzuführen. Eine Lehrer-Schüler-Konferenz im Zeiss-Planetarium in Berlin ist bereits für den 21./22. März 2023 geplant. Danach werden großzügige Sponsoren gesucht, um 2024 oder 2025 ein Schülerexperiment in den Weltraum schicken zu können.

Zum Weiterlesen:

- F. Crick (1958). On Protein Synthesis. Symp. Soc. Exp. Biol. XII.
- D. Thieffry, S. Sarkar: Forty years under the central dogma. Trends Biochem. 23.
- J. D. Watson, F. H. C. Crick (1953). Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. Nature 171.
- miniPCR bioTM Lernlabor BioBits[®] (2020). Zentrales Dogma, Version 1.2. https://emerginginvestigators.org/documents/genes_in_space_2021, Stand: 31.03.22
- <https://www.instagram.com/p/CTVdH12pqoe/>, Stand: 30.03.2022
- <https://www.spiegel.de/wissenschaft/natur/glimmender-fisch-das-erste-design-haustier-leuchtet-rot-a-275525.html>, Stand: 31.03.22

Sarah Block, König-Heinrich-Schule und BioWissKomm, Fritzlar, E-mail: sarah-eliesabeth.block@schule.hessen.de, s.block@biowisskomm.de

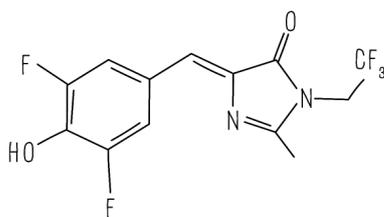


ABB. 6 Der grün fluoreszierende Chromophor ist bereits im zellfreien System enthalten. Foto: miniPCR[®].

Weitere Informationen zu P51TM und Experimenten erhalten Sie bei der Autorin.



Verband | Biologie, Biowissenschaften
& Biomedizin in Deutschland

**GEMEINSAM
FÜR DIE**

BIEWISSENSCHAFTEN

Gute Gründe, dem VBIO beizutreten:

- Werden Sie Teil des größten Netzwerks von Biowissenschaftlern in Deutschland
- Unterstützen Sie uns, die Interessen der Biowissenschaften zu vertreten
- Nutzen Sie Vorteile im Beruf
- Bleiben Sie auf dem Laufenden – mit dem VBIO-Newsletter und dem Verbandsjournal „Biologie in unserer Zeit“
- Treten Sie ein für die Zukunft der Biologie



www.vbio.de

Jetzt beitreten!

