

Vaterschaftsanalyse (Artikelnr.: P8110400)

Curriculare Themenzuordnung



Schwierigkeitsgrad



Schwer

Vorbereitungszeit



20 Minuten

Durchführungszeit



50 Minuten

empfohlene Gruppengröße



2 Schüler/Studenten

Zusätzlich wird benötigt:

- Wasserbad oder Mikrowellenherd
- Erlenmeyerkolben
- Optional zur Fragmentlängenbestimmung: DNA-Längenmarker mit Bromophenolblau-Färbung

Versuchsvarianten:

Schlagwörter:

DNA-Profil, Genetischer Fingerabdruck, Vererbung, Agarose-Gelelektrophorese, PCR, Rechtsmedizin

Lehrerinformationen

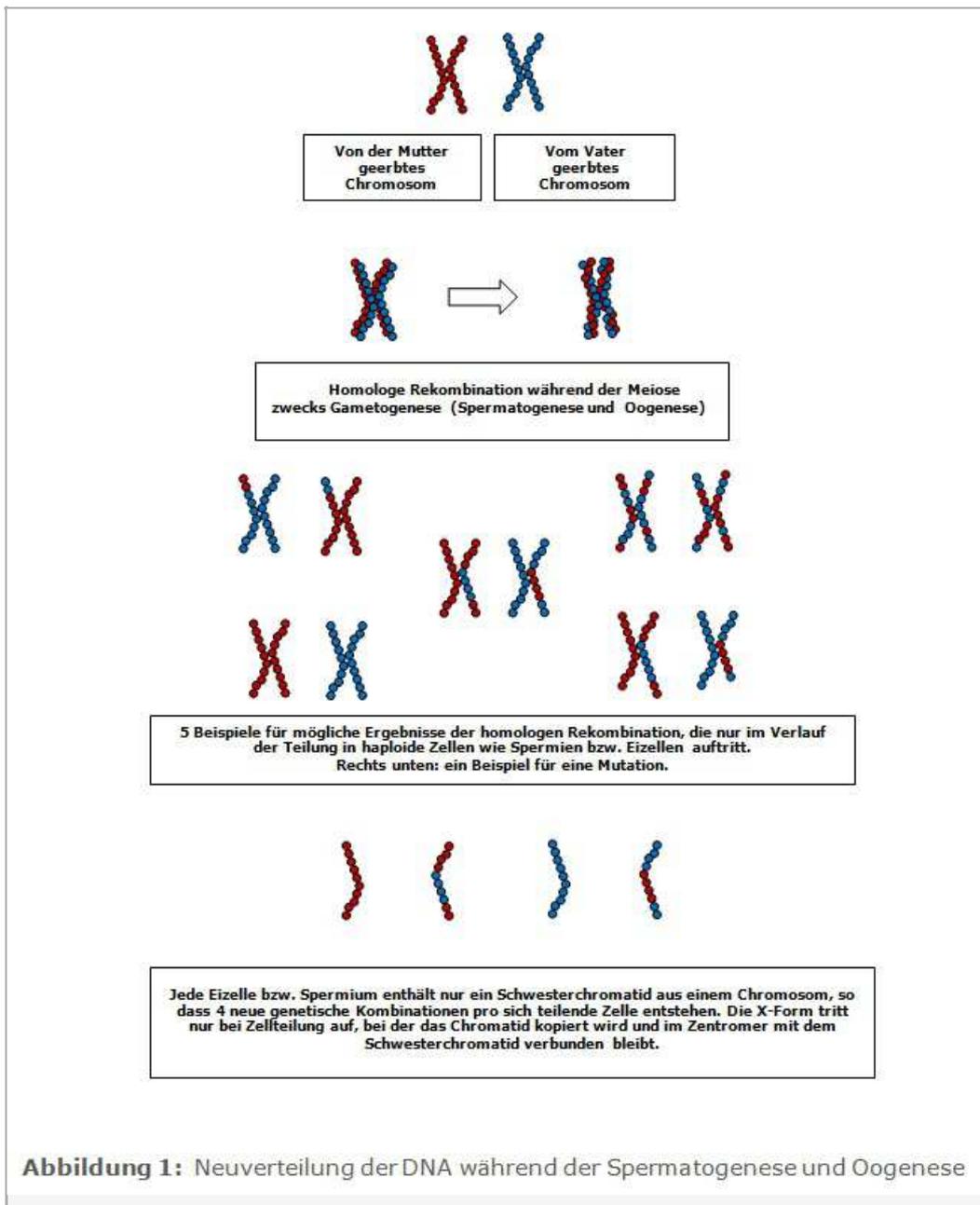
Einführung

Anwendung

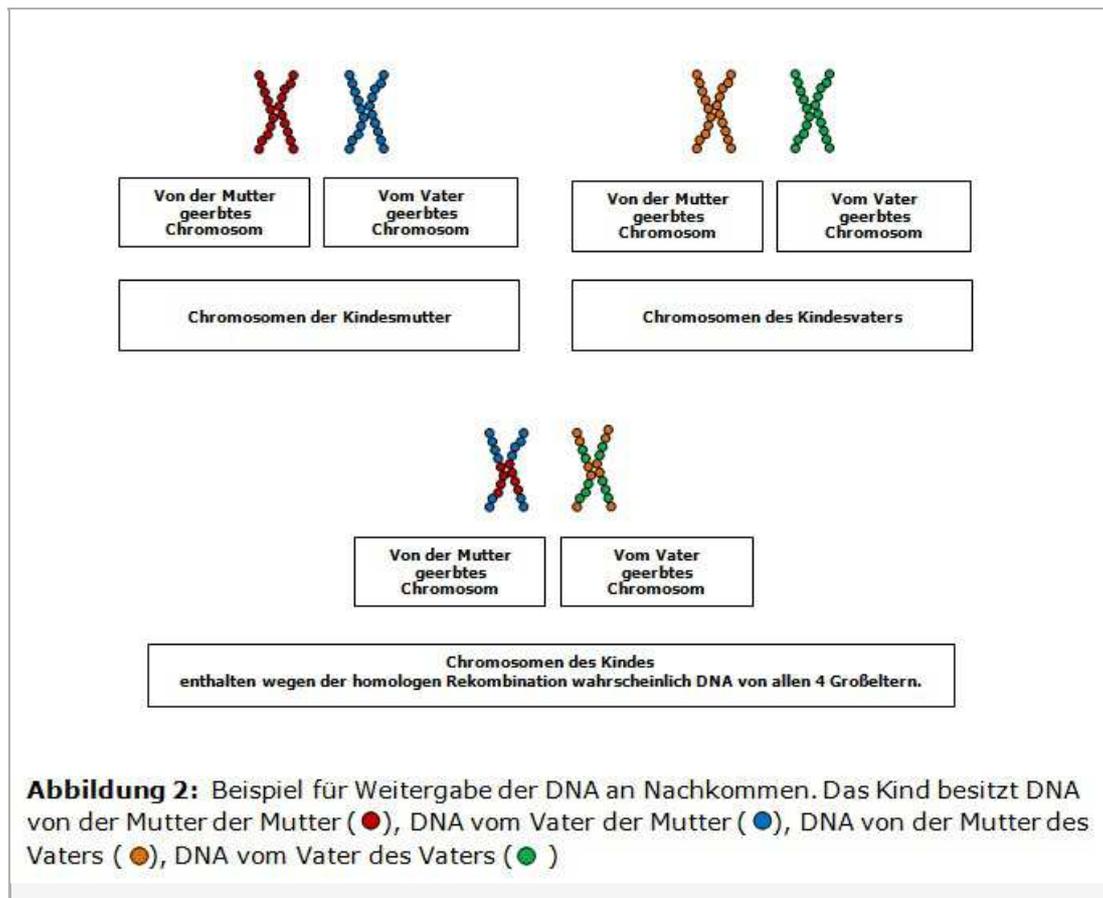
Um Vaterschaftsanalysen möglichst genau durchzuführen wird heute die DNA der Eltern und des Kindes hinzugezogen. Das menschliche Genom ist in 46 Chromosomen, darunter 2 Geschlechtschromosomen, gepackt.

Jeweils die Hälfte von ihnen stammt von den Chromosomen der Eizelle und von den Chromosomen des die Eizelle befruchtenden Spermiums. Dabei sind die Chromosomen des Spermiums und der Eizelle - bis auf das Geschlechtschromosom bei Männern - homolog, d.h. sie enthalten genetische Information, die sich auf dieselben Merkmale bezieht. (Zum Beispiel die Blutgruppe: vererbt werden bei Menschen von jedem Elternteil die Blutgruppe 0, A oder B. Genetisch sind dann Kombinationen 00, A0, AA, AB, BB und B0 möglich, wobei A und B dominant über 0 sind.)

Das bedeutet, dass bei einer Befruchtung die haploiden, weil mit 23 Chromosomen ausgestatteten, Eizelle und Spermium zu einer diploiden Zelle mit 46 Chromosomen verschmelzen.



So kommt es, dass bei einer DNA-Untersuchung die Hälfte des Genoms des Kindes nur mit dem der biologischen Mutter identisch sein kann und die andere Hälfte nur mit dem des biologischen Vaters.



Allerdings ist das Genom aller Menschen zu über 99% identisch, da es wichtige Proteine kodiert oder zu richtigen Verpackung der DNA im Chromosomen beiträgt.

Aussagekräftige individuelle Unterschiede findet man in ganz bestimmten DNA-Sequenzen: der Minisatelliten-DNA (engl. VNTRs für „variable number tandem repeats“). Minisatelliten sind nicht kodierende DNA-Abschnitte, die sich aus Wiederholungen von einer ganz bestimmten Abfolge von Basen zusammensetzen. Das besondere an Minisatelliten-DNA ist, dass die Anzahl der Wiederholungen, d.h. die Länge der Minisatelliten, im bestimmten Rahmen variiert und nicht bei jedem Menschen gleich ist.

Jeder Mensch besitzt eine Mehrzahl der Minisatelliten, so dass jeder Mensch eine charakteristische Zusammensetzung an Minisatelliten verschiedener Längen besitzt. Die Minisatelliten werden mit den Chromosomen von den Eltern vererbt.

Die für jeden Menschen charakteristische Zusammensetzung der Minisatelliten kann im Agarosegelelektrophorese sichtbar gemacht werden. Für die Vaterschaftsanalyse werden derzeit zwischen 8 und 15 Satelliten-DNA-Sequenzen jeder DNA-Probe in einer PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) vervielfältigt, damit sie in ausreichender Menge vorliegen.

Mit Hilfe der Gel-Elektrophorese werden die Proben auf die charakteristische Zusammensetzung an Minisatelliten-DNA-Sequenzen miteinander verglichen. Jede Sequenz des Kindes muss bei einem der Elternteile zu finden sein. Ist das nicht der Fall, dann kann eine biologische Verwandtschaft ausgeschlossen werden.

Zu Fehlerquellen gehören mögliche Verunreinigungen der Proben mit fremder DNA vor der PCR und versehentliches Vertauschen oder absichtliches Einsenden von falschen Proben. Daher werden heimliche Vaterschaftstests vor Gericht nicht anerkannt. Wer seine Vaterschaft vor Gericht anfechten möchte, kann sich hierfür nicht auf einen heimlichen Vaterschaftstest berufen.

Gelegentlich kann es während der Keimbahn zu einer Mutation kommen, so dass beim Kind eine oder wenige Sequenzen der Minisatelliten-DNA eine andere Länge aufweisen, als bei jedem der biologischen Eltern.

Wichtig: man unterscheidet zwischen biologischer, sozialer und rechtlicher Elternschaft. Sie schließen einander nicht aus, können aber auf verschiedene Personen verteilt sein.

Aufgabe

Im Versuch werden DNA-Sequenzen mehrerer Personen miteinander vergleichen, um Verwandtschaftsbeziehung zwischen ihnen festzustellen oder zu widerlegen.

Vorwissen

Begriffe wie Vererbung, DNA, Chromosom, Zellteilung, Mitose, Meiose sollten bekannt sein.

Prinzip

Im Versuch werden 3 DNA-Proben untersucht: eine von der Mutter, eine vom Kind und eine vom einem Mann, der als Vater in Frage kommt.

In der Gel-Elektrophorese werden die Minisatelliten-DNA-Sequenzen ihrer Länge nach sortiert, da sie sich wegen ihrer Länge und ihrer Form unterschiedlich schnell durch das Gel bewegen können.

So wird sichtbar, von wem das Kind die Sequenzen vererbt hat und von wem nicht.

Hinweise zur Vorbereitung, Aufbau und Durchführung

- Die DNA-Proben sind gebrauchsfertig und können direkt in der Gelelektrophorese eingesetzt werden.
- Die DNA-Proben beinhalten den Farbstoff Bromphenolblau (BPB). Dieser Indikator-Farbstoff dient dazu, den Fortgang der Gelelektrophorese verfolgen zu können. Die Anfärbung der DNA-Fragmente geschieht im Anschluss an die Gelelektrophorese mit Hilfe der beiliegenden DNA-Färbelösung.
- Die zum Kit gehörenden DNA-Proben sind nicht-humanen Ursprungs und dienen lediglich der Simulation tatsächlicher Untersuchungsergebnisse.

Methodische Bemerkungen

Für eine längere Lagerung der DNA-Proben sollten diese bei -18°C eingefroren aufbewahrt werden.

Erfahrungsgemäß macht das Pipettieren und Auftragen von Proben in die Geltaschen eines Agarosegels zu Anfang etwas Schwierigkeiten. Das Pipettieren kann mit einer Lösung aus blauer Tinte und Glycerin geübt werden. Für die Übungslösung werden 2 Volumen blaue Tinte mit 1 Volumen Glycerin vermischt. Diese Übungslösung hat etwa die Viskosität der beiliegenden DNA-Proben und lässt sich zum Einüben des Pipettierens gut einsetzen.

Häufig auftretende Fehler: Die Geltaschen werden zu Anfang schlecht getroffen und überfüllt. Es kommt auch vor, dass die Pipettenspitze zu tief in die Geltasche eingeführt und so der Boden der Geltasche beschädigt wird. Das Herausziehen der Pipettenspitze aus der Geltasche erfolgt zu schnell und die gerade eingefüllte Probe wird teilweise herausgewirbelt. Der Druckknopf der Mikropipette bleibt beim Herausziehen der Pipettenspitze nicht gedrückt und saugt so die Probe wieder an.

Material

Position	Material	Bestellnr.	Menge
1	Mikroliterpipette 2-20 μl	47141-10	1
2	Mikroliterpipette 20-200 μl	47141-11	1
3	Spitzen lose 2-200 μl , gelb, 1000 Stück	47148-01	1
4	DNA-Elektrophoresekammer, horizontal	KLA-530-200	1
5	Doppelspatel, Stahl, l = 185 mm	46952-00	1
6	Löffelspatel, Stahl vernickelt, l = 180	33392-00	1
7	Schutzbrille, farblose Scheiben	39316-00	1
8	Färbewanne, UV-durchlässig, PETG, 143 mm x 100 mm x 25 mm	35023-20	1
9	Elektrophorese-Netzgerät, Stromversorgungsgerät 100V/200V	65966-93	1
10	Magnetrührer mit Heizung und Kontaktthermometeranschluss, für 3 Liter, 230 V	35760-93	1
11	Erlenmeyerkolben DURAN®, Enghals, 500 ml	36121-00	1
12	Messzylinder (PP), hohe Form, 500 ml	46288-01	1
13	Magnetrührstäbchen 50 mm, zylindrische Form	46299-03	1
14	Watte, weiß, 200 g	31944-10	1
15	Wasser, destilliert 5 l	31246-81	1
16	Gummihandschuhe, Größe S (7)	39325-00	1
17	Vaterschaftsanalyse über DNA-Profile, Elektrophorese	KLA-530-130	1

Sicherheitshinweise

Sicherheitshinweise



Handschuhe und Schutzbrille tragen!

Während des Experiments sollten generell Laborkittel und Schutzbrillen getragen werden. Handschuhe sind ebenfalls vorzuhalten und bei Bedarf anzuziehen.

Beim Herstellen des Agarosegels sind isolierte Handschuhe zu tragen, damit es nicht zu Verbrennungen oder Verbrühungen an den Händen kommt.

Auf die Gefahren von Elektrizität ist zu achten. Alle Verbindungsstecker, Netzkabel und Arbeitsflächen (aber auch die Hände) müssen trocken sein, bevor die Bedienung von elektrischen Geräten erfolgt.

Weitere Maßnahmen zur Arbeitssicherheit: Lange Haare zusammen binden, möglichst keinen Schmuck tragen, enganliegende Ärmel etc, damit kein unerwünschter Kontakt mit Geräten, Chemikalien usw. auftreten kann.

Sämtliche Abfälle sind entsprechend den Anweisungen und den örtlichen Bestimmungen zu entsorgen.

Mögliche Gefahren der Kit-Bestandteile

DNA-Proben

Die DNA-Proben enthalten einen Glycerin-Anteil von 10% sowie den Farbstoff Bromphenolblau in einer Konzentration von 0,25%.

Der Stoff bzw. das Gemisch ist nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 nicht als gefährlich eingestuft.

Nach Richtlinie 67/548/EWG bzw. Richtlinie 1999/45/EG ist der Stoff bzw. das Gemisch nicht als gefährlich eingestuft.

Elektrophoresepuffer, 50-fach konz.

Folgende Hinweise beziehen sich auf den konzentrierten Elektrophoresepuffer und müssen nicht zwangsläufig auch für den verdünnten Puffer (Arbeitslösung) gelten.

Einstufung gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008:

Gefahrenhinweise

H315: verursacht Hautreizungen

H319: verursacht Augenreizungen

H335: kann die Atemwege reizen

Sicherheitshinweise

P280: Schutzkleidung, Augenschutz tragen

P261: Einatmen vermeiden

P302+P352: Bei Kontakt mit der Haut mit viel Wasser und Seife waschen.

P305+P351+P338: Bei Kontakt mit den Augen einige Minuten lang behutsam mit Wasser

Spülen, Kontaktlinsen ggf. entfernen, weiter spülen

Agarose

Nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 ist der Stoff als nicht gefährlich eingestuft.

Nach Richtlinie 67/548/EWG bzw. Richtlinie 1999/45/EG ist der Stoff bzw. das Gemisch nicht als gefährlich eingestuft.

Empfehlung: Handschuhe und Schutzbrille tragen, Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Staubentwicklung vermeiden, Agarose nicht einatmen.

DNA-Färbelösung, 200-fach konz.

Die wässrige Lösung ist nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 nicht als gefährlich eingestuft.

Nach Richtlinie 67/548/EWG bzw. Richtlinie 1999/45/EG ist der Stoff bzw. das Gemisch nicht als gefährlich eingestuft.

Empfehlung: Handschuhe und Schutzbrille tragen, Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.

Ergebnisse

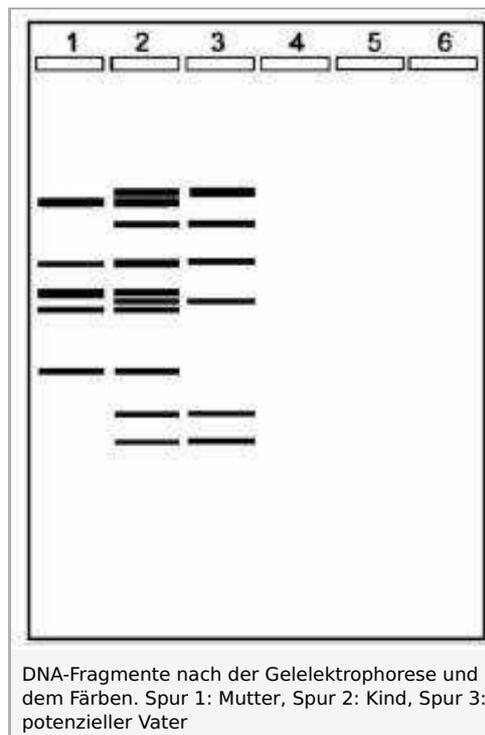
Bei der Auftragung der DNA-Proben von links nach rechts

- DNA-Mutter
- DNA-Kind
- DNA-potenzieller Vater

zeigen sich unter optimalen Elektrophoresebedingungen und optimaler Färbung der DNA folgende Fragmentlängen (Angaben in Basenpaaren, bp):

DNA Mutter	DNA Kind	DNA pot. Vater
21.200	23.100	23.100
7.400	21.200	9.400
5.800	9.400	6.500
5.600	7.400	4.300
4.800	6.500	2.300
3.500	5.800	2.000
	5.600	560
	4.800	120
	4.300	
	3.500	
	2.300	
	2.000	
	560	
	120	

Bei einer Gellänge von ca. 8 cm ergibt sich im Agarosegel bei Anfärbung mit dem beiliegenden Farbstoff Methylenblau meistens folgendes DNA-Muster:



Die kleinen DNA-Fragmente sind häufig nicht zu sehen, da die Anfärbung mit dem beiliegenden Farbstoff nicht die hohe Empfindlichkeit aufweist, um relativ kurze DNA-Stücke darzustellen. Bei zu kurzen Trennwegen können DNA-Fragmente mit ähnlichen Längen unter Umständen nicht voneinander getrennt werden und es treten Doppelbanden auf. Für die Auswertung und das prinzipielle Verstehen der Methodik sind beide Effekte jedoch unerheblich.

Im vorliegenden Fall weist das Kind alle Allele der Mutter und des potentiellen Vaters auf. Dies spricht dafür, dass der potentielle Vater auch der leibliche Vater des Kindes ist.

Vaterschaftsanalyse (Artikelnr.: P8110400)

Einführung

Fragestellung

Wie ist es möglich mit Hilfe von DNA-Proben die Vaterschaft nachzuweisen?



Manche Väter müssen erst mit den Mitteln der DNA-Analyse von ihrer Vaterschaft überzeugt werden

Aufgabe

Im Versuch untersuchst Du die DNA-Proben, um die Verwandtschaftsbeziehung von 3 Personen festzustellen. Es sind die Proben einer Frau, eines Kindes und eines Mannes. Die Frau ist die biologische Mutter des Kindes. Mit Hilfe der Gel-Elektrophorese klärst Du auf, ob der Mann der biologische Vater des Kindes sei.

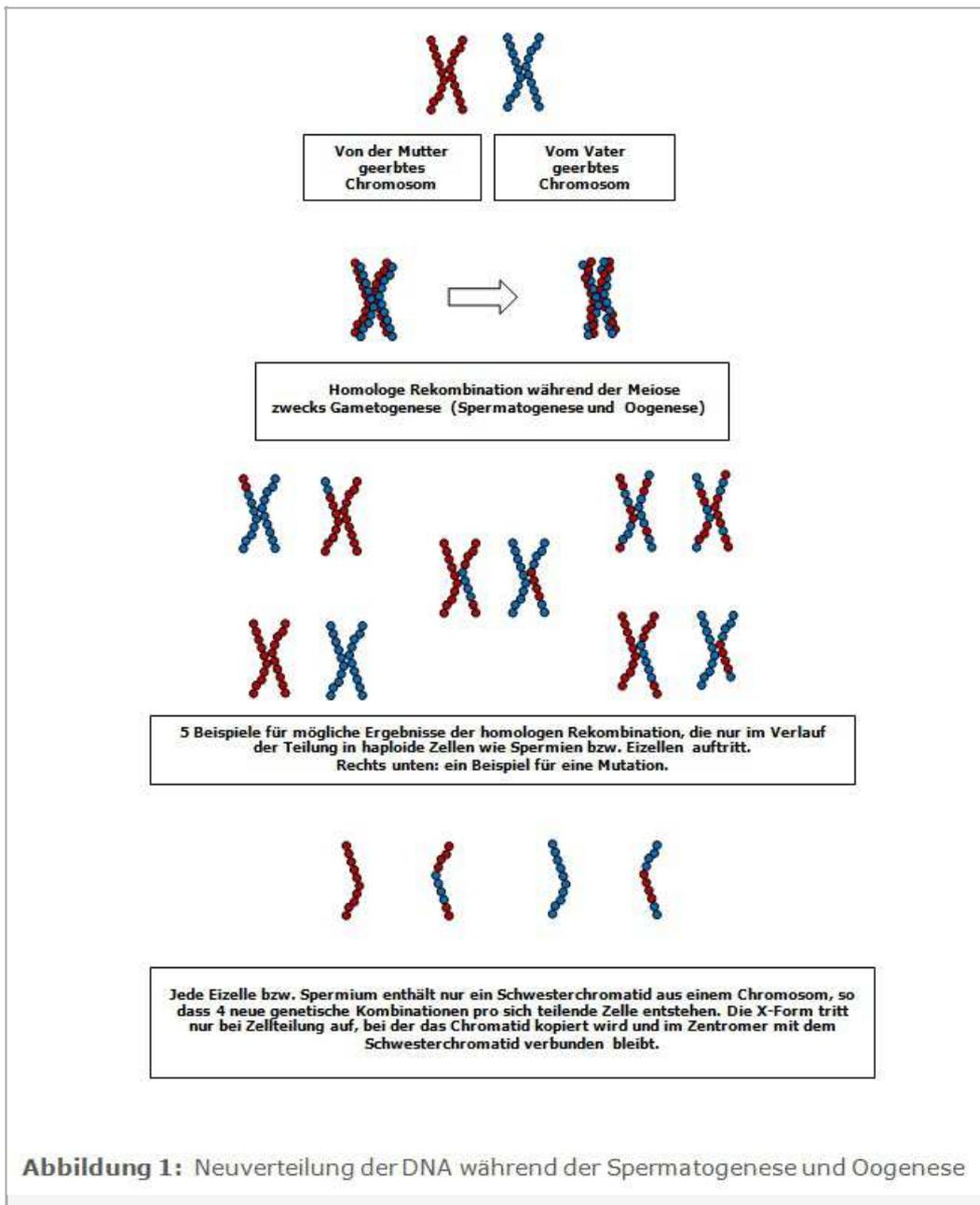
Sicherheitshinweise



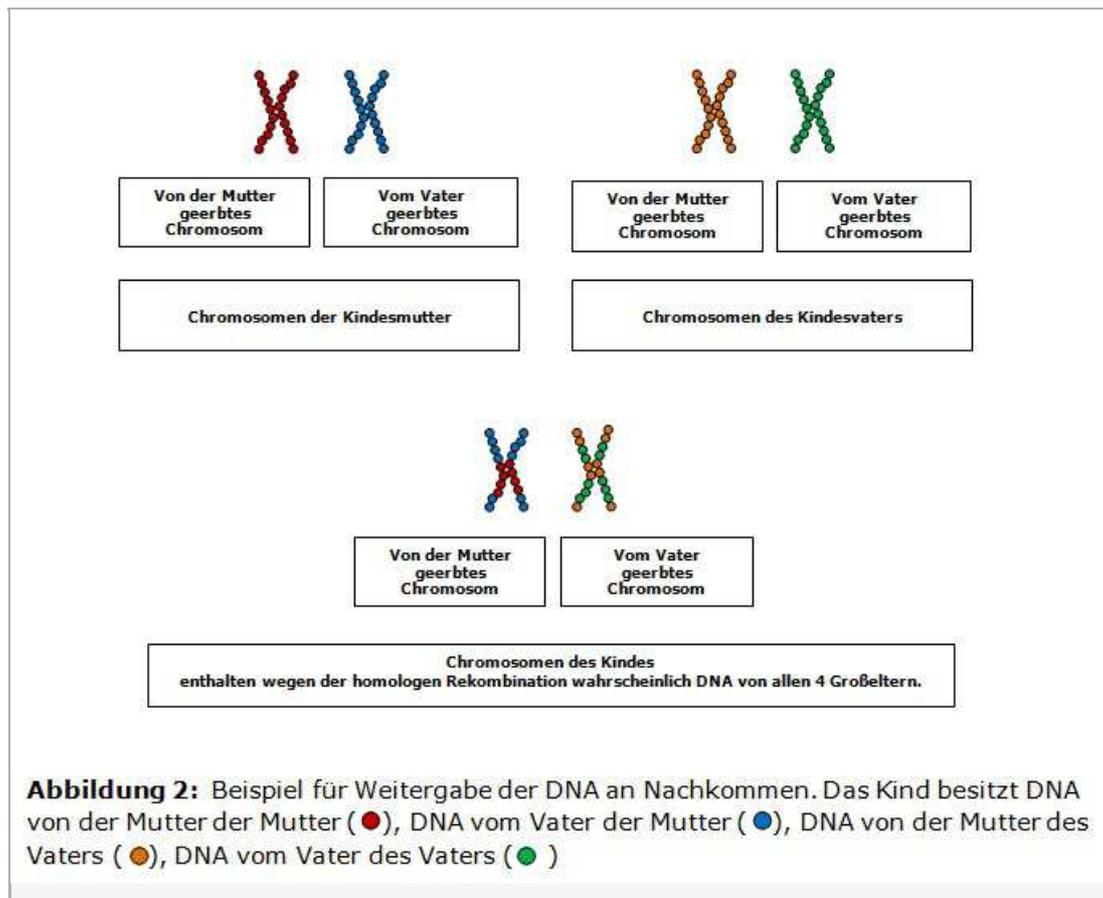
Anwendung

Um Vaterschaftsanalysen möglichst genau durchzuführen wird heute die DNA der Eltern und des Kindes hinzugezogen. Das menschliche Genom ist in 46 Chromosomen, darunter 2 Geschlechtschromosomen, gepackt. Jeweils die Hälfte von ihnen stammt von den Chromosomen der Eizelle und von den Chromosomen des die Eizelle befruchtenden Spermiums. Dabei sind die die Chromosome des Spermiums und der Eizelle - bis auf das Geschlechtschromosom bei Männern - homolog, d.h. sie enthalten genetische Information, die sich auf dieselben Merkmale bezieht. (Zum Beispiel die Blutgruppe: vererbt werden bei Menschen von jedem Elternteil die Blutgruppe 0, A oder B. Genetisch sind dann Kombinationen 00, A0, AA, AB, BB und B0 möglich, wobei A und B dominant über 0 sind.)

Das bedeutet, dass bei einer Befruchtung die haploiden, weil mit 23 Chromosomen ausgestatteten, Eizelle und Spermium zu einer diploiden Zelle mit 46 Chromosomen verschmelzen.



So kommt es, dass bei einer DNA-Untersuchung die Hälfte des Genoms des Kindes nur mit dem der biologischen Mutter identisch sein kann und die andere Hälfte nur mit dem des biologischen Vaters.



Allerdings ist das Genom aller Menschen zu über 99% identisch, da es wichtige Proteine kodiert oder zu richtiger Verpackung der DNA im Chromosom beiträgt.

Aussagekräftige individuelle Unterschiede findet man in ganz bestimmten DNA-Sequenzen: der Minisatelliten-DNA (engl. VNTRs für „variable number tandem repeats“). Minisatelliten sind nicht kodierende DNA-Abschnitte, die sich aus Wiederholungen von einer ganz bestimmten Abfolge von Basen zusammensetzen. Das Besondere an Minisatelliten-DNA ist, dass die Anzahl der Wiederholungen, d.h. die Länge der Minisatelliten, im bestimmten Rahmen variiert und nicht bei jedem Menschen gleich ist.

Jeder Mensch besitzt eine Mehrzahl der Minisatelliten, so dass jeder Mensch eine charakteristische Zusammensetzung an Minisatelliten verschiedener Längen besitzt. Die Minisatelliten werden mit den Chromosomen von den Eltern vererbt.

Die für jeden Menschen charakteristische Zusammensetzung der Minisatelliten kann im Agarosegelelektrophorese sichtbar gemacht werden. Für die Vaterschaftsanalyse werden derzeit zwischen 8 und 15 Satelliten-DNA-Sequenzen jeder DNA-Probe in einer PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) vervielfältigt, damit sie in ausreichender Menge vorliegen.

Mit Hilfe der Gel-Elektrophorese werden die Proben auf die charakteristische Zusammensetzung an Minisatelliten-DNA-Sequenzen miteinander verglichen. Jede Sequenz des Kindes muss bei einem der Elternteile zu finden sein. Ist das nicht der Fall, dann kann eine biologische Verwandtschaft ausgeschlossen werden.

Zu Fehlerquellen gehören mögliche Verunreinigungen der Proben mit fremder DNA vor der PCR und versehentliches Vertauschen oder absichtliches Einsenden von falschen Proben. Daher werden heimliche Vaterschaftstests vor Gericht nicht anerkannt. Wer seine Vaterschaft vor Gericht anfechten möchte, kann sich hierfür nicht auf einen heimlichen Vaterschaftstest berufen.

Gelegentlich kann es während der Keimbahn zu einer Mutation kommen, so dass beim Kind eine oder wenige Sequenzen der Minisatelliten-DNA eine andere Länge aufweisen, als bei jedem der biologischen Eltern.

Wichtig: man unterscheidet zwischen biologischer, sozialer und rechtlicher Elternschaft. Sie schließen einander nicht aus, können aber auf verschiedene Personen verteilt sein.

1. Vorbereitung - Theorie

Informiere Dich über die Vererbungslehre, die Unterschiede zwischen den haploiden und den diploiden Zellen und darüber, wo im menschlichen Körper haploide Zellen zu finden sind.

Kläre warum aus der DNA einzelner Personen eine Aussage über deren Verwandtschaftsbeziehung gemacht werden kann, obwohl die DNA aller Menschen zu über 99% identisch ist. (Tipp: 1 Merkmal reicht nicht aus.)

2. Vorbereitung - Praxis

Die DNA-Proben sind gebrauchsfertig und können direkt in der Gelelektrophorese eingesetzt werden.

Das Färben nach der Gelelektrophorese sollte direkt in deren Anschluss erfolgen, da sonst die DNA-Banden im Gel diffundieren und unscharf werden.

Material

Position	Material	Bestellnr.	Menge
1	TESS Molekularbiologie Versuchskit Vaterschaftsanalyse	35023-08	1
2	Präzisionswaage, Sartorius ENTRIS822-1S, 820 g / 0,01 g	49295-99	1
3	Elektrophorese-Kammer, horizontal	35023-00	1
4	Elektrophorese-NetzgerätStromversorgungsgerät 100V/200V	65966-93	1
5	Magnetrührer mit Heizung und Kontaktthermometeranschluss, für 3 Liter, 230 V	35760-93	1
6	Magnetrührstäbchen 50 mm, zylindrische Form	46299-03	1
7	Mikroliterpipette 2-20 µl	47141-10	1
8	Mikroliterpipette 20-200 µl	47141-11	1
9	Spitzen palettiert in der Box 2-200 µl, gelb, 96 Stück	47148-11	1
10	Färbewanne, UV-durchlässig, PETG, 143 mm x 100 mm x 25 mm	35023-20	1
11	Messzylinder (PP), hohe Form, 500 ml	46288-01	1
12	Erlenmeyerkolben DURAN®, Enghals, 500 ml	36121-00	1
13	Doppelspatel, Stahl, l = 185 mm	46952-00	1
14	Löffelspatel, Stahl vernickelt, l = 180	33392-00	1
15	Schutzbrille, farblose Scheiben	39316-00	1
16	Gummihandschuhe, Größe S (7)	39325-00	1
17	Wasser, destilliert 5 l	31246-81	1
18	Watte, weiß, 200 g	31944-10	1

Aufbau und Durchführung

Die Schritte „Gießen des Agarosegels“ und „DNA-Färbelösung vorbereiten“ können an einem Vortag vorbereitet werden.

Gießen des Agarosegels

Für die Darstellung der PCR-Produkte eignet sich ein 1%iges Agarosegel, welches mit dem mitgelieferten 50-fach konzentrierten TAE-Elektrophoresepuffer hergestellt wird. Dieser wird zuvor 1:50 mit destilliertem Wasser verdünnt.

1. Die Agarosemenge wird für ein 1%iges Gel abgewogen und in einem Erlenmeyerkolben gegeben.
2. Eine entsprechende Menge 1-fach-konz. Elektrophoresepuffer wird im Messzylinder abgemessen und hinzugegeben, gut verrührt, und der Erlenmeyerkolben mit einem Wattestopfen leicht verschlossen
3. Das Gesamtgewicht des Erlenmeyerkolbens mit Inhalt notieren, damit nach dem Auflösen der Agaroselösung der Siedeverlust mit dest. Wasser entsprechend ausgeglichen werden kann.
4. Die Agarose im kochenden Wasserbad solange erhitzen, bis sie vollständig geschmolzen ist. (Möglich ist auch ein Erhitzen in der Mikrowelle **OHNE Magnetrührstäbchen** - ca. 1 Minute volle Leistung pro 100ml). Nicht überkochen lassen.

Vorsicht: Küchenhandschuhe tragen zum Anfassen des heißen Erlenmeyerkolbens. Außerdem kann Siedeverzug auftreten, so dass die Agarose herausspritzen kann (Schutzbrille!).

Damit ein gleichmäßiges Schmelzen der Agarose erfolgen kann zwischendurch den Erlenmeyerkolben herausnehmen und schwenken, aber Luftblasenbildung vermeiden.

5. Die flüssige Agarose im Wasserbad langsam auf ca. 60°C abkühlen lassen und dann das Gel gießen (Agarose geliert ab ca. 40 °C). Das Gel sollte möglichst nicht zu dick gegossen werden, da sich dies ungünstig auf die Anfärbung der DNA-Fragmente nach Abschluss der Gelelektrophorese auswirkt. Ein 3-4 mm dickes Gel ist ideal für diesen Versuch.
6. Den Kamm einstecken und das Agarosegel erstarren lassen (ca. 20 Min.).
7. Das Gel mit Elektrophoresepuffer überschichten.

Tipp: Falls Sie die Elektrophorese erst später durchführen möchten, lassen Sie den Kamm im Gel stecken und decken das Gel mit etwas Haushaltsfolie ab, damit das Gel nicht austrocknet. Im Kühlschrank hält sich das Gel einige Tage, es darf nur auf keinen Fall austrocknen. Es muss mit Elektrophoresepuffer überschichtet bleiben.

Der Elektrophoresepuffer kann mehrfach verwendet werden, die Lagerung erfolgt bei Raumtemperatur.

8. Den Kamm vorsichtig entfernen. Durch die Zähne des Kamms sind in dem festen Agarosegel Geltaschen entstanden, in die später die Proben pipettiert werden.

DNA-Färbelösung vorbereiten

Die 200-fach konz. Färbelösung wird mit dest. Wasser verdünnt, so dass eine 1-fach konz. Färbelösung entsteht. Das heißt, 1 Vol. 200-fach konz. Färbelösung wird zu 199 Vol. dest. Wasser gegeben, um die gebrauchsfertige Färbelösung herzustellen. Die Aufbewahrung erfolgt lichtgeschützt bei 4°C im Kühlschrank. Die DNA-Färbelösung kann mehrfach benutzt werden und mehrere Monate haltbar sein.

Auftragen der Proben für die Gelelektrophorese

Achtung: Es ist darauf zu achten, dass der Boden der Geltaschen nicht beschädigt wird, indem beim Pipettieren die Pipettenspitze zu tief in die Geltasche eingetaucht wird.

Von den DNA-Proben werden in folgender Reihenfolge mit einer Mikroliterpipette je 12 µl DNA in die Geltaschen des Agarosegels pipettiert. (Wird ein empfindlicherer Farbstoff zur Anfärbung eingesetzt, können auch 8 bis 10 µl DNA-Probe ausreichen.)

- DNA-Probe der Mutter
- DNA-Probe des Kindes
- DNA-Probe des potentiellen Vaters

Gelelektrophorese

Die Elektrophorese wird sofort nach dem Auftragen der DNA-Proben gestartet. Die einzustellende Gleichspannung ist abhängig von der verwendeten Elektrophoresekammer. Als Faustregel gilt eine Spannung von 5 Volt/ cm Elektrodenabstand.

Die Elektrophorese wird beendet, wenn der Farbstoff Bromphenolblau in den DNA-Proben den unteren Rand des Agarosegels erreicht hat.

Färbung des Agarosegels

Nach der Elektrophorese wird das Agarosegel vorsichtig in eine passende Färbeschale überführt. Als Färbeschale kann eine Kunststoff- oder Glasschale zum Einsatz kommen. Das Überführen des Gels in diese Schale kann z.B. mit einem haushaltsüblichen Pfannenwender oder einem breiten Spatel erfolgen.

Das Gel wird mit der Färbelösung überschichtet und für ca. 10-15 Min. gefärbt. Die Schale dabei etwas schwenken, damit eine gleichmäßige Färbung erzielt wird. Anschließend wird die Färbelösung zurück in die Aufbewahrungsflasche gegossen und das Gel mit Leitungswasser solange entfärbt bis der Hintergrund ausreichend entfärbt ist und die DNA-Banden sichtbar sind.

Idealerweise fotografiert man das Gel bei Durchlicht auf einem Leuchtkasten.

Das Gel kann in Haushaltsfolie eingewickelt für ein paar Tage im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Beobachtung und Auswertung

Fotografiere das Gel oder erstelle eine Zeichnung des Agarosegels und vergleiche die Bandenmuster miteinander um festzustellen, ob ein Verwandtschaftsverhältnis besteht.

Bei Verwendung mit einem zusätzlichen DNA-Längenmarker: Trage die Fragmentlängen, die in der Gelelektrophorese sichtbar werden für die drei DNA-Proben in eine Tabelle ein (Angaben in Basenpaaren, bp) und vergleiche die Fragmentlängen miteinander.