

## Experimentelle Mikrobiologie und Genetik im Biologieunterricht des Gymnasiums



STAATSINSTITUT FÜR SCHULQUALITÄT  
UND BILDUNGSFORSCHUNG  
MÜNCHEN

---

# Experimentelle Mikrobiologie und Genetik im Biologieunterricht

**Handreichung für den Unterricht  
am Gymnasium**

F.-J. Scharfenberg  
in Zusammenarbeit mit dem  
Fachreferat Biologie  
Abteilung Gymnasium

**München 2010**

Erarbeitet im Auftrag des Bayerischen Staatsministeriums für Unterricht und Kultus

**Autor:**

Dr. Franz-Josef Scharfenberg, Universität Bayreuth, Lehrstuhl für Didaktik der Biologie

**Redaktion:**

Jochen Meyer, ehem. ISB, Abt. Gymnasium  
Petra Reinold, ISB, Abt. Gymnasium

**Herausgeber:**

Staatsinstitut für Schulqualität und Bildungsforschung

**Anschrift:**

Staatsinstitut für Schulqualität und Bildungsforschung  
Abteilung Gymnasium  
Schellingstr. 155  
80797 München  
Tel.: 089 2170-2160  
Fax: 089 2170-2125  
Internet: [www.isb.bayern.de](http://www.isb.bayern.de)  
E-Mail: [petra.reinold@isb.bayern.de](mailto:petra.reinold@isb.bayern.de)

**Veröffentlichung:**

online

**Bilder Umschlagseite:**

Dr. Franz-Josef Scharfenberg

## Inhaltsverzeichnis

<b>Vorbemerkung</b> .....	<b>4</b>
<b>1 Lehrplanbezogener Überblick zu den vorgeschlagenen Experimenten</b> .....	<b>6</b>
1.1 Natur und Technik: Jahrgangsstufe 5.....	6
1.2 Biologie: Jahrgangsstufe 8.....	7
1.3 Biologie: Jahrgangsstufe 9.....	8
1.4 Biologie: Jahrgangsstufe 10.....	10
1.5 Biologie: Jahrgangsstufe 11.....	12
1.6 W- und P-Seminare.....	14
1.7 Biologisch-chemisches Praktikum: Jahrgangsstufe 11/12.....	15
<b>2 Arbeitstechniken</b> .....	<b>17</b>
2.1 Richtlinien zur Sicherheit im Unterricht.....	17
2.2 Allgemeines.....	17
2.3 Grundsätze des aseptischen Arbeitens.....	18
2.4 Herstellung von Agarplatten.....	20
<b>3 Anleitungen zu den Experimenten</b> .....	<b>21</b>
3.1 Jahrgangsstufe 5.....	21
3.2 Jahrgangsstufe 8.....	22
3.3 Jahrgangsstufe 9.....	24
3.4 Jahrgangsstufe 10.....	29
3.5 Jahrgangsstufe 11.....	32
<b>4 Kommentierte Versuchsanleitungen und Kopiervorlagen</b> .....	<b>35</b>
Nachweis des Exoenzyms Amylase.....	35
Waschmittel-Enzyme: Amylase, Protease, Lipase.....	38
Vergleich von Lab-Ferment und Chymosin.....	41
Hydrolyse von DNA und RNA, Nachweis der unterschiedlichen Zuckerbausteine.....	43
Isolierung von Alginaten und Immobilisierung von $\beta$ -Galactosidase.....	46
Nutzung von Enzymen: $\beta$ -Galactosidase.....	50
<b>5 Zusätzliche Informationen</b> .....	<b>53</b>
5.1 Schülerlabore.....	53
5.2 Definitionen Gentechnik.....	53
<b>6 Literaturangaben</b> .....	<b>56</b>
<b>7 Bildnachweise</b> .....	<b>57</b>

## Vorbemerkung

Moderner naturwissenschaftlicher Unterricht verfolgt nach dem neuen Lehrplan zusätzlich zur Vermittlung von Fachinhalten verstärkt auch eine Handlungsdimension. Der Unterricht bietet Raum für Aktivitäten, bei denen die Schülerinnen und Schüler auch mit Arbeitsmethoden und Denkweisen vertraut werden, wie etwa dem Auswerten von Materialien und Experimenten oder dem selbständigen Planen und Durchführen von Experimenten. Handlungsorientierte Unterrichtsverfahren leisten so einen Beitrag zum Erwerb von Fähigkeiten und Fertigkeiten, die allen naturwissenschaftlichen Fächern gemeinsam sind. Ebenso wenig wie aus der Biologie in Forschung und Industrie das Experiment als zentrale Form der Erkenntnisgewinnung wegzudenken ist, ist dies im Biologieunterricht der Fall.

Dies wird auch in den von der Kultusministerkonferenz festgelegten Bildungsstandards für den Mittleren Schulabschluss im Fach Biologie deutlich. Hier wird neben den fachlichen Kompetenzen dem experimentellen Arbeiten (Kompetenzbereich: Erkenntnisgewinnung) große Bedeutung für den Erwerb einer naturwissenschaftlichen Grundbildung eingeräumt. Typische naturwissenschaftliche Arbeitsweisen im Biologieunterrichts, z. B. Betrachten, Beobachten, Untersuchen und Experimentieren, finden sich in den Formulierungen folgender Standards wieder:

*„Die Schülerinnen und Schüler...*

*E 1 mikroskopieren Zellen und stellen sie in einer Zeichnung dar, (...)*

*E 4 ermitteln mithilfe geeigneter Bestimmungsliteratur im Ökosystem häufig vorkommende Arten,*

*E 5 führen Untersuchungen mit geeigneten qualifizierenden oder quantifizierenden Verfahren durch,*

*E 6 planen einfache Experimente, führen die Experimente durch und/oder werten sie aus,*

*E 7 wenden Schritte aus dem experimentellen Weg der Erkenntnisgewinnung zur Erklärung an, ...“<sup>1</sup>*

Genau hier möchte diese Veröffentlichung anknüpfen und auf dem Gebiet der Mikrobiologie und Genetik eine Auswahl von Untersuchungen und Experimenten zeigen, die an der Schule mit vertretbarem Aufwand durchführbar sind. Im Fachlehrplan sind nur an einigen Stellen Arbeitsweisen direkt vorgegeben. Ansonsten bietet er genügend Freiräume, bestimmte Aktivitäten bei unterschiedlichsten Themen aufzugreifen. Diese Veröffentlichung zeigt exemplarisch, wie diese Freiräume gefüllt werden können. Sie kann somit als Leitfaden für einen experimentell ausgerichteten Biologieunterricht dienen und dazu beitragen, dass der experimentelle Charakter der Wissenschaft Biologie an geeigneten Stellen im Unterricht deutlich hervortritt.

AOR Dr. Franz-Josef Scharfenberg arbeitet seit Jahren am Lehrstuhl für Didaktik der Biologie an der Universität Bayreuth. Alle in der Veröffentlichung aufgenommenen Experimente wurden von ihm in Zusammenarbeit mit seinen Studentinnen und Studenten erprobt.

---

<sup>1</sup> Beschlüsse der Kultusministerkonferenz, Bildungsstandards im Fach Biologie für den Mittleren Schulabschluss, Beschluss vom 16.12.2004

### Aufbau der Veröffentlichung

Die Veröffentlichung gliedert sich in 4 Kapitel:

Kapitel 1 bietet nach Jahrgangsstufen sortiert eine Übersicht über die Experimente und zeigt die Anknüpfungspunkte an die Fachlehrpläne für Natur und Technik, Biologie und das Biologisch-chemische Praktikum. Die Experimente sind in zwei Kategorien gegliedert. **In der linken Spalte sind die Experimente aufgeführt, die nach Möglichkeit fester Bestandteil des Unterrichts sein sollen** ("Standardexperimente"). Die rechte Spalte enthält Experimente, deren Durchführung im Unterricht didaktisch wünschenswert ist, die aber als Vertiefungsmöglichkeit und nicht als Standard gedacht sind. Zudem enthält dieses Kapitel eine Übersicht zum Biologisch-chemischen Praktikum. In der Online-Fassung der Veröffentlichung sind die gelisteten Experimente direkt mit den Beschreibungen in Kapitel 3 verlinkt.

Kapitel 2 enthält allgemeine Informationen zu grundlegenden Arbeitstechniken.

In Kapitel 3 ist die Durchführung der Experimente beschrieben. Bei einigen wenigen wurde auf die Beschreibung verzichtet, da es im Internet erprobte Beschreibungen gibt. Die jeweiligen Internetadressen sind angegeben.

Kapitel 4 enthält für einige der in Abschnitt 2 beschriebenen Experimente zusätzlich kommentierte Versuchsanleitungen und Kopiervorlagen für den Unterricht.

Kapitel 5 bietet weitere Informationen zu den Sicherheitsrichtlinien und zu Schülerlaboren sowie eine Zusammenstellung von Definitionen des Begriffs Gentechnik.

München, März 2010

AOR Dr. Franz-Josef Scharfenberg

OStR Jochen Meyer

OStRin Petra Reinold

## 1 Lehrplanbezogener Überblick zu den vorgeschlagenen Experimenten

Die Auswahl der Experimente erfolgte auf der Grundlage des Lehrplans für das achtjährige Gymnasium. Im Folgenden sind die Themen des jeweiligen Jahrgangsstufenlehrplans angegeben, zu denen die vorgeschlagenen Experimente einen unmittelbaren Bezug haben.

### 1.1 Natur und Technik: Jahrgangsstufe 5

*In der Jahrgangsstufe 5 erwerben die Schüler folgendes Grundwissen:*

- Sie kennen typische Arbeitsmethoden aus den Naturwissenschaften und der Technik und können sie in einfachen Fällen anwenden.
- Sie können die Ergebnisse ihrer Tätigkeit in einfacher Form dokumentieren und präsentieren.
- Sie verfügen über praktische Erfahrungen im Umgang mit Materialien, Werkzeugen sowie Messgeräten und kennen elementare Sicherheitsregeln.

#### Arbeitsmethoden

- Beobachten, Untersuchen, Messen: z. B. Geräte wie Stoppuhr, Thermometer und Mikroskop einsetzen

#### Themenbereiche und Konzepte

##### Boden und Gestein

- Erfahrungen und Anwendungen zur Auswahl: Mineralien, Fossilien, Bodeneigenschaften, Bodenlebewesen, Erosion, Landwirtschaft, Düngung und Pflanzenwachstum, Humusbildung, Kristallbildung (Anmerkung: Die grüne Schriftfarbe kennzeichnet im Lehrplan nicht verbindliche Addita.)

##### Umwelt und Leben

- Atmung, Nährstoffe
- weitere Erfahrungen und Anwendungen zur Auswahl: Prinzip der Oberflächenvergrößerung, Lebensmittel, Umweltbelastung, Wasserqualität, Artenvielfalt, Pflanzenwachstum, Schulgarten, Aquarium, nachwachsende Rohstoffe, Wertstoffrecycling, Temperaturregulation, Lärmschutz, Müllentsorgung, Landschaftsschutz

#### Standardexperimente

#### Mögliche experimentelle Vertiefung

Herstellung von Agarplatten (s. [2.4](#))

Nachweis von Keimen in Luft, Boden, Heu-aufguss; Abklatschversuche (s. [3.1.2](#))

Celluloseabbau in der Petrischale (s. [3.1.3](#))

## 1.2 Biologie: Jahrgangsstufe 8

*In der Jahrgangsstufe 8 erwerben die Schüler folgendes Grundwissen:*

- Sie kennen die Bedeutung der Bakterien und grundlegende Unterschiede zwischen Pro- und Eucyte.
- Sie können einfache Objekte mikroskopisch untersuchen.

### B 8.1 Einfache Organisationsstufen von Lebewesen

In einem chronologischen Abriss lernen die Schüler wichtige Großgruppen der Lebewesen und ihre systematische Einordnung kennen. Dabei wird ihnen deutlich, dass der Erfolg und die ökologische Bedeutung der Bakterien auf ihrer Vermehrungsdynamik und ihrer Stoffwechselvielfalt beruhen. Ausgehend vom Vergleich von Prokaryoten mit einzelligen Eukaryoten erfahren die Schüler, dass es im Laufe der Evolution vielfach zur Entwicklung komplexerer Strukturen mit größerer Leistungsfähigkeit gekommen ist.

#### Bakterien

- Bau einer prokaryotischen Zelle: Zellwand, Membran, Organisation der genetischen Information
- Vermehrung der Bakterien durch Zweiteilung, Vermehrungsdynamik
- Ernährungsformen und Stoffwechselformen im evolutionären und ökologischen Zusammenhang: heterotroph, autotroph, anaerob, aerob

#### Die Entstehung der eukaryotischen Vielfalt

- mikroskopische Übungen: einzellige Organismen; Vergleich von Tier- und Pflanzenzelle

#### Standardexperimente

Herstellung von Agarplatten (s. [2.4](#))

Nachweis von Keimen in der Luft, Boden, Heuaufguss; Abklatschversuche (s. [3.1.2](#))

Joghurt-Herstellung (s. 3.2.4)

**A)** übliche Vorschrift

**B)** Kurzvariante

mikroskopische Übungen (s. [3.2.6](#))

#### Mögliche experimentelle Vertiefung

spezielle Nährmedien (s. [3.2.2](#))

Zahl der Bakterien in Umweltproben (z. B. Wasser, Boden): Keimzahlbestimmung durch Verdünnungsreihe (s. [3.2.5](#))

Hefen im Brotteig (s. [3.2.7](#))

alkoholische Gärung im Gärkölbchen (s. [3.2.8](#))

#### Weitere mögliche Vertiefung:

- Internet-Quelle: „Mikrobiologischer Garten“: <http://www.icbm.de/pmbio/mikrobiologischer-garten/de/index.php3>, Universität Oldenburg (online 05.03.2010).

### 1.3 Biologie: Jahrgangsstufe 9

*In der Jahrgangsstufe 9 erwerben die Schüler folgendes Grundwissen:*

- Sie haben eine Vorstellung von Bau und Bedeutung der Proteine sowie von der Realisierung der Erbinformation.
- Sie kennen die Bedeutung von DNA und Chromosomen als Träger der Erbinformation.
- Sie kennen die Bedeutung von Mitose und Meiose für Wachstum und sexuelle Fortpflanzung.
- Sie haben einen Einblick in Grundlagen der Gentechnik und die damit verbundenen Chancen und Risiken.
- Sie können Anwendungsmöglichkeiten der Biologie aufzeigen.

#### B 9.3 Grundlagen der Genetik

Ausgehend von beobachtbaren Eigenschaften gewinnen die Schüler einen Überblick über den Weg von der genetischen Information zum Merkmal. Sie lernen die DNA als Informationsträger, die Vielfalt der Proteine als Funktionsträger und modellhaft den Prozess der Proteinbiosynthese kennen. Auf zellulärer Ebene erfassen sie die Chromosomen als Verpackungseinheiten der Erbinformation, die bei Wachstumsvorgängen und sexueller Fortpflanzung jeweils unterschiedlich weitergegeben werden.

- Rolle der Proteine bei der Merkmalsausbildung, z. B. als Enzyme, Baustoffe
- DNA als Informationsträger: einfaches DNA-Modell
- Karyogramm eines Menschen: Autosomen, Gonosomen, homologe Chromosomen
- Wachstum: vereinfachter Ablauf der Mitose, biologische Bedeutung, Zellzyklus, Prinzip der Replikation

#### Standardexperimente

Enzym-Wirkungen (s. [3.3.1](#))

- Amylase
- Urease
- Katalase

Proteine als Baustoffe (s. [3.3.2](#))

Isolation von DNA (s. 3.3.3)

- [A\)](#) aus Bananen
- [B\)](#) aus Mundschleimhautzellen

#### Mögliche experimentelle Vertiefung

Eigenschaften der DNA (s. 3.3.4)

- [A\)](#) DNA als Säure
  - [B\)](#) DNA – ein Makromolekül
  - [C\)](#) Absorption im UV-Licht
- Mikroskopieren von Mitosestadien der Zwiebelwurzeln (s. [3.3.5](#))

#### Weitere mögliche Vertiefung:

- Internet-Quelle: Auswertung von Karyogrammen als interaktiver Online-Selbstlernkurs: <http://www.mallig.eduvinet.de/bio/Repetito/Karyog.html> (online 05.03.2010)

## B 9.5 Angewandte Biologie

Die Themen dieser Jahrgangsstufe bieten zahlreiche Ansatzpunkte für wissenschaftlich und gesellschaftlich relevante Anwendungsgebiete der Biologie. Die Schüler erhalten sowohl im Kontext mit den Inhalten dieser Jahrgangsstufe als auch in Form projektartiger Unterrichtsvorhaben Gelegenheit, ihr erworbenes Wissen zu vertiefen und anzuwenden. Neben dem Kapitel Grundlagen der Gentechnik kann ein weiteres Kapitel behandelt werden:

### Grundlagen der Gentechnik

- gentechnische Veränderung von Bakterienzellen: Restriktionsenzyme, Vektoren

### Seuchen und Infektionskrankheiten

- Entstehung und Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen

### Standardexperimente

### Mögliche experimentelle Vertiefung

Restriktionsanalyse (s. 3.3.6)

A) Blue Genes-System: Versuch 1

B) Elektrophorese-Kit

C) Modellversuch Gelelektrophorese

Nachweis der Antibiotika-Wirkung auf Bakterien  
(s. [3.3.7](#))

## 1.4 Biologie: Jahrgangsstufe 10

*In der Jahrgangsstufe 10 erwerben die Schüler folgendes Grundwissen:*

- Sie kennen die Bedeutung der Enzyme beim Abbau der Nährstoffe.
- Sie haben einen Einblick in die vielfältigen Wechselbeziehungen zwischen Organismen und ihrer Umwelt.
- Sie können Stoffkreisläufe und den Energiefluss in einem Ökosystem darstellen.

### B 10.1 Stoffwechsel des Menschen

Durch die Betrachtung grundlegender Vorgänge vor allem auf zellulärer und molekularer Ebene erweitern und vertiefen die Schüler ihre Kenntnisse über den Stoff- und Energieumsatz in Organismen. Sie erarbeiten sich eine erste Modellvorstellung von der Wirkungsweise der Proteine als Biokatalysatoren und des Adenosintriphosphats als eines mobilen Energieträgers für zelluläre Prozesse. Bei der Behandlung von Transportvorgängen und -mechanismen lernen sie eine weitere Funktion von Proteinen kennen. Mit dem Bau der inneren Organe setzen sie sich in diesem Zusammenhang nur insoweit auseinander, als es zum Verständnis der physiologischen Prozesse erforderlich ist.

#### Ernährung und Verdauung

- Enzyme als Biokatalysatoren mit spezifischer Wirkung

#### Standardexperimente

Enzym-Wirkungen (s. [3.3.1](#))

- Amylase
- Urease
- Katalase

#### Mögliche experimentelle Vertiefung

### B 10.3 Grundlegende Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen (ca. 26 Std.)

Die Schüler begreifen Ökosysteme als Beziehungsgefüge von Biotop und Biozönose, deren Zusammensetzung als Ergebnis evolutionärer Prozesse, aber auch menschlicher Eingriffe zu verstehen ist. Ihnen wird deutlich, dass alle Organismen von abiotischen und biotischen Faktoren beeinflusst werden und in einen durch die Energie des Sonnenlichts angetriebenen Stoffkreislauf eingebunden sind. Die Jugendlichen sollen die mit menschlichen Eingriffen verbundenen Probleme und Gefahren für Ökosysteme erkennen und die Bereitschaft entwickeln, durch bewusstes Handeln zur Erhaltung der Natur beizutragen.

Versuche und Freilandbeobachtungen erleichtern es den Schülern, theoretisch erarbeitete Kenntnisse und Modellvorstellungen auf ein typisches Ökosystem ihrer Heimat anzuwenden.

#### Beziehungen zwischen Lebewesen

- Symbiose: Formen und Anpassungen, z. B. Blütenpflanzen und Blütenbestäuber, Korallen, Mykorrhiza, Flechten
- Saprophytismus: Bakterien und Pilze

#### Aufbau und Merkmale eines Ökosystems der gemäßigten Breiten an einem konkreten Beispiel

- Stoffkreislauf: Produzenten, Konsumenten, Destruenten

#### Standardexperimente

spezielle Reaktionen von Bakterien und Pilzen: Celluloseabbau (s. [3.4.2](#))

#### Mögliche experimentelle Vertiefung

Nachweis des Exoenzyms Amylase (s. [3.4.3](#))

## B 10.4 Angewandte Biologie

Aus einem der drei Themenbereiche Biotechnologie, Landwirtschaft und Medizin lernen die Schüler je ein Beispiel für Anwendungen der Biologie kennen. Die Inhalte können in Form projektartiger Unterrichtsvorhaben, aber auch im Zusammenhang mit den entsprechenden Themen dieser Jahrgangsstufe behandelt werden.

### Biotechnologie

- Herstellung von Lebensmitteln: z. B. Designer-Food, Bedeutung von Mikroorganismen
- Konservierungsmethoden: z. B. Trocknung durch osmotischen Wasserentzug, Pasteurisieren
- Abwasserklärung

#### Standardexperimente

Joghurt-Herstellung (s. [3.2.4](#))

Hefen im Brotteig (s. [3.2.7](#))

Hemmung des Bakterienwachstums: Konservierungsmethoden (s. 3.4.6)

[A](#)) Trocknen

[B](#)) Zuckern

antibakterielle Wirkung im Alltag (s. [3.4.7](#))

#### Mögliche experimentelle Vertiefung

Hemmung des Bakterienwachstums: Konservierungsmethoden (s. 3.4.6)

[C](#)) Erhitzen

[D](#)) Konservierungsstoffe

Waschmittel-Enzyme (s. 3.4.8)

[A](#)) Amylase, Protease, Lipase

[B](#)) Cellulase

Vergleich von Lab-Ferment und Chymosin (s. [3.4.9](#))

Riboflavin im Puddingpulver (s. [3.4.10](#))

## 1.5 Biologie: Jahrgangsstufe 11

### B 11.1 Strukturelle und energetische Grundlagen des Lebens

Die Schüler festigen und vertiefen ihr Verständnis von der Zelle als grundlegender Bau- und Funktionseinheit aller Lebewesen. Bei der Auseinandersetzung mit elektronenoptisch erkennbaren Zellbestandteilen erkennen sie Zusammenhänge zwischen Struktur und Funktion. Für eine Betrachtung auch auf molekularer Ebene greifen die Schüler auf ihre Kenntnisse über wichtige Biomoleküle zurück [→ C<sub>NTG</sub> 10.3, C<sub>SG</sub> 10.4]. Anhand von Experimentalbefunden wird eine zunehmend differenzierte Vorstellung vom Ablauf der Photosynthese entwickelt. Dabei erfassen die Schüler, auf welche Weise Lichtenergie in chemischen Verbindungen gespeichert wird und lernen die Bedeutung organischer Kohlenstoffverbindungen als Energieträger in Natur und Technik kennen. Die hierbei gewonnenen Erkenntnisse bilden auch die Basis für eine zusammenfassende Betrachtung der Atmungs- und Gärungsprozesse.

Durch die Betrachtung der molekularen Struktur von Enzymen sowie die Untersuchung der Abhängigkeit der Enzymaktivität von Außenfaktoren und von Regulationsprozessen gewinnen die Schüler einen Einblick in den Ablauf und die Steuerung biochemischer Reaktionen.

#### Organisation und Funktion der Zelle

- Biomoleküle und deren Bedeutung
- Bedeutung und Regulation enzymatischer Prozesse: experimentelle Untersuchung des Einflusses von Substratkonzentration, Temperatur, kompetitiver und allosterischer Hemmung

#### Energiefreisetzung durch Stoffabbau

- alkoholische Gärung und Milchsäuregärung: Glykolyse (nur Bruttogleichung), Bedeutung

#### Standardexperimente

Enzym-Wirkungen (s. [3.3.1](#))  
 experimentelle Untersuchung des Einflusses von Substratkonzentration, Temperatur und/oder Hemmstoffen (s. [3.5.2](#))

#### Mögliche experimentelle Vertiefung

alkoholische Gärung im Gärkölbchen (s. [3.2.8](#))  
 Gäransätze mit Fruchtsäften (s. [3.5.4](#))  
 Hefen im Brotteig (s. [3.2.7](#))  
 Joghurt-Herstellung (s. [3.2.4](#))

### B 11.2 Genetik und Gentechnik

Die Schüler lernen die molekularen Grundlagen der Speicherung, Vermehrung, Realisierung und Veränderung der Erbinformation kennen. Das Wissen um die Bedeutung molekularer und zytogenetischer Vorgänge für die Variabilität von Phänotypen ermöglicht eine Verknüpfung mit der Evolutionstheorie. Es wird aber auch genutzt, um Gesetzmäßigkeiten der klassischen Genetik statistisch, z. B. mithilfe von Simulationen, zu erklären. So sind die Schüler schließlich in der Lage, ihre Kenntnisse auf ausgewählte Erbgänge des Menschen und auf Fragen der genetischen Familienberatung anzuwenden. Auf diesen Grundlagen der Molekulargenetik aufbauend, haben die Schüler die Möglichkeit, elementare Methoden der Gentechnik zu verstehen und Anwendungsbeispiele oder Zukunftsaspekte unter Einbeziehung aktueller Entwicklungen und Wertvorstellungen zu reflektieren.

## Molekulargenetik

- DNA als Speicher der genetischen Information; Vergleich mit einem entsprechenden RNA-Modell
- Realisierung der genetischen Information (Proteinbiosynthese) bei Prokaryoten: genetischer Code, Transkription und deren Regulation, Translation

### Standardexperimente

Isolation von DNA (s. 3.3.3)

[A\)](#) aus Bananen

[B\)](#) aus Mundschleimhautzellen

Eigenschaften der DNA (s. 3.3.4)

[A\)](#) DNA als Säure

[B\)](#) DNA – ein Makromolekül

[C\)](#) Absorption im UV-Licht

### Mögliche experimentelle Vertiefung

Abbau von DNA durch DNase (s. [3.5.8](#))

Hydrolyse von DNA und RNA, Nachweis der unterschiedlichen Zuckerbausteine (s. [3.5.10](#))

Regulation des Lactose-Abbaus bei E. coli (s. [3.5.11](#))

## Gentechnik

- Neukombination von Erbanlagen mit molekulargenetischen Techniken: Einbringen von Fremd-DNA in Wirtszellen (Viren und Plasmide als Vektoren), Selektion transgener Zellen durch Markergene, Klonierung
- bedeutsame Methoden der Gentechnik: Gensonden, cDNA, PCR
- Anwendung der Gentechnik: genetischer Fingerabdruck, Beispiele aus Tier- und Pflanzenzucht, Lebensmittel- und Medikamentenherstellung, Gendiagnostik und Gentherapie beim Menschen

### Standardexperimente

### Mögliche experimentelle Vertiefung

Transformation mit pUCDlacZ+ (Teilversuch aus dem Blue Genes-System) (s. [3.5.12](#))

Selbstklonierung

(Versuch 2 aus dem Blue Genes-System)

(s. [3.5.13](#))

Genübertragung durch Agrobakterium

(s. [3.5.14](#))

Isolierung von Alginaten und Immobilisierung von  $\beta$ -Galactosidase (s. [3.5.15](#))

Nutzung von Enzymen:  $\beta$ -Galactosidase

(s. [3.5.16](#))

mikrobielle Brennstoffzelle (s. [3.5.17](#))

Restriktionsanalyse (s. [3.3.6](#))

### Weitere mögliche Vertiefung:

Die Durchführung einer PCR ist als Schulexperiment prinzipiell möglich. Bedingt durch den großen Aufwand und die Kosten ist sie aber nicht unbedingt empfehlenswert. Stattdessen bietet es sich z. B. an, mit der Klasse/dem Kurs ein Schülerlabor zu besuchen. Trotzdem sind im Folgenden einige Vorschläge gelistet, die dem Autor bekannt sind. Die Liste erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

- EYDAM PCR-Kit auf der Basis von Lambda-DNA (Fa. EYDAM, Eichkoppelweg 101, 24119 Kronshagen)

- Heinze R. (o. J.): PCR auf Basis des Blue Genes-Systems (<http://www.schule-bw.de/unterricht/faecher/biologie/material/zelle/dna3/index.html> und <http://www.schule-bw.de/unterricht/faecher/biologie/material/zelle/poly/index.html> , beide online 05.03.2010)
- Heinze, Rudolf; Müller, Markus: Die PCR als "einfaches" Schulexperiment. In: Der mathematische und naturwissenschaftliche Unterricht, 62 (2009) 2, S. 98-102
- Simulation einer DNA-Profilanalyse (Hammelev, D. et al. (1998): EIBE 1998 Unit 2, <http://www.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT02DE.PDF>, online 05.03.2010)
- Bioteach Experimentier-Kit des Zentrum für Molekulare Biologie der Universität Heidelberg (ZMBH): PCR mit Leihgerät, genetisches System nicht genannt ([http://www.schule-bw.de/unterricht/faecher/biologie/material/zelle/lutz/PCR\\_Script.pdf](http://www.schule-bw.de/unterricht/faecher/biologie/material/zelle/lutz/PCR_Script.pdf), online 05.03.2010)
- Lippert (1999) PCR in der Schule mit dem Clusterin-Gen und den Primern C22 und KB3 mit einem selbst gebauten Thermocycler (<http://www.erm.tu-cottbus.de/~lippein/horizon/science/contents/projects/jufo/pcr-arbeit.htm>, online 05.03.2010)

## 1.6 W- und P-Seminare

Die vorgeschlagenen Experimente können auch in entsprechend thematisch orientierten Seminaren durchgeführt werden. In Seminaren mit Leitfach Biologie kann mehr noch als im Fachunterricht der Erwerb von praktischen Arbeitstechniken ermöglicht werden. Gerade für das wissenschaftsorientierte Arbeiten im W-Seminar kann diese Veröffentlichung als Orientierung für die Auswahl von Experimenten dienen:

Die Standardexperimente können im Rahmen des W-Seminars im Kurshalbjahr 11/1 bei der Einführung und Vermittlung von Grundlagen in den Unterricht integriert werden, sofern die Schülerinnen und Schüler nicht schon aus dem vorangegangenen Fachunterricht mit diesen vertraut sind. Manche der weiterführenden Experimente können aber auch als Anregung für das konkrete Arbeiten der Schülerinnen und Schüler im Rahmen der Seminararbeit dienen.

## 1.7 Biologisch-chemisches Praktikum: Jahrgangsstufe 11/12

Das Biologisch-chemische Praktikum bietet Schülerinnen und Schülern die Möglichkeit, sich handlungsorientiert und vertieft mit Denk- und Arbeitsweisen der Biologie und der Chemie zu beschäftigen. Dieser zweistündige Kurs kann in der Qualifikationsphase der Oberstufe über ein Jahr im Rahmen des Profilsbereichs belegt werden.

Sofern die Schülerinnen und Schüler mit den in dieser Veröffentlichung vorgeschlagenen Experimenten nicht bereits aus dem Fachunterricht der Unter- und Mittelstufe vertraut sind, eignen sich die Experimente auch für dieses Praktikum. Gerade für die (zeit-)aufwändigeren Experimente kann das BcP der geeignete Rahmen sein. Die folgende Übersicht stellt einen Vorschlag dar, wie die in dieser Veröffentlichung vorgeschlagenen Experimente verschiedenen Arbeitsmethoden und Themenbereichen des BcP-Lehrplans zugeordnet werden können.

### BcP 11.1 Arbeitsmethoden der Chemie und Biologie

#### Verfahren zur Isolierung von Stoffen

- Elektrophorese
- Restriktionsanalyse: [C](#)) Modellversuch Gelelektrophorese (s. 3.3.6)

#### Analyseverfahren

- Herstellen von Maßlösungen und Verdünnungsreihen
- Zahl der Bakterien in Umweltproben (z. B. Wasser, Boden): Keimzahlbestimmung durch Verdünnungsreihe (s. [3.2.5](#))

#### Mikroskopieren

- Untersuchung von Zellen und Geweben: z. B. Bewegung bei Einzellern
- Nachweis von Keimen im Heuaufguss (s. [3.1.2](#))
- mikroskopische Übungen (s. [3.2.6](#))

#### Physiologische Untersuchungen

- stoffwechselphysiologische Untersuchungen: z. B. Enzymwirkung
- Enzym-Wirkungen (s. [3.3.1](#))
  - Amylase aus dem Speichel
  - Urease
  - Katalase (z. B. aus Hefe, frischer Kartoffel, Schweineblut)
- Nachweis des Exoenzyms Amylase (s. [3.4.3](#))
- Abbau von DNA durch DNase (s. [3.5.8](#))

### BcP 11.2 Themenbereich

#### Wasser

- Wasserhygiene (mikrobiologische Untersuchungen)
- Lebewesen im Gewässer
- Zahl der Bakterien in Umweltproben (z. B. Wasser, Boden): Keimzahlbestimmung durch Verdünnungsreihe (s. [3.2.5](#))
- Nachweis von Keimen im Heuaufguss (s. [3.1.2](#))

#### Chemie im Haus

- Putz- und Waschmittel: Bestandteile, Eigenschaften

- Lebensmittel: z. B. Nachweise für Nährstoffe, Aromastoffe, Farbstoffe, Konservierungsstoffe, Vitamine
- Waschmittel-Enzyme (s. 3.4.8)
  - [A\)](#) Amylase, Protease, Lipase
  - [B\)](#) Cellulase
- Riboflavin im Puddingpulver (s. [3.4.10](#))
- Hemmung des Bakterienwachstums: Konservierungsmethoden (s. 3.4.6)
  - [A\)](#) Trocknen
  - [B\)](#) Zuckern
  - [C\)](#) Erhitzen
  - [D\)](#) Konservierungsstoffe
- Isolierung von Alginaten und Immobilisierung von  $\beta$ -Galactosidase (s. [3.5.15](#))
- Nutzung von Enzymen:  $\beta$ -Galactosidase (s. [3.5.16](#))

### Pharmazie und Biomedizin

- physiologische Untersuchungen: z. B. Regulation, Sinnesphysiologie, Enzymreaktionen
- Regulation des Lactose-Abbaus bei E. coli (s. [3.5.11](#))
- Hefen im Brotteig (s. [3.2.7](#))
- Enzym-Wirkungen (s. [3.3.1](#))
  - Amylase aus dem Speichel
  - Urease
  - Katalase (z. B. aus Hefe, frischer Kartoffel, Schweineblut)

### Biotechnologie, Gentechnik

- Nukleinsäuren: Isolierung, Nachweise
- Versuche zur Gentechnik, ggf. Laborbesuch
- biotechnologisches Verfahren: z. B. alkoholische Gärung, Zitronensäureherstellung
- Isolation von DNA (s. 3.3.3)
  - [A\)](#) aus Bananen
  - [B\)](#) aus Mundschleimhautzellen
- Eigenschaften der DNA (s. 3.3.4)
  - [A\)](#) DNA als Säure
  - [B\)](#) DNA – ein Makromolekül
  - [C\)](#) Absorption im UV-Licht
- Hydrolyse von DNA und RNA, Nachweis der unterschiedlichen Zuckerbausteine (s. [3.5.10](#))
- Restriktionsanalyse (s. 3.3.6)
  - [A\)](#) Blue Genes-System (Versuch 1)
  - [B\)](#) Elektrophorese-Kit
  - [C\)](#) Modellversuch Gelelektrophorese
- Transformation mit pUCDlacZ+ (Teilversuch aus dem Blue Genes-System) (s. [3.5.12](#))
- Selbstklonierung (Versuch 2 aus dem Blue Genes System) (s. [3.5.13](#))
- Joghurt-Herstellung (s. 3.2.4)
  - [A\)](#) übliche Vorschrift
  - [B\)](#) Kurzvariante
- Genübertragung durch Agrobakterium (s. [3.5.14](#))
- alkoholische Gärung im Gärkölbchen (s. [3.2.8](#))
- Gäransätze mit Fruchtsäften (s. [3.5.4](#))

## 2 Arbeitstechniken

### 2.1 Richtlinien zur Sicherheit im Unterricht

Bei allen Arbeiten sind stets die Richtlinien zur Sicherheit im Unterricht in ihrer jeweils gültigen Fassung zu beachten. Die Lehrkraft trägt dafür Sorge, dass die entsprechenden Vorschriften in ihrer aktuellen Version eingehalten werden.

Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieser Handreichung (März 2010) regeln folgende Veröffentlichungen die in der Handreichung beschriebenen Tätigkeiten:

- GUV-SI 8070: Richtlinien zur Sicherheit im Unterricht, Empfehlungen der Kultusministerkonferenz, Ausgabe März 2003  
([http://regelwerk.unfallkassen.de/regelwerk/data/regelwerk/s\\_inform/SI\\_8070.pdf](http://regelwerk.unfallkassen.de/regelwerk/data/regelwerk/s_inform/SI_8070.pdf), online 05.03.2010)
- GUV-SR 2006: Regeln für Sicherheit und Gesundheitsschutz bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen im Unterricht, Ausgabe Juni 2008  
([http://www.guvv-bayern.de/Internet\\_I-Frame/Files/PDF/GBI/GUV-SR\\_2006.pdf](http://www.guvv-bayern.de/Internet_I-Frame/Files/PDF/GBI/GUV-SR_2006.pdf), online 05.03.2010)

Bevor ein Experiment dieser Handreichung an der Schule durchgeführt werden kann, sind besonders die Regelungen der GUV-SR 2006 durchzusehen. Entsprechend der konkreten Situation vor Ort müssen dann die beschriebenen Maßnahmen zur Sicherheit getroffen werden. In den GUV-SR 2006 sind die Maßnahmen sehr gut verständlich dargestellt. Sie wurden mit dem Ziel herausgegeben, den Schulen Empfehlungen an die Hand zu geben, die der Schulleitung und den Lehrkräften sowie dem Sachaufwandsträger eine bedarfs- und praxisgerechte Umsetzung der Biostoffverordnung, des Gentechnikgesetzes und der Gentechnik-Sicherheitsverordnung unter besonderer Berücksichtigung schulischer Belange ermöglichen. Sie enthält viele praktische Beispiele, darunter einige Experimente dieser Handreichung, die den Ablauf einer Gefährdungsbeurteilung verständlich machen.

Besonders sind folgende Maßnahmen zu beachten:

#### Inkubation

- Bei der Arbeit mit unbekanntem Mischkulturen sind während der Inkubation die Petrischalen noch nicht luftdicht zu verschließen, da es sonst zur Anreicherung anaerober Mikroorganismen kommen kann.
- Wenn möglich bei Zimmertemperatur, aber nicht über 30 °C bebrüten, um die Wahrscheinlichkeit der Anzucht humanpathogener Keime gering zu halten.

#### Umgang mit angezüchteten Kulturen

- Bei Anreicherung unbekannter Mischkulturen (z. B. Abklatschversuche, Bodenproben) ist eine offene Handhabung nach der Inkubation durch Abkleben mittels Klebeband zu vermeiden.

### 2.2 Allgemeines

Die Unterrichtsmaterialien „*Mikroorganismen und Moleküle. Einheit 1, European Initiative for Biotechnology Education.*“ (Lucius, E. R. et al (1998)) enthalten sehr gute, bebilderte Anleitungen, die auch allgemeine Arbeitstechniken der Mikrobiologie und Genetik, z. B. Anzucht von Kulturen, Ausstreichen auf Agarplatten, beschreiben.

Es gibt einige Missgeschicke, die beim Erlernen mikrobiologischer Arbeitstechniken immer wieder auftreten und die Ergebnisse von bis dahin mühevollen und oft zeitaufwändigen Arbeitsgängen zunichte machen. Entsprechend sollte durch die Lehrkraft im Vorfeld auf Folgendes hingewiesen werden:

- Petrischalen werden auf dem Boden beschriftet, da die Deckel leicht vertauscht werden können und die Ansätze dann falsch beschriftet sind.
- Agarplatten sollten mit dem Deckel nach unten bebrütet werden, um die Entstehung von Kondenswasser zu verhindern.
- Lebende Kulturen nicht mit heißen Geräten (frisch ausgeglühte Impföse!) berühren, da die Organismen sonst abgetötet werden. Die Geräte vorher abkühlen lassen. Die Impföse kann z. B. zuerst auf einer Stelle des Agars aufgesetzt werden, an der keine Kolonie wächst.

### **2.3 Grundsätze des aseptischen Arbeitens<sup>2</sup>**

Mikroorganismen sind in der Umwelt nahezu allgegenwärtig. Zum Schutz von Kulturen, sterilen Lösungen und sterilen Geräten vor Infektionen mit unerwünschten Fremdkeimen muss man einige Regeln beachten.

#### Grundregeln

- Fenster und Türen geschlossen halten (Belüftungsanlagen evt. abschalten).
- Rasche Bewegungen vermeiden, um keine Keime aufzuwirbeln.
- Arbeitsplatz und Umgebung (Tischflächen, Ablageböden, Bodenflächen) häufig mit Desinfektionslösung abwischen.
- Sprechen, Husten und Niesen vermeiden, da dabei winzige Tröpfchen mit Mikroorganismen übertragen werden können.
- Ränder von Glasgefäßen, auch wenn sie mit einer übergreifenden Kappe geschützt waren, vor und nach der Entnahme von Material in der gerade entleuchteten Bunsenbrennerflamme abflammen. Besonders ist das erforderlich, wenn Watte oder Zellstoffstopfen als Verschlüsse verwendet werden, weil dann der Gefäßrand ungeschützt der Außenwelt ausgesetzt ist. Außerdem können kleine Teilchen dieser Verschlüsse am Gefäßrand haften und während der Handhabung in das Innere gelangen. Durch das Abflammen werden diese Teilchen beseitigt. Zudem werden lose an der Außenseite der Gefäßöffnung anhaftende Keime abgetötet, wodurch verhindert wird, dass lebende Mikroorganismen in das Gefäß gelangen.
- Gefäße nur so lange öffnen, wie es unbedingt erforderlich ist, und dabei möglichst schräg halten.
- Sterile Stopfen nur am oberen, aus dem Gerät ragenden Teil anfassen, während des Arbeitens zwischen dem kleinen Finger und Handballen halten, wobei darauf zu achten ist, dass man nirgends mit dem sterilen Teil des Stopfens anstößt. Niemals sterile Stopfen, die noch weiter verwendet werden sollen, auf die Arbeitsfläche ablegen, auch wenn man diese desinfiziert hat. Sinngemäß gilt das gleiche auch für andere sterile Geräte, wie z. B. Pipetten und Drigalski-Spatel.

---

<sup>2</sup> veränd. nach Näveke, R. u. Trepper, K.-P. (1979): *Einführung in die mikrobiologischen Arbeitsmethoden*, Stuttgart – New York, S. 4-5 / S. 9

### Hinweise zur Sterilisation von Kulturmedien im Autoklav (in der Schule meist Dampfdrucktopf)

- Gefäße maximal zur Hälfte füllen, möglichst weniger. Je voller die Gefäße sind, desto leichter läuft das Medium beim Druckabsenken über.
- Medium mit festem, fadenförmigem Agar vor dem Sterilisieren evtl. aufkochen, um eine gleichmäßige Verteilung des Agars zu erreichen. Anderenfalls besteht die Möglichkeit, dass auf dem Boden der Gefäße durch den dort angesammelten Agar die Viskosität des Mediums so hoch ist, dass Konvektionsströmungen und damit eine gleichmäßige Wärmeverteilung verhindert werden. In diesem Bereich würde das Medium dann nicht ausreichend erhitzt und damit nicht sterilisiert.
- Verschlüsse von Kulturmediumflaschen lose auflegen, um ein Verdrängen der Luft durch Wasserdampf zu ermöglichen und ein Platzen der Flaschen beim Erhitzen oder Abkühlen zu verhindern. Wird Sterilisationsgut in mehreren Ebenen eingebracht, Watte- und Zellstoffstopfen der unteren Ebene durch Abdecken mit Aluminiumfolie vor herabtropfendem Kondenswasser schützen.
- Beschriftung des Sterilisationsgutes in „autoklavenfester“ Form vornehmen, z. B. durch an den Gefäßen angebrachte Papierzettel (viele „wasserfeste“ Tuschen von Faser- und Filzschreibern sind nicht „autoklavenfest“!).
- Um sicherzustellen, dass auch das Innere des Sterilisationsgutes während der gesamten Sterilisationszeit eine Temperatur von 121 °C erreicht, muss der eigentlichen Sterilisationszeit (15 min bei 121 °C, 1,00 bar) eine Aufheizzeit hinzu gerechnet werden.
- Eine Übersicht über die Aufheizzeiten gibt folgende Tabelle:

Einzelvolumina	Aufheizzeit von etwa
bis 50 ml	5 min
50 bis 100 ml	8 min
100 bis 500 ml	12 min
500 bis 1000 ml	20 min

- Möglichst nur Volumina gleicher Größenordnung in den Autoklaven einbringen. Die Dauer des Erhitzens richtet sich nach dem jeweils größten Volumen, weil die eigentliche Sterilisationszeit erst an dem Zeitpunkt beginnt, an dem alle Teile in dieser Portion die angegebene Temperatur erreicht haben. Dadurch werden kleinere Volumina einer unnötigen Hitzebelastung ausgesetzt.
- Nach Ablauf der Sterilisationszeit Druck langsam ablassen (Dampfdrucktopf erst bei abgesenktem Druck öffnen) und für ausreichende Abkühlung der Flüssigkeit sorgen, sonst beginnt sie zu sieden, wobei die Verschlüsse nass oder gar vom Gefäß geschleudert werden, besonders durch plötzlich einsetzendes Sieden beim Siedeverzug.

### Sterilisation von Pipetten, leeren Gefäßen u. ä. im Autoklav

Pipetten, leere Gefäße, Tücher etc. werden wie Kulturmedien (15 min, 121 °C, 1,00 bar) sterilisiert. Nach der Sterilisation kann der Dampf schnell abgelassen werden, weil keine Flüssigkeiten herauskochen können. Bei großen oder kompliziert verschmolzenen Glasgefäßen muss jedoch langsam abgekühlt werden, um ein Springen zu vermeiden.

Es empfiehlt sich, die Restfeuchtigkeit durch eine Nachtrocknung zu entfernen. Dies kann auf zweierlei Weisen geschehen:

- (1) In trockener Heißluft bis etwa 100 °C (z. B. Sterilisationsschrank).
- (2) Einige Autoklaven besitzen eine Einrichtung, mit der nach der Sterilisation im Sterilisationsraum ein Vakuum erzeugt werden kann. Darin werden die Feuchtigkeitsreste durch Verdampfen entfernt.

Eine Alternative stellt die trockene Sterilisation im Heizschrank, 3 Stunden bei 135 °C dar.

### Entsorgung gebrauchter Kulturen

Es ist selbstverständlich, dass alle Kulturen vor dem Wegwerfen sterilisiert werden (Autoklav bei 121°C mindestens 20 Minuten, Dampfdrucktopf bei 116°C mindestens 30 Minuten). Plattenkulturen werden im autoklavierbaren Abfallbeutel gesammelt und darin sterilisiert. Flüssigkulturen werden lose verschlossen und dann sterilisiert.

## **2.4 Herstellung von Agarplatten**

### allgemeiner Bakteriennährboden: Standard-I-Agar (Merck 7881, DSMZ-Medium Nr. 453)<sup>3</sup>

37 g Standard-I-Agar werden in 1 l dest. Wasser im Erlenmeyerkolben (Kulturflasche) vermischt. Mit Alufolie sorgfältig verschließen und unter Erwärmen auf dem Magnetrührer solange rühren, bis der Agar vollständig gelöst ist. Die Sterilisation erfolgt im Autoklav 15 Minuten bei ca. 121 °C oder in einem Schnellkochtopf 30 Minuten bei höchster Stufe.

### Nährboden für Milchsäure-Bakterien

Nährboden wie vorher beschrieben herstellen, zusätzlich 5 g Milchzucker pro 100 ml Standard-I-Agar zugeben und so viel Calciumcarbonat unter ständigem Rühren zugeben, dass die Nährlösung milchig trüb ist. Anschließend den Ansatz autoklavieren.

### Plattengießen

Die sterilen Nährbodenlösungen bei Zimmertemperatur (oder im Wärmeschrank) auf ca. 50 °C abkühlen. Beim Gießen der Nährböden ist steriles und sauberes Arbeiten Voraussetzung. Dabei sind folgende Arbeitsschritte einzuhalten:

- Die Arbeitsfläche mit Alkohol sterilisieren.
- Den Rand des geöffneten Erlenmeyerkolbens kurz über dem Bunsenbrenner abflammen.
- Die Nährbodenlösung nun zügig in die nur leicht geöffneten Petrischalen gießen.
- Die Petrischalen sofort schließen und
- bis zum Erstarren des Agars stehen lassen.

---

<sup>3</sup> [http://www.dsmz.de/microorganisms/medium/pdf/DSMZ\\_Medium453.pdf](http://www.dsmz.de/microorganisms/medium/pdf/DSMZ_Medium453.pdf) (online 05.03.2010):

Es ist das Produkt angegeben, mit dem die Experimente durchgeführt wurden. Die Verwendung von Alternativ-Produkten ist denkbar, aber nicht erprobt.

### 3 Anleitungen zu den Experimenten

#### 3.1 Jahrgangsstufe 5

##### 3.1.1 Herstellung von Agarplatten (auch Jgst. 8, s. 2.4)

##### 3.1.2 Nachweis von Keimen in der Luft, im Boden, im Heuaufguss; Abklatschversuche (auch Jgst. 8)

- Luftbakterien: Standard-I-Nähragarplatten einige Zeit (0,5 bis 2 Stunden, evtl. über Nacht) der Luft aussetzen und 1 Woche bei Zimmertemperatur (alternativ 2 bis 3 Tage bei 25-30 °C im Brutschrank) stehen lassen.
- Bodenbakterien: Ca. 1 g Boden in ca. 100 ml dest. Wasser aufschlännen. 20 ml der Suspension in ein zweites Becherglas (100 ml) filtrieren. 5 Tropfen des Filtrats werden mit einer Pipette auf die Standard-I-Nähragarplatte getropft. Die aufgetropfte Flüssigkeit mit dem abgeflamten Drigalski-Spatel auf dem Nährboden gut verteilen. Die Petrischale wird zwei bis drei Tage bei 25-30 °C im Brutschrank bebrütet oder 1 Woche bei Zimmertemperatur stehen gelassen.



Abb. 1: Wachstum von Bodenbakterien

- Heuaufguss: Eine handvoll Gras oder Heu in ein Glas geben und mit Leitungswasser auffüllen. Das abgedeckte Glas bei Zimmertemperatur stehen lassen. Nach ca. 1 Woche bilden sich auf der Oberfläche eine bakterienhaltige Kahmhaut und in der Folgezeit Sukzessionsstadien mit verschiedenen Einzellern. Mit einer Impföse eine kleine Menge der Kahmhaut abheben und auf einer Standard-I-Nähragarplatten ausstreichen. Die Petrischale wird 2 bis 3 Tage bei 25-30 °C im Brutschrank bebrütet oder 1 Woche bei Zimmertemperatur stehen gelassen.
- Handabdruck: Ungewaschene Finger, gut gewaschene Finger (Waschbedingungen z. B. Seifenstück oder Seifenspender, Stoff- oder Papierhandtuch) und desinfizierte Finger (Hände-Desinfektionsmittel nach Gebrauchsanleitung, Brennspiritus oder 70%iger Isopropanol) auf je einen sterilen Nährboden leicht aufdrücken und abrollen. Feststellen der Keimzahlen nach 1 Woche bei Zimmertemperatur (alternativ 2 bis 3 Tage bei 25-30°C im Brutschrank).
- weitere Abklatschversuche: Tafellappen oder -schwamm, Handtuch etc.
- Zahnbelag: Etwas Zahnbelag mit einem Zahnstocher abkratzen und auf einem Objektträger mit einem Tropfen dest. Wasser vermischen. Dieses Material mit einer Impföse auf die Platten mit Standard-I-Nährboden ausstreichen. Die Petrischale wird 2 bis 3 Tage bei 25-30 °C im Brutschrank bebrütet oder 1 Woche bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

##### 3.1.3 Celluloseabbau in der Petrischale (auch Jgst. 10)

- Verschiedene Bodenarten in Petrischalen füllen, mit dest. Wasser stark anfeuchten und glattrandige Cellulosestreifen (z. B. Filterpapier) gut darauf festdrücken. Die Proben in eine feuchte Kammer stellen (z. B. große Petrischale mit wenig Wasser) und bei Zimmertemperatur 3-4 Wochen stehen lassen. Die Proben dürfen nicht austrocknen.
- Ziel: Vergleich des Celluloseabbaus in Abhängigkeit von der Bodenart

- Erweiterung: andere Ausgangsstoffe, z. B. Kunststoffe (abbaubar oder nicht).
- Alternative Variante: Diarähmchen-Versuche (Storrer & Rohrmann (2001))

## 3.2 Jahrgangsstufe 8

### 3.2.1 Herstellung von Agarplatten (auch Jgst. 5, s. 2.4)

#### 3.2.2 Spezielle Nährmedien

- Chinablau-Lactose-Agar (Merck 2348)<sup>4</sup> für Milchsäurebakterien: 35,5 g Chinablau-Lactose-Nähragar werden in 1 l dest. Wasser gegeben und unter Erwärmen auf dem Magnetrührer bis zum völligen Auflösen gerührt. Die Sterilisation erfolgt im Autoklav (15 min bei 121 °C).
- Sabouraud-Maltose-4%-Agar für Pilze: 65 g Sabouraud-Maltose-Agar werden in 1 l dest. Wasser im Erlenmeyerkolben unter Erwärmen auf dem Magnetrührer bis zum völligen Auflösen gemischt. Die Sterilisation erfolgt im Autoklav (15 min bei 121 °C).

### 3.2.3 Nachweis von Keimen in der Luft, im Boden, im Heuaufguss; Abklatschversuche (auch Jgst. 5, s. 3.1.2,)

#### 3.2.4 Joghurt-Herstellung (auch Jgst. 10 und 11)

##### A) Übliche Vorschrift (veränd. nach Bayrhuber & Lucius (1992, S. 124 ff))

Materialien: Brutschrank, Magnetrührer mit Heizplatte, Rührfisch, Teelöffel, Becherglas (250 ml, alternativ Kochtopf), Thermometer, Alufolie

Chemikalien: Vollmilch, Joghurt mit lebenden Kulturen

Durchführung:

- 100 ml Milch werden im Becherglas auf der Heizplatte unter Rühren auf 72 °C erhitzt.
- Unter Rühren lässt man die Milch auf 45 °C abkühlen, gibt dann einen Teelöffel Joghurt zu und verrührt gut.
- Das Becherglas wird mit Alufolie verschlossen und für 3 Stunden bei 42 °C inkubiert.

##### B) Kurzvariante (veränd. nach Scherr & Werel (2005, S. 414))

Materialien: Reagenzgläser, Stopfen, Reagenzglasständer, Spatel, Bechergläser (50 ml), Filterpapier

Chemikalien: Methylenblau-Lsg. (1 %), H-Milch, Joghurt mit lebenden Kulturen

Durchführung:

- Es werden zwei Reagenzgläser mit jeweils 15 ml Milch gefüllt.
- In beide Reagenzgläser werden je 20 Tropfen Methylenblau-Lsg. gegeben, die Reagenzgläser werden mit einem Stopfen verschlossen und kräftig geschüttelt.
- In ein Reagenzglas wird zusätzlich ein Spatel Joghurt eingefüllt, das Reagenzglas wird verschlossen und erneut kräftig geschüttelt.
- Beide Reagenzgläser werden über Nacht bei 30 °C inkubiert.

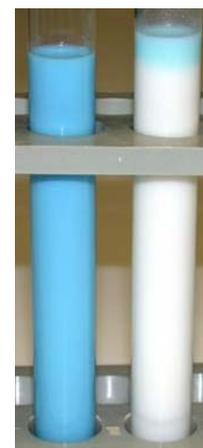


Abb. 2: Joghurtherstellung im Reagenzglas (li.: Kontrolle, re.: Joghurt)

<sup>4</sup> Es ist das Produkt angegeben, mit dem die Experimente durchgeführt wurden. Die Verwendung von Alternativ-Produkten ist denkbar, aber nicht erprobt.

- Anschließend werden die Reagenzgläser geöffnet und der Inhalt vorsichtig in jeweils ein Becherglas gegossen.
- Ein kleiner Teil des gebildeten Joghurts wird auf ein Filterpapier getropft und zum Vergleich etwas Milch daneben getropft.

### 3.2.5 Zahl der Bakterien in Umweltproben (z. B. Wasser, Boden)

**Keimzahlbestimmung durch Verdünnungsreihe** (veränd. nach Bayrhuber & Lucius (1992, S. 90))

Geräte: Becherglas, Brenner, Drigalski-Spatel, Erlenmeyerkolben mit Alufolien-Deckel, Messzylinder (10 ml), Filzschreiber, Reagenzgläser (steril), Glas-Pasteurpipetten (steril), Gummihütchen

Chemikalien: Standard-I-Nähragarplatten, Brennspiritus, Wasserprobe, Wasser (steril)

Zeitbedarf: 45 min

Durchführung:

- Die Reagenzgläser werden mit  $10^{-1}$  bis  $10^{-3}$  und die Unterseiten der Petrischalen mit K, W und  $10^{-1}$  bis  $10^{-3}$  beschriftet.
- Ein Becherglas wird mit 50 ml Brennspiritus gefüllt, der Drigalski-Spatel wird hineingestellt.
- In jedes Reagenzglas werden mit einer Pasteurpipette 9 Tropfen steriles Wasser gegeben (nach jedem Pipettieren die Spitze 1 s durch die Brennerflamme ziehen).
- Als Blindprobe wird 1 Tropfen steriles Wasser auf der Agarplatte K ausplattiert.
- Nach jedem Ausplattieren wird der Drigalski-Spatel wieder in den Brennspiritus getaucht.
- 1 Tropfen der Wasserprobe wird auf der Agarplatte W ausplattiert.
- In das Reagenzglas  $10^{-1}$  wird ein weiterer Tropfen der Wasserprobe gegeben und durch Schütteln untergemischt. Ein Tropfen dieser Probe wird auf der Agarplatte  $10^{-1}$  ausplattiert.
- Nun wird 1 Tropfen aus dem Glas  $10^{-1}$  in das Reagenzglas  $10^{-2}$  gegeben und durch Schütteln untergemischt. Auch von dieser Probe wird ein Tropfen entnommen und auf der Agarplatte  $10^{-2}$  ausplattiert.
- Diese Arbeitsschritte werden für Reagenzglas bzw. Agarplatte  $10^{-3}$  analog wiederholt.
- Die Platten werden 1 Woche bei Zimmertemperatur (alternativ 2 bis 3 Tage bei 25-30 °C im Brutschrank) stehen gelassen.
- Zur Auswertung wird das Tropfenvolumen bestimmt. Dazu werden 2 ml Wasser tropfenweise in den Messzylinder pipettiert und dabei die Anzahl der Tropfen gezählt:  
Tropfenzahl:  $V_{2\text{ ml}} = x \text{ Tr.} \Rightarrow 1 \text{ Tr.} = 2\text{ml}/x=y$ , d. h.  $y \text{ ml/Tr.}$
- Es werden die Platten mit 30-100 Kolonien ausgezählt und unter Berücksichtigung des Tropfenvolumens und der Verdünnungsstufe die Keimzahl bestimmt. Zuletzt wird ein Durchschnittswert für die Wasserprobe berechnet.

### 3.2.6 Mikroskopische Übungen

- Heuaufguss: Proben eines Heuaufgusses, evtl. aus unterschiedlichen Sukzessionsstadien, mikroskopieren (vgl. [3.1.2](#)).
- Hefe: Etwas Bäckerhefe wird in leicht gesüßter, lauwarmer Milch aufgeschlämmt und nach ca. 1 Stunde mikroskopiert (evtl. Sprossung feststellbar).

- Pinselschimmel:
  - Pilze von Schimmelkäse (Roquefort, Camembert) auf Sabouraud-Maltose-4%-Agar-Platten (vgl. [3.2.2](#)) überimpfen und bei Zimmertemperatur 1 bis 5 Tage stehen lassen. Mit der Stereolupe oder dem Binokular betrachten.
  - Pilze von faulenden Früchten (Orangen, Äpfeln) auf Sabouraud-Maltose-4%-Agar-Platten (vgl. [3.2.2](#)) überimpfen und 1 Woche bei Zimmertemperatur bebrüten. Mit der Stereolupe oder dem Binokular betrachten.
- Gießkannen-/Köpfchenschimmel: In eine Petrischale ein Stück Brot legen, mit Wasser gut durchfeuchten ("feuchte Kammer") und einige Tage geschlossen stehen lassen. Mit der Stereolupe oder dem Binokular betrachten.

### 3.2.7 Hefen im Brotteig (auch Jgst. 10 und 11)

(veränd. nach Lucius, E. R. et al (1998); <http://www.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT01DE.PDF>, online 05.03.2010)

Geräte: Bechergläser (250 ml, 250 ml hoch), Messzylinder (50 ml, 100 ml), Waage, Glasstab, Spatel, Alufolie

Chemikalien: Trockenhefe, Weizenmehl Typ 405, Vollkornmehl, Ascorbinsäure (Vitamin C)

Durchführung:

- Pro Teigansatz werden in niedrige Bechergläser 2 g Trockenhefe abgewogen und 100 ml handwarmes Wasser (ca. 30 °C) zugegeben.
- Die Gemische werden mit dem Glasstab umgerührt.
- Von jeder Mehlsorte werden 150 g abgewogen.
- Das Mehl wird in die Hefesuspension gegeben und gut verknetet.
- Alle Teigansätze werden halbiert. Zu je einer Hälfte wird 1 g Ascorbinsäure untergeknetet.
- Alle Teigansätze werden auf der etwas bemehlten Alufolie zu gleich dicken/großen Würsten gerollt und in das hohe Becherglas gegeben. Die Anfangshöhe wird durch einen Strich am Becherglas markiert.
- Die Teighöhe wird eine Stunde lang in 10-Minuten-Abständen gemessen, indem jeweils eine Markierung auf dem Glas angebracht wird.

### 3.2.8 Alkoholische Gärung im Gärkölbchen (auch Jgst. 11)

- Gäransatz herstellen aus 15%iger Haushaltszuckerlösung und Bäckerhefe (ca. 20 g auf 200 ml  $\cong$  ½ Hefewürfel).
- Die Bäckerhefe in der Zuckerlösung gut verrühren und vollkommen auflösen.
- Danach ca. 1 Stunde mit Gäraufsatz gären lassen.
- Mehrere Einhornkölbchen mit je 15 ml Gäransatz füllen (Kontrolle nur mit Zuckerlösung) und während 30 min die Gärungsaktivität verfolgen (CO<sub>2</sub>-Entwicklung).

## 3.3 Jahrgangsstufe 9

### 3.3.1 Enzym-Wirkung (auch Jgst. 10 und 11)

Mindestens mit einem der drei Enzyme sollte experimentiert werden. Verwendet werden kann Amylase (z. B. aus dem Speichel), Katalase (z. B. aus Hefe, frischer Kartoffel, Schweineblut) oder Urease. Anleitungen sind in den meisten Schulbüchern zu finden.

### 3.3.2 Proteine als Baustoffe

#### Kollagen als Bestandteil des Knochens: Knochenentkalkung

- Schweine- oder Kalbsrippen sauber auslösen.
- Knochen abwägen und Gewicht festhalten.
- Knochen 1 Woche lang in einer feuchten Kammer in 10%iger Salzsäure einlegen.
- Knochen mit Wasser abspülen, trocknen und erneut wiegen; Gewichtverlust festhalten.
- Entstandene Knorpelmasse 5 min in Wasser kochen. Mit dem entstandenen Knochenleim eine Klebprobe mit Papier machen.

### 3.3.3 Isolation von DNA (auch Jgst. 11)

**A) DNA aus Bananen** (veränd. nach Lucius, E. R. et al (1998));  
<http://www.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT01DE.PDF>, online 05.03.2010)

Geräte: Becherglas (250 ml), Waage, Küchenmesser, Schneidebrettchen, Mörser und Pistill, Glasstäbe, Wasserbad mit Thermometer, Eisbad, Messzylinder (25 ml, 100 ml), Sieb, Trichter, Kaffeefilter, Erlenmeyerkolben (100 ml), Messpipetten (1 ml, 10 ml), Pipettierhilfen, Holzstäbchen, Kühlschrank, Handschuhe

Chemikalien: Wasser, Spülmittel, Kochsalz, Eis, flüssiges Feinwaschmittel (alternativ: Lösung von Waschmittelenzymen, z. B. Biozym SE), Propan-2-ol (Isopropanol)

Pflanzenmaterial: Bananen

Vorbereitung (durch die Lehrkraft):

- Kühlung von Propan-2-ol, Messzylinder (25 ml), Messpipetten (10 ml) und Glasstäben im Eisfach
- Vorheizen des Wasserbades auf 65°C

Durchführung:

- 10 ml Spülmittel werden in einem Messzylinder mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt.
- Die Spülmittellösung wird in ein Becherglas überführt und mit 3 g Kochsalz versetzt (Lysis-Puffer).
- Ein Viertel einer Banane wird klein geschnitten und mit 20 ml des Lysis-Puffers für 1 min in einem Mörser mit dem Pistill zerrieben.
- Die zerquetschte Banane wird dann in das Becherglas mit dem restlichen Puffer zurückgegeben und mit dem Glasstab gut durchgerührt.
- Das Becherglas mit dem Gemisch wird für 5 min in ein 65 °C heißes Wasserbad gestellt und anschließend für 5 min in einem Eisbad gekühlt.
- Nun wird das Gemisch vorsichtig durch das Küchensieb in den Trichter mit dem Kaffeefilter abgegossen. Es werden ca. 25 ml in den Erlenmeyerkolben filtriert. Der Filter verstopft recht schnell; dann Filter wechseln.
- Zum Filtrat werden 3 ml Feinwaschmittel (alternativ: 1 ml Enzymlösung) pipettiert. Das Gemisch wird dann 3 min lang geschwenkt.
- 10 ml dieses Gemisches werden in einen gekühlten Messzylinder abgefüllt und mit einer gekühlten 10 ml-Messpipette mit 10 ml eisgekühltem Propan-2-ol überschichtet. Mit einem gekühlten Glasstab wird vorsichtig an der Grenzschicht gerührt. Die DNA kann dann langsam auf den Stab aufgewickelt und herausgenommen werden.

## B) DNA: Isolation aus Mundschleimhautzellen (veränd. nach Müller & Braun (2008))

Geräte: Becherglas (100 ml), Waage, Alufolie, Glasstäbe, Trinkbecher, Wasserbad mit Thermometer, Messzylinder (25 ml), Messpipetten (2 ml, 10 ml), Pasteurpipetten, Gummihütchen, Pipettierhilfen, Schnappdeckelgläschen, Kühlschrank, Schutzhandschuhe, Stoppuhr

Chemikalien: Wasser, Spülmittel, Kochsalz, Feinwaschmittel (flüssig), Propan-2-ol (Isopropanol)

Vorbereitung (durch die Lehrkraft):

- Kühlung von Propan-2-ol, Messpipetten (10 ml) und Glasstäben im Eisfach
- Vorheizen des Wasserbades auf 50 °C

Durchführung:

- 2 ml Spülmittel werden mit Wasser in einem Messzylinder auf 20 ml aufgefüllt und in ein Becherglas überführt. Unter Rühren werden 0,6 g Kochsalz darin gelöst (Lysis-Puffer).
- Der Mund wird zweimal kurz mit frisch abgekochtem und wieder abgekühltem Wasser gespült und anschließend 2 min lang trocken gekaut.
- Nun wird der Mund mit einem Schluck Wasser 40 s lang intensiv gespült.
- Das „Spülwasser“ wird dann in ein Schnappdeckelglas übertragen.
- Mit einer Messpipette werden 2 ml Lysis-Puffer zugegeben. Dann wird das Gläschen verschlossen und vorsichtig fünfmal umgekippt.
- Zum Gemisch werden 5 Tropfen Feinwaschmittel zugegeben und das Gläschen einmal vorsichtig gekippt.
- Nun wird das Gläschen für 10 min in ein 50 °C warmes Wasserbad gestellt.
- Die Flüssigkeit im Glas wird mithilfe einer gekühlten Messpipette mit 5 ml eisgekühltem Propan-2-ol überschichtet und 5 min stehengelassen.
- Danach wird das Ganze drei- bis fünfmal vorsichtig gekippt und nochmals 5 min lang auf dem Kopf stehen gelassen.

### 3.3.4 Eigenschaften der DNA (auch Jgst. 11)

#### A) DNA als Säure

##### Nachweis der Säureeigenschaft der DNA

Geräte: Schere, Messer, Bechergläser, Dreifuß, Bunsenbrenner, Keramiknetz, Trichter, Filterpapier, Reagenzgläser, Ständer, Glasstab, Pasteurpipette

Chemikalien: Wasser, pH-Indikator (z. B. Universalindikator, Bromthymolblau, mit Vorbereitung: Blaukrautsaft), Essig, Haushaltsreiniger, Kochsalz, Backpulver, Geschirrspülmittel, Rohrreiniger, Herings-Erbgut (z. B. Sigma D6898)<sup>5</sup>

Vorbereitung 1: Herstellen des Blaukrautindikators

- Die Blaukrautblätter werden in kleine Stücke geschnitten, mit 50 ml Wasser versetzt und gekocht, bis eine dunkelviolette Lösung entstanden ist. Danach lässt man den Ansatz etwas abkühlen und filtriert die Lösung ab.

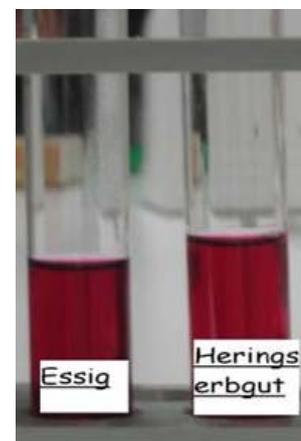


Abb. 3: Indikatorverfärbung durch Essig und Heringserbgut

<sup>5</sup> Es ist das Produkt angegeben, mit dem die Experimente durchgeführt wurden. Die Verwendung von Alternativ-Produkten ist denkbar, aber nicht erprobt.

Vorbereitung 2: Herstellen von „neutralem“ Wasser:

- Aus destilliertem Wasser und Leitungswasser wird ein 1:1-Gemisch hergestellt. (Eine kleine Menge mit Universalindikator auf Neutralität testen)

Durchführung:

- Die Blaukraut-Indikatorlösung wird auf sechs Reagenzgläser aufgeteilt.

*Alternative:*

*Die sechs Reagenzgläser werden mit je 5 ml des vorbereiteten Wassers und fünf Tropfen eines pH-Universalindikators befüllt.*

- Zu den Indikator-Lösungen jeweils folgende Stoffe: Essig ( $\frac{1}{2}$  Pasteurpipette), Kochsalz (Spatelspitze), Backpulver (Spatelspitze), Geschirrspülmittel (Spatelspitze), Herings-Erbgut (Spatelspitze). Ein Reagenzglas dient zum Farbvergleich mit der neutralen Lösung.

## B) DNA – ein Makromolekül

### Nachweis des Tyndall-Effektes bei DNA-Lösungen

Geräte: Petrischalen, Pipetten, Becherglas, Bunsenbrenner, Reagenzgläser (normal und groß), Reagenzlashalter, Messzylinder (25 ml), Reagenzglasständer, Glasstab, Küvetten, Stativ, Klemmen, Muffen, Laserpointer (Lampe)

Chemikalien: Wasser, Siedesteinchen, Stärke (löslich), Ei, Herings-Erbgut (z. B. Sigma D6898)<sup>6</sup>, Rübenzucker

Vorbereitung:

- 2 Spatelspitzen Stärke werden in einem großen Reagenzglas mit 25 ml Wasser und drei Siedesteinchen versetzt. Die Lösung wird vorsichtig bis zum Aufkochen erhitzen.
- Eigelb und Eiklar eines Eies werden in zwei Petrischalen getrennt. Mit der Pipette Eiklar aufsaugen und eine kleine Menge (ca.  $\frac{1}{2}$  Teelöffel voll) davon in einem Becherglas mit 25 ml Wasser mischen.
- In einem Reagenzglas 4 Spatelspitzen Heringserbgut, in einem weiteren Reagenzglas 4 Spatelspitzen Rübenzucker in jeweils 25 ml Wasser lösen.

Durchführung:

- Der Laserpointer wird mit einer Klemme am Stativ befestigt. Die vier Lösungen werden jeweils in eine Küvette gefüllt und in den Strahl des Laserpointers (alternativ Lampe) gehalten.
- Beobachtungen in eine Tabelle eintragen.

## C) DNA im UV-Licht (veränd. nach Hampl et al. (2005, S. 20))

### Nachweis der UV-Absorption von DNA-Lösungen

Geräte: Petrischalen (oder Uhrgläser), Becherglas (300 ml), Fön, Pinsel, Filterpapier, Löffelspatel, Pinzette, Reagenzglas, Stopfen, Messzylinder, UV-Lampe, Schutzbrille, Schutzscheibe aus Plexiglas

Chemikalien: Wasser, Waschmittel, Heringserbgut (z. B. Sigma D6898)<sup>7</sup>



Abb. 4: DNA im UV-Licht

<sup>6,7</sup> Es ist das Produkt angegeben, mit dem die Experimente durchgeführt wurden. Die Verwendung von Alternativ-Produkten ist denkbar, aber nicht erprobt.

Durchführung:

- Ein Spatellöffel Waschmittel wird in einem Becherglas mit 250 ml Wasser verrührt.
- Das Filterpapier wird in eine Petrischale gelegt, mit der Waschmittellösung durchtränkt und anschließend trocken geföhnt.
- Lösung des Heringserbgut:  
Eine Spatelspitze Heringserbgut wird in 5 ml Wasser in einem Reagenzglas unter Schütteln gelöst.
- Mit einem Pinsel wird das trockene Filterpapier mit der DNA-Lösung beschriftet oder bemalt und erneut trocken geföhnt.
- Das trockene Filterpapier wird unter UV-Licht ( $\lambda=254$  nm, Schutzbrille und Schutzscheibe!) betrachtet.

### 3.3.5 Mikroskopieren von Mitosestadien der Zwiebelwurzeln

Anleitung s. z. B. Füller, 1988, S. 41 f.

### 3.3.6 Restriktionsanalyse (auch Jgst. 11)

**A) Blue Genes-System: Versuch 1** (Roche Diagnostic Boehringer Mannheim GmbH, Molekular Biochemicals D-68298 Mannheim Tel 0800/759 2226, (<http://www.roche.de/diagnostics/biochemica/bluegenes/index.htm> , online 05.03.2010))<sup>8</sup>

Spaltung des Plasmids pUCD mit dem Restriktionsenzym *Ban* II führt zu zwei Produkten; Kopplung mit einer Agarose-Gelelektrophorese zur Visualisierung notwendig; Agarose-Gel mit Blue Genes-Kammer.

**B) Elektrophorese Kit** (z. B. Schlüter Nr. 111)<sup>9</sup>

**C) Modellversuch Gelelektrophorese** (veränd. nach Tan et al. (2007))

Material: Erlenmeyerkolben (150 ml), Spatel, Messzylinder (10 ml), Messpipetten (5 ml), Waage, Alufolie (alternativ Wägebapier), Gelelektrophorese-Kammer(n), Spannungsquelle, Heizer

Chemikalien: Farbstoffe (Xylencyanol, Methylrot, Methylorange, Kresolrot (Natrium-Salz), Bromphenolblau , Orange G (Natrium-Salz), Ponceau S), dest. Wasser, Glycerin, 10x-TBE-Puffer (0,89 M Tris (10,8 g / 100 ml), 0,89 M Borsäure (5,5 g / 100 ml), 0,02 M EDTA (0,74 g / 100 ml, pH = 8,1) oder Natriumhydrogencarbonat-Lsg. (c = 10 mmol/l; 0,84 g/l) als Elektrolyt-Lsg., Agarose

Vorbereitung:

- Herstellen der Farbstofflösungen (durch Lehrkraft):
  - 50 mg Methylrot mit 5 ml einer Natronlauge der Konzentration 1 mol/l versetzen und mit Wasser auf 50 ml auffüllen (Endkonz. Methylrot 1 mg/ml; Natronlauge 0,1 mol/l)
  - Von den anderen Farbstoffen jeweils 50 mg mit 10 ml Glycerin mischen und mit Wasser auf 50 ml auffüllen.
- Herstellen des Puffers (s. Chemikalien)

<sup>8</sup> Der Blue Genes-Koffer wurde speziell für Schulen entwickelt.

<sup>9</sup> Es ist das Produkt angegeben, das getestet wurde. Die Verwendung von Alternativ-Produkten ist denkbar, aber nicht erprobt.

- Herstellen eines Elektrophorese-Gels:
  - Falls TBE-Puffer: 100 ml des 10xTBE-Puffers werden mit Wasser auf das Volumen von 1 l aufgefüllt: 1xTBE-Puffer.
  - In einem Erlenmeyerkolben werden 0,5 g Agarose in 50 ml 1xTBE-Puffer suspendiert und aufgekocht. Anschließend lässt man das Gemisch auf 50 °C abkühlen.
  - Das Gel wird in die aufgebaute Gelkammer gegossen und der Probenkamm eingesteckt. Nun lässt man das Gel ca. 30 min erstarren.

Durchführung:

- Jeweils 10 µl der Farbstofflösung werden in die Probenkammern gefüllt.
- Das Gel bei 100 V 45 min laufen lassen.
- Anschließend die Laufstrecke von der Startlinie bis zur Bande messen und notieren.

### 3.3.7 Nachweis der Antibiotika-Wirkung auf Bakterien

Anleitung s. z. B. Bayrhuber & Lucius (1992, S. 102) oder Lucius, E. R. et al (1998), <http://www.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT01DE.PDF>, online 05.03.2010

## 3.4 Jahrgangsstufe 10

### 3.4.1 Enzym-Wirkung (auch Jgst. 9 und 11, s. 3.3.1)

### 3.4.2 Spezielle Reaktionen von Bakterien und Pilzen: Cellulaseabbau (auch Jgst. 5, s. 3.1.3)

### 3.4.3 Nachweis des Exoenzyms Amylase

Anleitung s. Kapitel 4 oder Scharfenberg, F.-J. (2006): <http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm>, online 05.03.2010

### 3.4.4 Joghurt-Herstellung (auch Jgst. 8 und 11, s. 3.2.4)

### 3.4.5 Hefen im Brotteig (auch Jgst. 8 und 11, s. 3.2.7)

### 3.4.6 Hemmung des Bakterienwachstums: Konservierungsmethoden

**A) Trocknen** (veränd. nach Bunk, B. & Tausch, J. (1973, S. 211))

Materialien: Brutschrank

Chemikalien: Agarplatten mit Standard-I-Agar

Durchführung: Zwei Agarplatten werden für mind. 30 min lang offen aufgestellt (bis über Nacht möglich). Dann werden sie für 3 Tage bei 25-30 °C im Brutschrank inkubiert, dabei wird eine Platte geöffnet.

**B) Zuckern** (veränd. nach Hübner & Bogner (o. J.))

150 ml Apfelsaft oder anderer Fruchtsaft (wichtig: ohne Zusatz chemischer Konservierungsstoffe; pH = 3,5) mit 3 g Agar-Agar aufkochen und auf drei Bechergläser verteilen.

Folgende Bedingungen wählen:

- a) Mit dem ersten Becherglas sofort Platten gießen.
- b) Zu dem zweiten Becherglas 25 g Zucker hinzufügen, unter Rühren lösen (Saft : Zucker ≅ 2 : 1), Platten gießen.

- c) Zum dritten Becherglas 50 g Zucker zufügen, unter Rühren lösen (Saft : Zucker  $\cong$  1 : 1), Platten gießen.

Alle Platten mindestens 2 Stunden, besser über Nacht, offen der Luft aussetzen (exponieren) und danach 1 Woche bei Raumtemperatur (alternativ 3 Tage 25-30 °C im Brutschrank) geschlossen stehen lassen.

**C) Erhitzen** (veränd. nach Bogner & Hübner (o. J.))

Auf je eine Agarplatte (Chinablau-Lactose-Agar, s. [3.2.2](#)) werden unter sterilen Bedingungen mit der sterilen Pasteurpipette vereinzelt sehr kleine Tropfen der zu untersuchenden Milchsorten

- a) Rohmilch,
- b) pasteurisierte Vollmilch und
- c) sterilisierte ultrahocherhitzte Vollmilch

aufgebracht und bei Zimmertemperatur für 1 Woche stehen gelassen.

Kurzvariante (Scharfenberg):

Auf eine Agarplatte (Chinablau-Lactose-Agar, s. [3.2.2](#)) werden unter sterilen Bedingungen mit der sterilen Öse jeweils Joghurt mit lebenden Kulturen bzw. wärmebehandelter Joghurt ausgestrichen. Die Platten werden für 1 Woche bei Raumtemperatur inkubiert.

**D) Konservierungsstoffe** (veränd. nach Bogner & Hübner (o. J.))

- 150 ml Apfelsaft (oder andere Säfte; wichtig: ohne Zusatz chemischer Konservierungsstoffe), mit 3 g Agar-Agar vermischen, kurz aufkochen, 6 Platten gießen und Nährboden erkalten lassen.
- 2 Platten unbehandelt als Kontrolle nehmen, auf 2 Platten je 0,2 ml Benzoesäure-Lsg., auf die weiteren 2 Platten je 0,2 ml Ameisensäure-Lsg. auf der Oberfläche ausplattieren.
  - Benzoesäure-Lsg.: 10 g Natriumbenzoat in 20 ml sterilisiertem Wasser lösen.
  - Ameisensäure-Lsg.: 0,1 ml konzentrierte Ameisensäure in 0,1 ml sterilisiertem Wasser lösen.
- Alle Platten mindestens 2 Stunden, besser über Nacht, offen der Luft aussetzen und danach geschlossen 1 Woche bei Raumtemperatur stehen lassen. Anschließend wird die Koloniezahl auf den Platten verglichen.

**3.4.7 Antibakterielle Wirkung im Alltag** (veränd. nach Freytag (1973, S. 42, Versuch 29))

Material: Agarplatten mit Standardnährmedium, Impföse, Zahnpasta, Peeling-Creme, Flüssig-Seife

Bakterien: *Micrococcus luteus* (DSM 20030)

Durchführung:

- Auf 4 Agarplatten werden Bakterien ausgestrichen. Auf 3 Platten wird jeweils in der Mitte ein Streifen Zahnpasta, Peeling-Creme bzw. Seife aufgetragen.
- Die Platten werden bei 25-30 °C für 2 bis 3 Tage inkubiert.
- Alternativ: Übernachtkultur in 5 ml Nährbouillon bei 25-30 °C; Ausplattieren von 100 ml auf Standard-I-Nähragarplatten und Zugabe der Streifen.

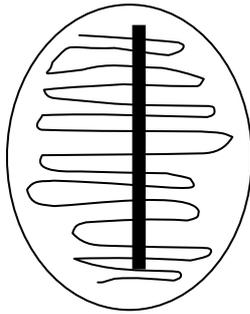


Abb. 5: Versuchsansatz: Ausstreichen der Bakterien, Auftragen der Zahnpasta



Abb. 6: Versuchsergebnis: Um die Zahnpasta hat sich ein Hemmhof gebildet.

### 3.4.8 Waschmittel-Enzyme

#### A) Amylase, Protease, Lipase

Anleitung s. Kapitel 4 oder Scharfenberg, F.-J. (2006): <http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm>, online 05.03.2010

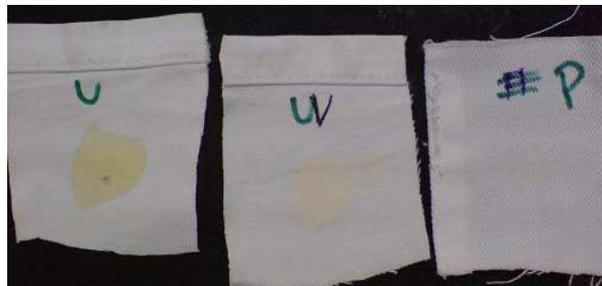


Abb. 7: Ergebnisse der Fleckenbehandlung (unbehandelt, Wasser, Protease)

#### B) Cellulase

(veränd. nach Keusch (2003), [http://www.uni-regensburg.de/Fakultaeten/nat\\_Fak\\_IV/Organische\\_Chemie/Didaktik/Keusch/D-cellulase-d.htm](http://www.uni-regensburg.de/Fakultaeten/nat_Fak_IV/Organische_Chemie/Didaktik/Keusch/D-cellulase-d.htm), online 05.03.2010)

Material: Reagenzgläser (groß), Reagenzglasständer, Messzylinder (50 ml), Waage, Spatel, Glasstab, Stopfen, Pinzetten, saugfähiges Papier, Stoppuhr

Chemikalien: violette Zwiebelschalen (trockene Außenschalen), Wasser, Waschmittel mit Cellulase (Feinwaschmittel), Cellulase-Lsg. (aus *Trichoderma reesei*, C2730-50mL Sigma)<sup>10</sup>, Waschmittel ohne Cellulase (Wollwaschmittel)

Durchführung:

- 4 Reagenzgläser werden mit 50 ml Leitungswasser gefüllt.
- In 1 Reagenzglas werden 3 g Feinwaschpulver zugegeben, in ein zweites 3 g Wollwaschmittel; dann Gläser gut schütteln.
- In das dritte Reagenzglas wird 1 ml Cellulase-Lsg. zugetropft.
- Anschließend werden in die vier Flüssigkeiten mithilfe des Glasstabs violette Zwiebelschalen eingetaucht.
- Die Gläser werden verschlossen und für 90 min stehen gelassen.

<sup>10</sup> Es ist das Produkt angegeben, mit dem die Experimente durchgeführt wurden. Die Verwendung von Alternativ-Produkten ist denkbar, aber nicht erprobt.

- Farbe der Flüssigkeiten notieren und dann die Flüssigkeiten abgießen. Die Zwiebelschalen werden jeweils mit einer Pinzette herausgenommen, abgewaschen und auf saugfähigem Papier angetrocknet. Farbe der Zwiebelschalen notieren.

### 3.4.9 Vergleich von Lab-Ferment und Chymosin

Anleitung s. Kapitel 4 oder Scharfenberg, F.-J. (2006):  
<http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm>, online 05.03.2010



Abb. 8: Labfällung

### 3.4.10 Riboflavin im Puddingpulver

(veränd. nach <http://www.experimente.axel-schunk.de/edm0108.html>, online 05.03.2010)

Material: Waage, Becherglas (250 ml), Messzylinder (250 ml), Magnetrührer, Rührfisch, Stoppuhr, Filterpapier, Trichter, Spatel, Reagenzglas, Reagenzglasständer, Spatel, UV-Lampe (254 nm), Schutzbrillen, Schutzscheibe aus Plexiglas

Chemikalien: Puddingpulver (Vanille), Riboflavin (E 101), Wasser

Durchführung:

- 8 g Puddingpulver werden mit 200 ml Wasser versetzt und 5 min auf dem Magnetrührer gerührt.
- Dann wird das Becherglas für 5 min ruhig stehen gelassen.
- Filterpapier in den Trichter geben und mit etwas Wasser anfeuchten.
- Der Trichter wird in ein Reagenzglas im Ständer gestellt. Das Reagenzglas wird halb voll mit Flüssigkeit aus dem Becherglas gefüllt (vorsichtig Dekantieren).
- In einem zweiten Reagenzglas wird eine kleine Spatelspitze Riboflavin in 5 ml Wasser aufgelöst.
- Die Reagenzgläser werden unter die UV-Lampe gehalten (Schutzbrille und Schutzscheibe!).

## 3.5 Jahrgangsstufe 11

### 3.5.1 Enzym-Wirkung (auch Jgst. 9 und 10, s. 3.3.1)

### 3.5.2 Experimentelle Untersuchung des Einflusses von Substratkonzentration, Temperatur und Hemmstoffen

Beispielsweise an der Urease, Katalase etc.; Anleitungen sind in den meisten Schulbüchern zu finden.

### 3.5.3 Alkoholische Gärung im Gärkölbchen (auch Jgst. 8, s. 3.2.8)

- Erweiterung: Vergleich unterschiedlicher Kohlenhydrate (z. B. Maltose, Glucose)

### 3.5.4 Gäransätze mit Fruchtsäften

Anleitungen zur Obstwein-Herstellung findet man in Kochbüchern. Spezielle Weinhefen gibt es im Handel.

**3.5.5 Hefen im Brotteig (auch Jgst. 8 und 10, s. 3.2.7)****3.5.6 Joghurt-Herstellung (auch Jgst. 8 und 10, s. 3.2.4)****3.5.7 Isolation von DNA (auch Jgst. 9, s. 3.3.3)****3.5.8 Abbau von DNA durch DNase** (veränd. nach Jaenicke (2000, S. 321))

Der Nachweis der DNase-Wirkung ist über die Viskositätsabnahme der Lösung messbar (kürzere Ausflusszeiten aus einer Messpipette).

Voraussetzung für dieses Experiment ist die Verwendung genügend hochmolekularer DNA. Darauf muss beim Einsatz käuflicher DNA-Proben geachtet werden (z. B. hochmolekulare DNA aus Lachshoden, Sigma D1626-1G)<sup>11</sup>; nicht geeignet sind niedermolekulare DNA-Isolate wie bei Versuch 3.3.3). Bei selbst gewonnenen DNA-Proben muss eine sichtbar erhöhte Viskosität vorliegen und die DNA-Lsg. erkennbar dickflüssig sein.

Ein sinnvolles Volumenverhältnis von DNA-Lsg. zu DNase-Lsg. muss in eigenen Vorversuchen festgestellt werden. Dadurch erfordert das Experiment einen relativ hohen Vorbereitungsaufwand. Ein sinnvolles Anfangsvolumen bei gekaufter, hochmolekularer DNA sind 10 ml DNA-Lsg. ( $c = 1,5 \text{ mg/ml}$ ).

Geräte: Pipettierhilfe, Messpipetten (1 ml, 0,1 ml), Becherglas 50 ml, Stoppuhr

Chemikalien: DNA, 0,25 molare Magnesiumchlorid-Lsg., DNase I (z. B. Fluka 31135)<sup>12</sup>

Durchführung:

- Herstellung der DNAase-Lsg. ( $c = 1 \text{ mg/ml}$ ): DNase wird in 0,25 molarer Magnesiumchlorid-Lsg. gelöst.
- 1 ml DNA-Lsg. wird in eine 1 ml-Messpipette gesaugt.
- Dann lässt man 0,5 ml in ein Becherglas auslaufen und stoppt die notwendige Zeit.
- Zur verbliebenen DNA-Lösung werden 0,01 ml DNase-Lsg. zugegeben.
- Jeweils nach 30 s wird eine Probe von 1 ml entnommen und die Ausflusszeit wie oben bestimmt.

**3.5.9 Eigenschaften der DNA (auch Jgst. 9, s. 3.3.4)****3.5.10 Hydrolyse von DNA und RNA, Nachweis der unterschiedlichen Zuckerbausteine**

Anleitung s. Kapitel 4 oder Scharfenberg, F.-J. (2006): <http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm>, online 05.03.2010

**3.5.11 Regulation des Lactose-Abbaus bei E. coli**

Anleitung s. Bayrhuber & Lucius (1997, S. 127 ff.)

Sehr aufwändiges Experiment mit den Stämmen E. coli K12 (DSM 6255, induzierbar  $lac^+$ ), K12 L17 (DSM 6254,  $lacI^Z^-$ ,  $Sm^r$ ) und K12 CSH36 (DSM 6235, konstitutiv  $lac^+$ ). Nachweis der  $\beta$ -Galactosidase über den Indikator ONPG (o-Nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranosid), der gelb gefärbtes Nitrophenolat freisetzt.

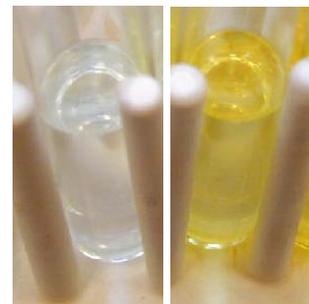


Abb. 9:  $lac^-$  (li),  $lac^+$  (re)

<sup>11</sup> Es ist das Produkt angegeben, mit dem die Experimente durchgeführt wurden. Die Verwendung von Alternativ-Produkten ist denkbar, aber nicht erprobt.

<sup>12</sup> Es ist das Produkt angegeben, mit dem die Experimente durchgeführt wurden. Die Verwendung von Alternativ-Produkten ist denkbar, aber nicht erprobt.

**3.5.12 Transformation mit pUCDlacZ+**

Teilversuch aus dem Blue Genes-System

(<http://www.roche.de/diagnostics/biochemica/bluegenes/index.htm>, online 05.03.2010)

**3.5.13 Selbstklonierung**

Versuch 2 aus dem Blue Genes-System

(<http://www.roche.de/diagnostics/biochemica/bluegenes/index.htm>, online 05.03.2010)

**3.5.14 Genübertragung durch Agrobakterium**

Anleitung s. Lüdemann et al (1997, S. 16 ff.)

**3.5.15 Isolierung von Alginaten und Immobilisierung von  $\beta$ -Galactosidase**

Anleitung s. Kapitel 4 oder Scharfenberg, F.-J. (2006): <http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm>, online 05.03.2010

**3.5.16 Nutzung von Enzymen:  $\beta$ -Galactosidase**

Anleitung s. Kapitel 4 oder Scharfenberg, F.-J. (2006): <http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm>, online 05.03.2010

**3.5.17 Mikrobielle Brennstoffzelle**

Anleitung nach Bennetto (1990), vgl.

[www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/PRACBIOTECH/bugpower.html](http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/PRACBIOTECH/bugpower.html), online 05.03.2010

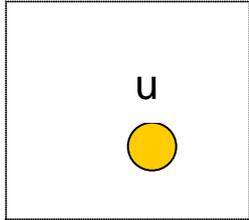
**3.5.18 Restriktionsanalyse (auch Jgst. 9, s. 3.3.6)**

#### 4 Kommentierte Versuchsanleitungen und Kopiervorlagen

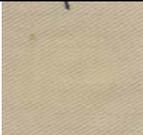
3.4.3	Experimentelle Mikrobiologie und Genetik		L
	<b>Nachweis des Exoenzyms Amylase</b>		
<b>Vorbereitung:</b>	<b>Gießen von Stärke-Agarplatten</b>		
<b>Zeitbedarf:</b>	45 min		
<b>Ziel:</b>	Vorbereitung der Agarplatten		
<b>Material:</b>	sterile Petrischalen (Ø 6 cm), Erlenmeyerkolben (500 ml), Autoklav (alternativ Dampfdrucktopf), Spatel, Waage		
<b>Chemikalien:</b>	Standard-Nähragar, lösliche Stärke, dest. Wasser		
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3,7 g Nähragar und 0,2 g lösliche Stärke (0,2 % w/v) werden mit 100 ml dest. Wasser im Erlenmeyerkolben vermischt.</li> <li>• Die Suspension wird für 20 min autoklaviert.</li> <li>• Nach dem Abkühlen auf ca. 50 °C werden die Agarplatten gegossen (ergibt ca. 10 Platten).</li> <li>• Nach dem Erstarren über Nacht werden die Platten bei 4 °C aufbewahrt.</li> </ul>		
<b>Versuch:</b>	<b>Nachweis der Amylaseproduktion</b>		
<b>Zeitbedarf:</b>	ca. 10 min, dann Inkubation für 2 Tage bei 25-30 °C oder 1 Woche bei Raumtemperatur (RT), dann zur Auswertung ca. 10 min		
<b>Ziel:</b>	Erkennen, dass Bakterien Amylasen als Exoenzyme ausscheiden können		
<b>Material:</b>	Stärke-Agarplatten, Impfösen, Brenner, Pasteur-Pipetten, Gummihütchen		
<b>Bakterien:</b>	Bacillus subtilis (DSM 402), Escherichia coli K 12 HB 101 (DSM 1607) Als Vorbereitung müssen die Bakterien auf Standard-Agarplatten herangezüchtet werden (= Stammplatten).		
<b>Chemikalien:</b>	Iod-Kalium-Iodid-Lsg. (Lugolsche Lsg.)		
<b>Durchführung 1:</b>	Jede Bakterienart wird auf einer Stärke-Agarplatte ausgestrichen: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dazu wird die Impföse in der Flamme ausgeglüht.</li> <li>• Eine Bakterien-Kolonie wird mit der abgekühlten (!) Öse von der Stammplatte abgestreift und auf der Stärke-Agarplatte dreimal ausgestrichen (jeweils wiederholtes Ausglühen). Bei kleinen Platten (6 cm Ø) ist jeweils ein Strich ausreichend.</li> <li>• Die umgedrehten, beimpften Agarplatten werden für 2 Tage bei 25-30° C oder für 1 Woche bei RT inkubiert.</li> </ul>		
<b>Beobachtung 1:</b>	<i>Auf beiden Agarplatten sind Bakterien gewachsen.</i>		
<b>Durchführung 2:</b>	Die Agarplatten werden vorsichtig mit der Iod-Kalium-Iodid-Lsg. überschichtet (ca. 1 mm hoch).		
<b>Beobachtung 2:</b>	Bakterienart	Escherichia coli	Bacillus subtilis
	Farbe des Agars	<i>blauschwarz</i>	<i>gelblich</i>

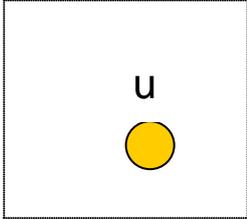
<b>Deutung:</b>	<p><i>B. subtilis</i>-Bakterien scheiden Amylase-Moleküle aus. Diese haben die Hydrolyse von Stärke katalysiert. Daher ist in diesen Agarbereichen keine Iod-Stärke-Reaktion mehr möglich.</p> <p><i>E. coli</i>-Bakterien scheiden keine Enzyme aus. Daher tritt die Iod-Stärke-Reaktion auf. Dabei lagern sich Iod-Moleküle in die Stärke-Moleküle ein und ergeben einen blauschwarz gefärbten Komplex.</p>
<b>Erklärung:</b>	<p>In wässriger Lösung bildet Stärke mit Iod einen intensiv farbigen Komplex. Lösliche Stärke besteht aus Amylose. Die unverzweigte Amylose, eine Kette von Glucosemolekülen, ist in Form einer Helix gewunden. Die Iod-Teilchen lagern sich in den zentralen Hohlraum der Amylose-Helix ein. (Das verzweigte Polysaccharid Amylopectin reagiert mit Iod unter Rotbraunfärbung, da die unverzweigten Helixabschnitte für einen blaugefärbten Charge-Transfer-Komplex zu kurz sind.)</p>
<b>Entsorgung:</b>	Agarplatten vor der Entsorgung autoklavieren, dann als Restmüll entsorgen.
<b>Quelle:</b>	veränd. nach EIBE (1998): Einheit 1, S. 14 f. <a href="http://www.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT01DE.PDF">http://www.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT01DE.PDF</a> , online 05.03.2010
<b>Hintergrund:</b>	ausführliche Hintergrundinformation: <a href="http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm">http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm</a> (V 3.1)
	<p>Industrielle Anwendungen von Amylasen (Auswahl):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Stärkebeschichtung von Papier</li> <li>• „Stärkeverflüssigung“ zur Herstellung von „Sprit“-Alkohol und Lebensmitteln sowie beim Brauen</li> <li>• Förderung der Krustenbildung und des Teigvolumens in der Backindustrie</li> <li>• Waschmittel-Enzyme</li> </ul>
<b>Hinweise:</b>	<p>Bestellung von Bakterienstämmen:  DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH)  Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Telefon: 0531-2616-0, Telefax: 0531-2616-418, E-Mail: <a href="mailto:contact@dsmz.de">contact@dsmz.de</a>  Homepage: <a href="http://www.dsmz.de">http://www.dsmz.de</a> (Achtung: Schul-Preise)</p> <p><b>In Deutschland ist dieser Versuch nur mit einem definierten Reinstamm erlaubt, da zum Nachweis die Agarplatte nach der Bebrütung geöffnet werden muss. Damit ist die Verwendung von Bodenproben nicht möglich</b> (im Gegensatz zur Vorschrift in der Quelle, EIBE unit 1).</p>

3.4.3	<b>Experimentelle Mikrobiologie und Genetik</b> <b>Nachweis des Exoenzyms Amylase</b>		<b>S</b>
<b>Vorbereitung:</b>	<b>Gießen von Stärke-Agarplatten</b>		
<b>Material:</b>	sterile Petrischalen (Ø 6 cm), Erlenmeyerkolben (500 ml), Autoklav (alternativ Dampfdrucktopf), Spatel, Waage		
<b>Chemikalien:</b>	Standard-Nähragar, lösliche Stärke, dest. Wasser		
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3,7 g Nähragar und 0,2 g lösliche Stärke (0,2 % w/v) werden mit 100 ml dest. Wasser im Erlenmeyerkolben vermischt.</li> <li>• Die Suspension wird für 20 min autoklaviert.</li> <li>• Nach dem Abkühlen auf ca. 50 °C werden die Agarplatten gegossen (ergibt ca. 10 Platten).</li> <li>• Nach dem Erstarren über Nacht werden die Platten bei 4 °C aufbewahrt.</li> </ul>		
<b>Versuch:</b>	<b>Nachweis der Amylaseproduktion</b>		
<b>Material:</b>	Stärke-Agarplatten, Impfösen, Brenner, Pasteur-Pipetten, Gummihütchen		
<b>Bakterien:</b>	Bacillus subtilis (DSM 402), Escherichia coli K 12 HB 101 (DSM 1607)		
<b>Chemikalien:</b>	Iod-Kalium-Iodid-Lsg. (Lugolsche Lsg.)		
<b>Durchführung 1:</b>	<p>Jede Bakterienart wird auf einer Stärke-Agarplatte ausgestrichen:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dazu wird die Impföse in der Flamme ausgeglüht.</li> <li>• Eine Bakterien-Kolonie wird mit der abgekühlten (!) Öse von der Stammpatte abgestreift und auf der Stärke-Agarplatte dreimal ausgestrichen (jeweils wiederholtes Ausglühen). Bei kleinen Platten (6 cm Ø) ist jeweils ein Strich ausreichend.</li> <li>• Die umgedrehten, beimpften Agarplatten werden für 2 Tage bei 30° C oder für 1 Woche bei RT inkubiert.</li> </ul>		
<b>Beobachtung 1:</b>			
<b>Durchführung 2:</b>	Die Agarplatten werden vorsichtig mit der Iod-Kalium-Iodid-Lsg. überschichtet (ca. 1 mm hoch).		
<b>Beobachtung 2:</b>	Bakterienart	Escherichia coli	Bacillus subtilis
	Farbe des Agars		
<b>Deutung:</b>			
<b>Erklärung:</b>			

3.4.8	<b>Experimentelle Mikrobiologie und Genetik</b> <b>Waschmittel-Enzyme: Amylase, Protease, Lipase</b>		<b>L</b>
<b>Vorbereitung:</b>	Herstellen der „Fleckentücher“		
<b>Zeitbedarf:</b>	15 min		
<b>Ziel:</b>	Herstellung der benötigten fleckenhaltigen Tücher		
<b>Material:</b>	Baumwolltuch, Schere, Gabel, Waage, Spatel, Pinsel, Fön, Bechergläser (150 ml), wasserfester Stift		
<b>Chemikalien:</b>	Ei		
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aus dem Tuch werden fünf ca. 5 x 5 cm große Stücke geschnitten und mit wasserfesten Stiften markiert: u = unbehandelt, W = Wasser, P = Protease, A = Amylase, L = Lipase.</li> <li>• Ein Ei wird in einem Becherglas mit einer Gabel verquirlt.</li> <li>• Vom verquirlten Ei werden mit Pinseln jeweils Flecken (ca. 1,5 cm Ø) auf die fünf Baumwollstücke aufgetragen.</li> <li>• Die Tücher werden mit dem Fön angetrocknet und evtl. über Nacht bei RT aufbewahrt.</li> </ul>	 <p>„Fleckentuch u“ (unbehandelte Kontrolle)</p>	
<b>Versuch:</b>	<b>Nachweis der Enzymwirkung</b>		
<b>Zeitbedarf:</b>	ca. 5 min, dann 30 min Inkubation, dann ca. 10 min zur Auswertung		
<b>Ziel:</b>	Erkennen, dass Waschmittelenzyme spezifisch wirken		
<b>Material:</b>	Bechergläser (400 ml), Messzylinder (250 ml), Magnetrührer mit Heizplatte, Rührfisch, Thermometer, Pinzetten, Messpipetten (1 ml), Waage, Spatel, saugfähiges Papier, Fön, Pasteur-Pipette		
<b>Chemikalien:</b>	Lipase, Protease, Amylase (z. B. Lipolase, Savinase, Termamyl, alle Novozymes) <sup>13</sup> , Wasser		
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ein Becherglas (400 ml) wird mit 200 ml Wasser, die anderen werden jeweils mit 200 ml 0,2%iger Enzym-Lösung gefüllt.</li> <li>• In jedes Glas wird ein Fleckentuch eingetaucht, das fünfte wird als unbehandelte Kontrolle aufgehoben.</li> <li>• Die Ansätze werden auf den Magnet-Heizrührern auf ca. 35 °C erwärmt und 15 min lang schwach gerührt (Temperaturkontrolle mit einem Thermometer).</li> <li>• Die Tücher werden mit der Pinzette entnommen und zum Antrocknen auf eine Lage saugfähiges Papier gelegt. Dann werden sie mit dem Fön getrocknet.</li> <li>• Die einzelnen Flecken werden miteinander verglichen.</li> </ul>		

<sup>13</sup> Es sind die Produkte angegeben, mit denen die Experimente durchgeführt wurden. Die Verwendung von Alternativ-Produkten ist denkbar, aber nicht erprobt.

<b>Beobachtung:</b>	Behandlung	unbehandelt	Wasser	Protease	Amylase	Lipase
	Ei-Fleck	<i>deutlich gelb</i>	<i>schwach gelb</i>	<i>Flecken frei</i>	<i>schwach gelb</i>	<i>schwach gelb</i>
	Behandlung	unbehandelt	Wasser		Protease	
	Ei-Fleck					
	Behandlung	Amylase	Lipase			
	Ei-Fleck					
<b>Deutung:</b>	<i>Nur die Protease katalysiert die Hydrolyse von Eiweißen, die beiden anderen Enzyme nicht.</i>					
<b>Erklärung:</b>	<i>Die Peptidbindung der Eiweiße wird unter Wasseranlagerung gespalten.</i>					
<b>Hintergrund:</b>	ausführliche Hintergrundinformation: <a href="http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm">http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm</a> (V 4.3.1)					
	<p>Industriell genutzte Enzyme werden häufig mithilfe von genetisch veränderten Organismen (GVO) hergestellt.</p> <p>Allgemeine Vorteile von genetisch veränderten Organismen für die Produktion von Enzymen:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• höhere Spezifität und Reinheit</li> <li>• Herstellung von Enzymen, die ohne GVO aufgrund wirtschaftlicher, gesundheitlicher und/oder ökologischer Gründe nicht produziert werden könnten.</li> <li>• Aufgrund der höheren Effizienz bei der Produktivität ergeben sich ein geringerer Energieverbrauch und weniger Abfälle als bei herkömmlicher Produktion.</li> <li>• Speziell in der Nahrungsmittelindustrie ergeben sich eine bessere Ausnutzung von Rohstoffen (Saftindustrie), bessere Qualität im Endprodukt bei weniger Abfall (Backindustrie) und ein geringerer Chemikalienverbrauch in der Herstellung (Stärkeindustrie).</li> <li>• In der Futtermittelindustrie ergibt sich eine Reduktion des Düngeeffekts für die Umwelt.</li> </ul> <p>Die Produktion durch GVO-Mikroorganismen geschieht in geschlossenen Kreisläufen. Nach der Fermentation wird das Enzym vom Produktionsstamm abgetrennt, gereinigt und zur Stabilisation mit inerten Flüssigkeiten vermischt. Das fertige Enzym enthält keine GVO-Mikroorganismen mehr.</p> <p>beispielhafte Übersicht:  Novozymes: <a href="http://www.novozymes.com/en/MainStructure/Productfinder">http://www.novozymes.com/en/MainStructure/Productfinder</a> (online 05.03.2010).</p> <p>Ziele im Waschmittelbereich:  Senkung der Waschttemperaturen von 40 auf 30 °C als Regelfall, d. h. ca. 30 % geringerer Energieverbrauch, gekoppelt mit kürzeren Waschzeiten</p>					
<b>Quelle:</b>	veränd. nach Gruber & Klautke (1990): <i>Reine Wäsche durch Bakterien</i> . UB 14 (1), S. 26-30					

3.4.8	<b>Experimentelle Mikrobiologie und Genetik</b> <b>Waschmittel-Enzyme: Amylase, Protease, Lipase</b>		<b>S</b>			
<b>Vorbereitung:</b>	<b>Herstellen der „Fleckentücher“</b>					
<b>Material:</b>	Baumwolltuch, Schere, Gabel, Waage, Spatel, Pinsel, Fön, Bechergläser (150 ml), wasserfester Stift					
<b>Chemikalien:</b>	Ei					
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aus dem Tuch werden fünf ca. 5 x 5 cm große Stücke geschnitten und mit wasserfesten Stiften markiert: u = unbehandelt, W = Wasser, P = Protease, A = Amylase, L = Lipase.</li> <li>• Ein Ei wird in einem Becherglas mit einer Gabel verquirlt.</li> <li>• Vom verquirlten Ei werden mit Pinseln jeweils Flecken (ca. 1,5 cm Ø) auf die fünf Baumwollstücke aufgetragen.</li> <li>• Die Tücher werden mit dem Fön angetrocknet und evtl. über Nacht bei RT aufbewahrt.</li> </ul>		 <p>„Fleckentuch u“ (unbehandelte Kontrolle)</p>			
<b>Versuch:</b>	<b>Nachweis der Enzymwirkung</b>					
<b>Material:</b>	Bechergläser (400 ml), Messzylinder (250 ml), Magnetrührer mit Heizplatte, Rührfisch, Thermometer, Pinzetten, Messpipetten (1 ml), Waage, Spatel, saugfähiges Papier, Fön, Pasteur-Pipette					
<b>Chemikalien:</b>	Lipase, Protease, Amylase, Wasser					
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ein Becherglas (400 ml) wird mit 200 ml Wasser, die anderen werden jeweils mit 200 ml 0,2%iger Enzym-Lösung gefüllt.</li> <li>• In jedes Glas wird ein Fleckentuch eingetaucht, das fünfte wird als unbehandelte Kontrolle aufgehoben.</li> <li>• Die Ansätze werden auf den Magnet-Heizrührern auf ca. 35 °C erwärmt und 15 min lang schwach gerührt (Temperaturkontrolle mit einem Thermometer).</li> <li>• Die Tücher werden mit der Pinzette entnommen und zum Antrocknen auf eine Lage saugfähiges Papier gelegt. Dann werden sie mit dem Fön getrocknet.</li> <li>• Die einzelnen Flecken werden miteinander verglichen.</li> </ul>					
<b>Beobachtung:</b>	Behandlung	unbehandelt	Wasser	Protease	Amylase	Lipase
	Ei-Fleck					
<b>Deutung:</b>						
<b>Erklärung:</b>						

3.4.9	<b>Experimentelle Mikrobiologie und Genetik</b> <b>Vergleich von Lab-Ferment und Chymosin</b>	L
<b>Versuch:</b>	<b>Vergleich von tierischem Lab-Ferment und gentechnisch hergestelltem Chymosin</b>	
<b>Zeitbedarf:</b>	ca. 25 min	
<b>Ziel:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erkennen, dass Lab-Proteasen Milch dicklegen</li> <li>• Erkennen, dass sich natürliches und gentechnisch hergestelltes Enzym nicht unterscheiden</li> </ul>	
<b>Material:</b>	Messzylinder (250 ml), Bechergläser (150 ml), Magnetrührer mit Heizplatte, Rührfisch, Thermometer, Spatel, Glasstab, Messpipetten (5 ml), Pipettierhilfe	
<b>Chemikalien:</b>	Frischmilch (3,5 %), Chymosin-Lösung (z. B. Chymax-Plus, Chr. Hansen GmbH), Lab-Ferment (z. B. Carl Roth, Nr. 8178.1) <sup>14</sup>	
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 200 ml Milch werden mit einem Messzylinder abgemessen, in ein Becherglas mit einem Rührfisch gegeben und unter Rühren und Temperatur-Kontrolle auf 42 °C erwärmt.</li> <li>• Die erwärmte Milch wird auf zwei Bechergläser verteilt.</li> <li>• Becherglas 1: Eine Spatelspitze Lab-Ferment zugeben, mit dem Glasstab umrühren und 5 min stehen lassen.</li> <li>• Becherglas 2: Mit der Messpipette 3 ml Chymosin-Lösung aufnehmen und in die warme Milch pipettieren. Die Milch dann noch 2 min weiterrühren.</li> </ul>	
<b>Beobachtung:</b>	<i>In beiden Bechergläsern bilden sich in der Milch Flocken, die sich absetzen. Die Milch gerinnt.</i>	
<b>Deutung:</b>	<i>Grundlage für die Gerinnung der Milch ist die Hydrolyse des Milcheiweißes Casein, die von den Proteasen katalysiert wird.</i>	
<b>Erklärung:</b>	<i>Die Peptidbindung wird unter Wasseranlagerung gespalten.</i>	
<b>Hintergrund:</b>	ausführliche Hintergrundinformation: <a href="http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm">http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm</a> (V 4.3.3)	
<b>Hinweise:</b>	Bestellungen: Chymosin-Lösung: Chymax-Plus (1 l): Chr. Hansen GmbH, Gr. Drakenburger Straße 93-97, 31582 Nienburg, Telefon: 05021 963 0, Fax: 05021 963 109, <a href="http://www.chr-hansen.de">http://www.chr-hansen.de</a> (online 05.03.2010). Lab-Ferment: Carl Roth GmbH, Schoemperlenstr. 3-5, 76185 Karlsruhe, Telefon 0721/5606-0, Telefax: 0721/5606-149, <a href="http://www.carlroth.de">www.carlroth.de</a> (online 05.03.2010)	

<sup>14</sup> Es sind die Produkte angegeben, mit denen die Experimente durchgeführt wurden. Die Verwendung von Alternativ-Produkten ist denkbar, aber nicht erprobt.

3.4.9	<b>Experimentelle Mikrobiologie und Genetik</b> <b>Vergleich von Lab-Ferment und Chymosin</b>		<b>S</b>
<b>Versuch:</b>	<b>Vergleich von tierischem Lab-Ferment und gentechnisch hergestelltem Chymosin</b>		
<b>Material:</b>	Messzylinder (250 ml), Bechergläser (150 ml), Magnetrührer mit Heizplatte, Rührfisch, Thermometer, Spatel, Glasstab, Messpipetten (5 ml), Pipettierhilfe		
<b>Chemikalien:</b>	Frischmilch (3,5 %), Chymosin-Lösung, Lab-Ferment		
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 200 ml Milch werden mit einem Messzylinder abgemessen, in ein Becherglas mit einem Rührfisch gegeben und unter Rühren und Temperatur-Kontrolle auf 42 °C erwärmt.</li> <li>• Die erwärmte Milch wird auf zwei Bechergläser verteilt.</li> <li>• Becherglas 1: Eine Spatelspitze Lab-Ferment zugeben, mit dem Glasstab umrühren und 5 min stehen lassen.</li> <li>• Becherglas 2: Mit der Messpipette 3 ml Chymosin-Lösung aufnehmen und in die warme Milch pipettieren. Die Milch dann noch 2 min weiterrühren.</li> </ul>		
<b>Beobachtung:</b>			
<b>Deutung:</b>			
<b>Erklärung:</b>			

3.5.10	<p style="text-align: center;"><b>Experimentelle Mikrobiologie und Genetik</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Hydrolyse von DNA und RNA, Nachweis der unterschiedlichen Zuckerbausteine</b></p>	<b>L</b>
<b>Vorbereitung:</b>	<b>Hydrolyse der Nukleinsäuren</b>	
<b>Zeitbedarf:</b>	15 min	
<b>Ziel:</b>	Vorbereitung der Nachweisreaktionen	
<b>Material:</b>	Waage, Spatel, Reagenzgläser, Reagenzglasständer, Becherglas (250 ml, hohe Form), Messpipetten (10 ml), Pipettierhilfen, Stoppuhr	
<b>Chemikalien:</b>	DNA (aus Lachssperma), RNA (aus Torilis spec.), Schwefelsäure (c = 1 mol/l)	
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Jeweils 3 mg DNA bzw. RNA werden mit 10 ml Schwefelsäure versetzt.</li> <li>• Die Lösungen werden für 10 min in ein siedendes Wasserbad (Becherglas auf der Heizplatte) gestellt.</li> <li>• Die Hydrolysate werden für die Folgeversuche bei 4 °C aufbewahrt.</li> </ul>	
<b>Versuch:</b>	<b>Nachweis der unterschiedlichen Zuckerbausteine</b>	
<b>Zeitbedarf:</b>	ca. 45 min (mit Vorbereitung)	
<b>Ziel:</b>	Erkennen, dass DNA und RNA sich in ihren Zuckerbausteinen unterscheiden	
<b>Material:</b>	Waage, Spatel, Reagenzgläser, Reagenzglasständer, Messkolben (100 ml), Messpipetten (0,1 ml, 1 ml, 5 ml), Magnetrührer mit Heizplatte, Pipettierhilfen, Stoppuhr	
<b>Chemikalien:</b>	Diphenylamin, konz. Schwefelsäure, Essigsäure, Orcin (1,3-Dihydroxy-5-methylbenzol), Eisen(III)-chlorid, konz. Salzsäure, DNA-Hydrolysat, RNA-Hydrolysat, Ribose-Lsg. (30 mg/100 ml), Desoxyribose (30 mg/100 ml), dest. Wasser	
<b>Vorbereitung (durch die Lehrkraft):</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Herstellung des Dische-Reagenz zum Nachweis der Desoxyribose (Achtung: Schutzbrille, Arbeit unter dem Abzug): 1 g Diphenylamin wird in 2,5 ml konz. Schwefelsäure gelöst und mit Essigsäure auf 100 ml aufgefüllt (im Dunkeln 1 Woche haltbar).</li> <li>• Herstellung des Orcin-Reagenz zum Nachweis der Ribose (Achtung: Schutzbrille, Arbeit unter dem Abzug): 0,2 g Orcin und 0,1 g Eisen(III)-chlorid werden in 100 ml konz. Salzsäure gelöst (im Dunkeln 1 Woche haltbar).</li> </ul>	
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Desoxyribose-Nachweis: Jeweils 1 ml DNA- bzw. RNA-Hydrolysat, Ribose-, Desoxyribose-Lsg. und Wasser werden mit 2 ml Dische-Reagenz versetzt und 5 min im siedenden Wasserbad erhitzt.</li> <li>• Ribose-Nachweis: Jeweils 0,1 ml DNA- bzw. RNA-Hydrolysat, Ribose-, Desoxyribose-Lsg. und Wasser werden mit 1 ml Orcin-Reagenz versetzt und 2 min im siedenden Wasserbad erhitzt.</li> </ul>	

<b>Beobachtung:</b>	Farbe der Lösungen:					
	Edukt	DNA-Hydrolysat	RNA-Hydrolysat	Desoxyribose	Ribose	Wasser
	Dische-R.	<i>blau</i>	<i>farblos</i>	<i>dunkelblau</i>	<i>farblos</i>	<i>farblos</i>
	Orcin-R.	<i>gelb</i>	<i>grün</i>	<i>gelb</i>	<i>grün</i>	<i>gelb</i>
<b>Deutung:</b>	<i>Das DNA-Hydrolysat enthält den DNA-Baustein Desoxyribose, das RNA-Hydrolysat den RNA-Baustein Ribose.</i>					
<b>Hintergrund:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Desoxyribose-Nachweis: Durch Säureeinwirkung entsteht aus Desoxyribose in nicht exakt geklärtem Mechanismus unter Wasserabspaltung <math>\omega</math>-Hydroxylävalinaldehyd (4-Keto-5-hydroxypentanal). Der Aldehyd reagiert mit Diphenylamin zu sechs chromatographisch trennbaren Produkten, von denen eines im sauren Milieu blau gefärbt ist.</li> </ul>					
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ribose-Nachweis: Ribose bildet im Säuren unter Wasserabspaltung Furfural (Furan-2-aldehyd), das mit Orcin unter der Bildung eines grünen Farbstoffs reagiert.</li> </ul>					
<b>Entsorgung:</b>	als organische Abfälle					
<b>Quelle:</b>	veränd. nach Wenck & Kruska (1988): <i>Experimentelle Chemie der Nucleinsäuren</i> . Aulis Verlag Deubner & Co, Köln					
<b>Hinweise:</b>	Die Orcin-Reaktion ist eigentlich nicht spezifisch für Ribose. Auch Desoxyribose ergibt einen grünen Farbstoff, allerdings nur mit 20 % der Extinktion bei gleicher Konzentration wie Ribose. Für qualitative Bestimmungen ist die Reaktion trotzdem einsetzbar, da nach 10 min DNA-Hydrolyse bzw. bei so kurzer Reaktionszeit (2 min) keine sichtbare Veränderung auftritt.					

3.5.10	<b>Experimentelle Mikrobiologie und Genetik</b>		<b>S</b>			
<b>Vorbereitung:</b>	<b>Hydrolyse der Nukleinsäuren</b>					
<b>Material:</b>	Waage, Spatel, Reagenzgläser, Reagenzglasständer, Becherglas (250 ml, hohe Form), Messpipetten (10 ml), Pipettierhilfen, Stoppuhr					
<b>Chemikalien:</b>	DNA (aus Lachssperma), RNA (aus Torilis spec.), Schwefelsäure (c = 1 mol/l)					
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Jeweils 3 mg DNA bzw. RNA werden mit 10 ml Schwefelsäure versetzt.</li> <li>• Die Lösungen werden für 10 min in ein siedendes Wasserbad (Becherglas auf der Heizplatte) gestellt.</li> <li>• Die Hydrolysate werden für die Folgeversuche bei 4 °C aufbewahrt.</li> </ul>					
<b>Versuch:</b>	<b>Nachweis der unterschiedlichen Zuckerbausteine</b>					
<b>Material:</b>	Waage, Spatel, Reagenzgläser, Reagenzglasständer, Messkolben (100 ml), Messpipetten (0,1 ml, 1 ml, 5 ml), Magnetrührer mit Heizplatte, Pipettierhilfen, Stoppuhr					
<b>Chemikalien:</b>	Diphenylamin, konz. Schwefelsäure, Essigsäure, Orcin (1,3-Dihydroxy-5-methylbenzol), Eisen(III)-chlorid, konz. Salzsäure, DNA-Hydrolysat, RNA-Hydrolysat, Ribose-Lsg. (30 mg/100 ml), Desoxyribose (30 mg/100 ml), dest. Wasser					
<b>Vorbereitung (durch die Lehrkraft):</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Herstellung des Dische-Reagenz zum Nachweis der Desoxyribose (Achtung: Schutzbrille, Arbeit unter dem Abzug): 1 g Diphenylamin wird in 2,5 ml konz. Schwefelsäure gelöst und mit Essigsäure auf 100 ml aufgefüllt (im Dunkeln 1 Woche haltbar).</li> <li>• Herstellung des Orcin-Reagenz zum Nachweis der Ribose (Achtung: Schutzbrille, Arbeit unter dem Abzug): 0,2 g Orcin und 0,1 g Fe(III)-chlorid werden in 100 ml konz. Salzsäure gelöst (im Dunkeln 1 Woche haltbar).</li> </ul>					
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Desoxyribose-Nachweis: Jeweils 1 ml DNA- bzw. RNA-Hydrolysat, Ribose-, Desoxyribose-Lsg. und Wasser werden mit 2 ml Dische-Reagenz versetzt und 5 min im siedenden Wasserbad erhitzt.</li> <li>• Ribose-Nachweis: Jeweils 0,1 ml DNA- bzw. RNA-Hydrolysat, Ribose-, Desoxyribose-Lsg. und Wasser werden mit 1 ml Orcin-Reagenz versetzt und 2 min im siedenden Wasserbad erhitzt.</li> </ul>					
<b>Beobachtung:</b>	Farbe der Lösungen:					
	Edukt	DNA-Hydrolysat	RNA-Hydrolysat	Desoxyribose	Ribose	Wasser
	Dische-R.					
	Orcin-R.					
<b>Deutung:</b>						

3.5.15	<b>Experimentelle Mikrobiologie und Genetik</b> <b>Isolierung von Alginaten und Immobilisierung von <math>\beta</math>-Galactosidase</b>	<b>L</b>
<b>Zeitbedarf:</b>	ca. 30 min Vorbereitung, dann Abkühlung des Alginate-Sols auf RT, eigentliche Durchführung 20 min	
<b>Ziel:</b>	Erkennen, dass sich Stoffe spezifisch in Gelkugeln immobilisieren lassen	
<b>Vorbereitung:</b>	<b>Herstellung eines Natriumalginat-Sols</b>	
<b>Material:</b>	Becherglas (250 ml), Messzylinder (100 ml), Glasstab, Magnetrührer mit Heizplatte, Rührfisch, Thermometer, Haushaltssieb, Waage, Spatel, evtl. Schutzhandschuh	
<b>Chemikalien:</b>	Natriumalginat (z. B. Danisco: Grindsted Alginate FD 120) <sup>15</sup> , dest. Wasser	
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Für die Herstellung von 100 ml 2%ige Natriumalginat-Lösung werden im 250 ml-Becherglas zunächst 90 ml Wasser unter Rühren mittels Magnetrührer und Rührfisch auf 70 °C erwärmt.</li> <li>• Nach dem Abstellen des Heizers wird die Rührgeschwindigkeit so stark erhöht, dass sich um den Rührfisch ein Wirbel bildet. Mithilfe des Haushaltssiebs siebt man nun portionsweise 2 g Natriumalginat auf die Wirbeloberfläche und rührt so lange weiter, bis sich das Algenpolysaccharid vollständig gelöst hat.</li> <li>• Die Beseitigung kleinerer Alginat-Klumpen, deren Bildung kaum vermeidbar ist, lässt sich durch Einsatz eines Glasstabes beschleunigen.</li> <li>• Nachdem das homogenisierte Sol auf Raumtemperatur abgekühlt ist, entfernt man den Rührfisch und den benutzten Glasstab (Abspülen!), füllt bis zur 100 ml-Marke mit Wasser auf und durchmischt nochmals mit einem sauberen Glasstab.</li> <li>• Die so hergestellte Natriumalginat-Lösung wird im eigentlichen Versuch eingesetzt.</li> </ul>	
<b>Beobachtung:</b>	<i>Es bildet sich eine gelbliche, viskose Flüssigkeit.</i>	
<b>Deutung:</b>	<i>Aufgrund ihrer Länge bilden die Alginat-Ketten in der Wärme eine kolloidale Lösung.</i>	
<b>Versuch:</b>	<b>Immobilisierung von Stoffen in Calciumalginat-Kugeln</b>	
<b>Material:</b>	Spritzen (10 ml), Bechergläser (50 ml, 100 ml), Glasstab, Haushaltssieb, saugfähiges Papier (z. B. Küchenrolle)	
<b>Chemikalien:</b>	Natriumalginat-Lösung, Lebensmittelfarbstoffe (z. B. von Hedinger), Galactosidase-Kapseln (z. B. „Enzym Lactase für eine gesunde Ernährung“, Firma Pro Natura (Bezug: Apotheke, Drogerie)), Calciumchlorid-Lösung (c = 0,2 mol/l), dest. Wasser <sup>17</sup>	

<sup>15</sup> Es ist das Produkt angegeben, mit dem die Experimente durchgeführt wurden. Die Verwendung von Alternativ-Produkten ist denkbar, aber nicht erprobt.

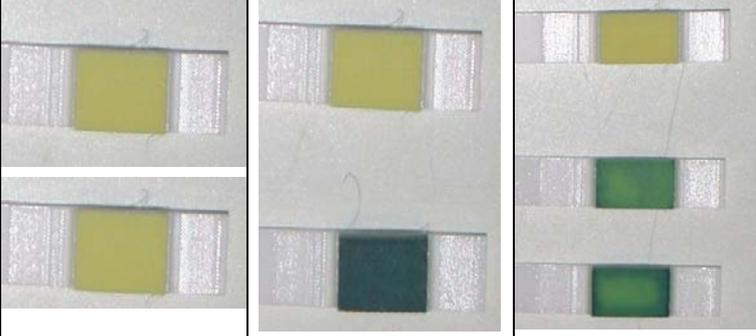
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Die Natriumalginat-Lösung wird bis zur 10 ml-Markierung in die notwendige Anzahl von 50 ml-Bechergläsern eingefüllt.</li> </ul> <p>Versuchsvarianten:</p> <p>a) Lebensmittelfarbstoffe: In die Lösung wird bis zur gewünschten Färbung Lebensmittelfarbstoff eingetropf.</p> <p>b) <math>\beta</math>-Galactosidase: Die Lösung wird mit dem Inhalt einer geöffneten <math>\beta</math>-Galactosidase-Kapsel versetzt. Dazu zieht man die Kapselhälften mit den Fingern auseinander, überführt den pulverförmigen Inhalt möglichst vollständig in das Becherglas und verrührt sorgfältig mit dem Glasstab, bis eine gleichmäßige Suspension entstanden ist.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>In beiden Fällen werden die Alginat-Mischungen anschließend über dem mit 40 ml Calciumchlorid-Lösung gefüllten 100 ml-Becherglas in eine Spitze gegossen und so in diese Lösung eingetropf. Da die Tropfgeschwindigkeit der in der Spritze befindlichen Mischung mit sinkendem Flüssigkeitsstand abnimmt, ist es ratsam, das Austreten der letzten Tropfen durch den Einsatz des Kolbens zu beschleunigen.</li> </ul>				
<b>Beobachtung:</b>	<i>Beim Eintropfen bilden sich Kugeln, die sich nach kurzer Zeit am Boden absetzen.</i>				
<b>Fortführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nach 10 min werden die Kugeln unter Einsatz eines Haushaltssiebes von den Gelierbädern getrennt.</li> <li>Die im Sieb befindlichen Kugeln spült man gründlich mit entionisiertem Wasser aus der Spritzflasche ab und tupft sie vorsichtig mit einem unter das Sieb gehaltenen Stück Küchenrolle trocken.</li> </ul>				
<b>Beobachtung:</b>	Alginat-Mischung	Farbe 1	Farbe 2	Farbe 3	Enzym
	Aussehen der Kugeln				
	<p>Bsp.: </p>				
<b>Deutung:</b>	<i>In den Kugeln sind Farbstoffe bzw. das Enzym verkapselt und damit immobilisiert worden.</i>				
<b>Entsorgung:</b>	in den Ausguss geben				
<b>Quelle:</b>	selbst entwickelt bzw. veränd. nach Dissertation Marburger: <a href="http://archiv.ub.uni-marburg.de/diss/z2004/0110/pdf/dam.pdf">http://archiv.ub.uni-marburg.de/diss/z2004/0110/pdf/dam.pdf</a> (online 05.03.2010)				
<b>Hintergrund:</b>	<p>Anwendungen von Alginaten:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Natrium- und Kalium-Alginat: Lebensmittelindustrie zum Backen, für fettarme Brotaufstriche, Fruchtfüllungen und Saucen;</li> <li>Calcium-Alginat: Tablettenherstellung, Medikamente zum Wundverschluss (Immobilisierung von Enzymen und anderen Wirkstoffen).</li> </ul>				
<b>Hinweise:</b>	Nicht alle Lebensmittelfarbstoffe lassen sich in Calcium-Alginaten immobilisieren.				

3.5.15	<b>Experimentelle Mikrobiologie und Genetik</b> <b>Isolierung von Alginaten und Immobilisierung von <math>\beta</math>-Galactosidase</b>	<b>S</b>
<b>Vorbereitung:</b>	<b>Herstellung eines Natriumalginat-Sols</b>	
<b>Material:</b>	Becherglas (250 ml), Messzylinder (100 ml), Glasstab, Magnetrührer mit Heizplatte, Rührfisch, Thermometer, Haushaltssieb, Waage, Spatel, evtl. Schutzhandschuh	
<b>Chemikalien:</b>	Natriumalginat, dest. Wasser	
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Für die Herstellung von 100 ml 2%ige Natriumalginat-Lösung werden im 250 ml-Becherglas zunächst 90 ml Wasser unter Rühren mittels Magnetrührer und Rührfisch auf 70 °C erwärmt.</li> <li>• Nach dem Abstellen des Heizers wird die Rührgeschwindigkeit so stark erhöht, dass sich um den Rührfisch ein Wirbel bildet. Mithilfe des Haushaltssiebs siebt man nun portionsweise 2 g Natriumalginat auf die Wirbeloberfläche und rührt so lange weiter, bis sich das Algenpolysaccharid vollständig gelöst hat.</li> <li>• Die Beseitigung kleinerer Alginat-Klumpen, deren Bildung kaum vermeidbar ist, lässt sich durch Einsatz eines Glasstabes beschleunigen.</li> <li>• Nachdem das homogenisierte Sol auf Raumtemperatur abgekühlt ist, entfernt man den Rührfisch und den benutzten Glasstab (Abspülen!), füllt bis zur 100 ml-Marke mit Wasser auf und durchmischt nochmals mit einem sauberen Glasstab.</li> <li>• Die so hergestellte Natriumalginat-Lösung wird im eigentlichen Versuch eingesetzt.</li> </ul>	
<b>Beobachtung:</b>		
<b>Deutung:</b>		
<b>Versuch:</b>	<b>Immobilisierung von Stoffen in Calciumalginat-Kugeln</b>	
<b>Material:</b>	Spritzen (10 ml), Bechergläser (50 ml, 100 ml), Glasstab, Haushaltssieb, saugfähiges Papier (z. B. Küchenrolle)	
<b>Chemikalien:</b>	Natriumalginat-Lösung, Lebensmittelfarbstoffe, Galactosidase-Kapseln, Calciumchlorid-Lösung (c = 0,2 mol/l), dest. Wasser	
<b>Durchführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Die Natriumalginat-Lösung wird bis zur 10 ml-Markierung in die notwendige Anzahl von 50 ml-Bechergläsern eingefüllt.</li> </ul> <p>Versuchsvarianten:</p> <p>a) Lebensmittelfarbstoffe: In die Lösung wird bis zur gewünschten Färbung Lebensmittelfarbstoff eingetrofft.</p> <p>b) <math>\beta</math>-Galactosidase: Die Lösung wird mit dem Inhalt einer geöffneten <math>\beta</math>-Galactosidase-Kapsel versetzt. Dazu zieht man die Kapselhälften mit den Fingern auseinander, überführt den pulverförmigen Inhalt möglichst vollständig in das Becherglas und verrührt sorgfältig mit dem Glasstab, bis eine</p>	

	<p>gleichmäßige Suspension entstanden ist.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>In beiden Fällen werden die Alginat-Mischungen anschließend über dem mit 40 ml Calciumchlorid-Lösung gefüllten 100 ml-Becherglas in eine Spitze gegossen und so in diese Lösung eingetroppt. Da die Tropfgeschwindigkeit der in der Spritze befindlichen Mischung mit sinkendem Flüssigkeitsstand abnimmt, ist es ratsam, das Austreten der letzten Tropfen durch den Einsatz des Kolbens zu beschleunigen.</li> </ul>				
<b>Beobachtung:</b>					
<b>Fortführung:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nach 10 min werden die Kugeln unter Einsatz eines Haushaltssiebes von den Gelierbädern getrennt.</li> <li>Die im Sieb befindlichen Kugeln spült man gründlich mit entionisiertem Wasser aus der Spritzflasche ab und tupft sie vorsichtig mit einem unter das Sieb gehaltenen Stück Küchenrolle trocken.</li> </ul>				
<b>Beobachtung:</b>	Alginat-Mischung	Farbe 1	Farbe 2	Farbe 3	Enzym
	Aussehen der Kugeln				
<b>Deutung:</b>					

3.5.16	<p style="text-align: center;"><b>Experimentelle Mikrobiologie und Genetik</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Nutzung von Enzymen: <math>\beta</math>-Galactosidase</b></p>	<b>L</b>
<b>Zeitbedarf:</b>	Vorbereitung: Versuch Immobilisierung von $\beta$ -Galactosidase; die eigentliche Durchführung ca. 45 Minuten, Teilversuche möglich	
<b>Ziel:</b>	Erkennen, dass bei der Spaltung des Disaccharids Lactose durch das Enzym $\beta$ -Galactosidase Glucose gebildet wird	
<b>Material:</b>	Bechergläser (50 ml, 100 ml), Messzylinder (10 ml), Glasstab, Stoppuhr	
<b>Chemikalien:</b>	Immobilisat und Gelierbad von $\beta$ -Galactosidase in Calciumalginat aus Versuch „Immobilisierung von $\beta$ -Galactosidase“, $\beta$ -Galactosidase-Kapseln („Enzym Lactase für eine gesunde Ernährung“, z. B. Firma Pro Natura, Apotheke), Lactose-Monohydrat-Lösung ( $\rho^* = 52,6 \text{ g/l}$ ), Glucose-Teststäbchen für halbquantitative Nachweise (Apotheke) <sup>16</sup>	
<b>Durchführung:</b>		
<b>1:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 50-ml-Bechergläser werden mit 10 ml Lactose-Lsg. gefüllt.</li> <li>• In die drei Lösungen wird jeweils ein Glucose-Teststäbchen getaucht, die Glucose-Konzentration festgestellt und in die Beobachtungstabelle eingetragen (<math>t = 0</math>).</li> </ul>	
<b>2:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Das erste Becherglas wird unverändert gelassen (negative Kontrolle).</li> <li>• Im zweiten Becherglas wird die enzymatische Aktivität von freier (= nicht immobilisierter) <math>\beta</math>-Galactosidase untersucht (positive Kontrolle): In das zweite Becherglas wird möglichst quantitativ der Inhalt einer <math>\beta</math>-Galactosidase-Kapsel gegeben, die Stoppuhr wird in Gang gesetzt und die Mischung gründlich mit einem Glasstab verrührt, bis die <math>\beta</math>-Galactosidase-Partikel gleichmäßig verteilt sind.</li> <li>• Nach 5 und 10 Minuten wird der Glucose-Gehalt der beiden Bechergläser jeweils mit einem Teststäbchen untersucht und entsprechend der Gebrauchsanweisung durch Farbvergleich mit der Skala auf dem Teststreifen-Behälter ausgewertet.</li> </ul>	
<b>3:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Im dritten Becherglas wird die enzymatische Aktivität von immobilisierter <math>\beta</math>-Galactosidase untersucht (Testansatz): Dazu werden die Calcium-Alginat-Immobilisat-Kugeln aus dem Immobilisierungsversuch zu dem dritten Becherglas gegeben.</li> <li>• Wieder wird jeweils nach Reaktionszeiten von 5 und 10 Minuten auf die oben beschriebene Weise der Glucose-Gehalt des Gemisches mit einem Teststäbchen überprüft.</li> </ul>	

<sup>16</sup> Es ist das Produkt angegeben, mit dem die Experimente durchgeführt wurden. Die Verwendung von Alternativ-Produkten ist denkbar, aber nicht erprobt.

<b>Beobachtung:</b>	beispielhafte Ergebnisse:			
		$\rho^*$ (Glucose) (mg/100 ml)		
			Lactose-Lsg	
	t (min)	ohne Enzym	mit freiem Enzym	mit immobil. Enzym
	0	0	0	0
	5	0	1000	< 300
	10	n.b.	n.b.	< 300
	n.b.: nicht bestimmt			
<b>Deutung:</b>	Unabhängig von der Art der Enzymzugabe lässt sich die Bildung von Glucose in der Lactose-Lösung nachweisen.			
<b>Erklärung:</b>	Das Disaccharid Lactose (4-( $\beta$ -D-Galactopyranosyl)-D-glucopyranose) wird durch Hydrolyse katalytisch in die Monosaccharide Galactose und Glucose gespalten. Die Glucose wird durch einen Glucose-Oxidase-Test nachgewiesen.			
<b>Entsorgung:</b>	in den Abguss geben			
<b>Quelle:</b>	selbst entwickelt bzw. verändert. nach Dissertation Marburger <a href="http://archiv.ub.uni-marburg.de/diss/z2004/0110/pdf/dam.pdf">http://archiv.ub.uni-marburg.de/diss/z2004/0110/pdf/dam.pdf</a> (online 05.03.2010)			
<b>Hinweis:</b>	Als Ergänzung können das Gelierbad des Immobilisierungsversuches, aber auch Milch und/oder Milchprodukte getestet werden, z. B. Frischmilch oder Molke.			
<b>Hintergrund:</b>	ausführliche Hintergrundinformation: <a href="http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm">http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm</a> (V 4.3.4)			
<b>www:</b>	Biochemistry online: <a href="http://employees.csbsju.edu/hjakubowski/classes/ch331/cho/monosaccharides.htm">http://employees.csbsju.edu/hjakubowski/classes/ch331/cho/monosaccharides.htm</a> , online 05.03.2010 $\beta$ -Galactosidase: <a href="http://www.expasy.ch/enzyme/3.2.1.23">http://www.expasy.ch/enzyme/3.2.1.23</a> , online 05.03.2010			

3.5.16	<b>Experimentelle Mikrobiologie und Genetik</b> <b>Nutzung von Enzymen: <math>\beta</math>-Galactosidase</b>	S
--------	---	---

<b>Material:</b>	Bechergläser (50 ml, 100 ml), Messzylinder (10 ml), Glasstab, Stoppuhr		
<b>Chemikalien:</b>	Immobilisat und Gelierbad von $\beta$ -Galactosidase in Calciumalginat aus Versuch „Immobilisierung von $\beta$ -Galactosidase“, $\beta$ -Galactosidase-Kapseln („Enzym Lactase für eine gesunde Ernährung“, z. B. Firma Pro Natura, Apotheke), Lactose-Monohydrat-Lösung ( $\rho^* = 52,6$ g/l), Glucose-Teststäbchen für halbquantitative Nachweise (Apotheke) <sup>17</sup>		
<b>Durchführung</b>			
<b>1:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 50-ml-Bechergläser werden mit 10 ml Lactose-Lsg. gefüllt.</li> <li>• In die drei Lösungen wird jeweils ein Glucose-Teststäbchen getaucht, die Glucose-Konzentration festgestellt und in die Beobachtungstabelle eingetragen (t=0).</li> </ul>		
<b>2:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Das erste Becherglas wird unverändert gelassen (negative Kontrolle).</li> <li>• Im zweiten Becherglas wird die enzymatische Aktivität von freier (= nicht immobilisierter) <math>\beta</math>-Galactosidase untersucht (positive Kontrolle): In das zweite Becherglas wird möglichst quantitativ der Inhalt einer <math>\beta</math>-Galactosidase-Kapsel gegeben, die Stoppuhr wird in Gang gesetzt, und die Mischung gründlich mit einem Glasstab verrührt, bis die <math>\beta</math>-Galactosidase-Partikel gleichmäßig verteilt sind.</li> <li>• Nach 5 und 10 Minuten wird der Glucose-Gehalt der beiden Bechergläser jeweils mit einem Teststäbchen untersucht und entsprechend der Gebrauchsanweisung durch Farbvergleich mit der Skala auf dem Teststreifen-Behälter ausgewertet.</li> </ul>		
<b>3:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Im dritten Becherglas wird die enzymatische Aktivität von immobilisierter <math>\beta</math>-Galactosidase untersucht (Testansatz): Dazu werden die Calcium-Alginat-Immobilisat-Kugeln aus dem Immobilisierungsversuch zu dem dritten Becherglas gegeben.</li> <li>• Wieder wird jeweils nach Reaktionszeiten von 5 und 10 Minuten auf die oben beschriebene Weise der Glucose-Gehalt des Gemisches mit einem Teststäbchen überprüft.</li> </ul>		
<b>Beobachtung:</b>	beispielhafte Ergebnisse:		
		$\rho^*$ (Glucose) (mg/100 ml)	
			Lactose-Lsg
	t (min)	ohne Enzym	mit freiem Enzym
	0		
	5		
	10		
<b>Deutung:</b>			
<b>Erklärung:</b>			

<sup>17</sup> Es ist das Produkt angegeben, mit dem die Experimente durchgeführt wurden. Die Verwendung von Alternativ-Produkten ist denkbar, aber nicht erprobt.

## 5 Zusätzliche Informationen

### 5.1 Schülerlabore

Über die in der Schule realisierbaren Beobachtungen, Untersuchungen und Experimente hinaus gibt es zahlreiche Tätigkeiten, die in der Schule nicht durchführbar sind, die aber als Ergänzung zum Biologieunterricht äußerst wertvoll sind. Viele Forschungsinstitute und Universitäten in Bayern bieten in dafür geeigneten Laborräumen Experimente für Schulklassen aller Jahrgangsstufen an, die in den Schulen in dieser Form nicht möglich sind. Den beteiligten Institutionen ist es ein besonderes Anliegen, Kinder und Jugendliche für naturwissenschaftliche Themen zu interessieren und über eigene praktische Erfahrungen dafür zu begeistern. Zudem bieten manche der Einrichtungen mobile Labor-Systeme auf Ausleihbasis an.

Für Bayern bietet die Homepage von SchullaborBayern (<http://www.slb.bayern.de>, online 05.03.2010) einen Überblick über das Angebot bayerischer Schülerlabore. Daneben werden auch Veranstaltungen der beteiligten Institutionen in einem fortlaufend aktualisierten Kalender zusammengefasst.

Übersicht für angrenzende Bundesländer und deutschlandweite Initiativen zum Thema Schülerlabore (alle online 05.03.2010).

- Dresden: [Gläsernes Labor](#) im [Deutschen Hygienemuseum](#)
- Dresden: [BIO-TE|A|CH](#) im BiInnovations-Zentrum Dresden
- Frankfurt: [Genomix](#), das Biotechnologie-Praktikum von sanofi-aventis
- Ulm: [NUGI](#), das Netzwerk Universität - Gymnasien – Industrie
- Genlabor und Schule ([http://www.genlabor-schule.de/cgi-bin/s\\_357.cgi?V\\_ac=l05](http://www.genlabor-schule.de/cgi-bin/s_357.cgi?V_ac=l05))
- LeLA: Lernort Labor (<http://www.lernort-labor.de/AllLabs.php?fl=5&tl=2>)
- Mobiles Labor: [BIOTEchnikum](#) on tour

### 5.2 Definitionen Gentechnik

- Schmid, R. D. (2002): *Taschenatlas der Biotechnologie und Gentechnik*. Weinheim, S. 215:  
„Die verschiedenen Anwendungen der Gentechnik setzen die Beherrschung verschiedener Techniken voraus. Dazu gehören insbesondere: 1. die Isolierung, Vervielfältigung, enzymatische Modifikation, Charakterisierung, Sequenzierung und chemische Synthese von DNA, und 2. die Klonierung und Expression von DNA in pro- und eukaryotischen Zellen.“
- Caesar, P. (1990): *Gentechnologie – Herausforderung für Ethik und Recht*. Heidelberg, S. 15:  
„Gentechnik beschreibt die Gesamtheit der Verfahren zur Charakterisierung, Isolierung und Neukombination von Erbinformation sowie zur Vermehrung des neukombinierten Materials und seine Übertragung auf andere Organismen. Dabei können Artgrenzen überschritten werden.“
- Hampl et al. (2001): *Biologie. z.e.u.S. Materialien*. Köln, Band 5:  
S. 176 f.: „Analyse und Neukombination der DNA“  
S. 200 f.: „Neukombination von Nukleinsäuren, Proteinherstellung, transgene Tiere, transgene Pflanzen, Gendiagnostik, somatische Gentherapie“

- Gesetz zur Regelung der Gentechnik ([Gentechnikgesetz - GenTG](#)) (vom 16. Dezember 1993, zuletzt geändert am 21. Dezember 2004 BGBl I S. 186):

„§ 3 Begriffsbestimmungen

Im Sinne dieses Gesetzes sind

1. Organismus  
jede biologische Einheit, die fähig ist, sich zu vermehren oder genetisches Material zu übertragen, einschließlich Mikroorganismen,
- 1a. Mikroorganismen  
Viren, Viroide, Bakterien, Pilze, mikroskopisch-kleine ein- oder mehrzellige Algen, Flechten, andere eukaryotische Einzeller oder mikroskopisch-kleine tierische Mehrzeller sowie tierische und pflanzliche Zellkulturen,
2. gentechnische Arbeiten
  - a) die Erzeugung gentechnisch veränderter Organismen,
  - b) die Vermehrung, Lagerung, Zerstörung oder Entsorgung sowie der innerbetriebliche Transport gentechnisch veränderter Organismen sowie deren Verwendung in anderer Weise, soweit noch keine Genehmigung für die Freisetzung oder das Inverkehrbringen zum Zweck des späteren Ausbringens in die Umwelt erteilt wurde,
3. gentechnisch veränderter Organismus  
genetisches Material in einer Weise verändert worden ist, wie sie unter natürlichen Bedingungen durch Kreuzen oder natürliche Rekombination nicht vorkommt; ein gentechnisch veränderter Organismus ist auch ein Organismus, der durch Kreuzung oder natürliche Rekombination zwischen gentechnisch veränderten Organismen oder mit einem oder mehreren gentechnisch veränderten Organismen oder durch andere Arten der Vermehrung eines gentechnisch veränderten Organismus entstanden ist, sofern das genetische Material des Organismus Eigenschaften aufweist, die auf gentechnische Arbeiten zurückzuführen sind,
- 3a. Verfahren der Veränderung genetischen Materials in diesem Sinne sind insbesondere
  - a) Nukleinsäure-Rekombinationstechniken, bei denen durch die Einbringung von Nukleinsäuremolekülen, die außerhalb eines Organismus erzeugt wurden, in Viren, Viroide, bakterielle Plasmide oder andere Vektorsysteme neue Kombinationen von genetischem Material gebildet werden und diese in einen Wirtsorganismus eingebracht werden, in dem sie unter natürlichen Bedingungen nicht vorkommen,
  - b) Verfahren, bei denen in einen Organismus direkt Erbgut eingebracht wird, welches außerhalb des Organismus hergestellt wurde und natürlicherweise nicht darin vorkommt, einschließlich Mikroinjektion, Makroinjektion und Mikroverkapselung,
  - c) Zellfusionen oder Hybridisierungsverfahren, bei denen lebende Zellen mit neuen Kombinationen von genetischem Material, das unter natürlichen Bedingungen nicht darin vorkommt, durch die Verschmelzung zweier oder mehrerer Zellen mit Hilfe von Methoden gebildet werden, die unter natürlichen Bedingungen nicht vorkommen,
- 3b. nicht als Verfahren der Veränderung genetischen Materials gelten
  - a) In-vitro-Befruchtung,
  - b) natürliche Prozesse wie Konjugation, Transduktion, Transformation,
  - c) Polyploidie-Induktion,

es sei denn, es werden gentechnisch veränderte Organismen verwendet oder rekombinante Nukleinsäuremoleküle, die im Sinne von den Nummern 3 und 3a hergestellt wurden, eingesetzt.

Weiterhin gelten nicht als Verfahren der Veränderung genetischen Materials

- a) Mutagenese und
  - b) Zellfusion (einschließlich Protoplastenfusion) von Pflanzenzellen von Organismen, die mittels herkömmlicher Züchtungstechniken genetisches Material austauschen können,  
es sei denn, es werden gentechnisch veränderte Organismen als Spender oder Empfänger verwendet,
- 3c. sofern es sich nicht um ein Vorhaben der Freisetzung oder des Inverkehrbringens handelt und sofern keine gentechnisch veränderten Organismen als Spender oder Empfänger verwendet werden, gelten darüber hinaus nicht als Verfahren der Veränderung genetischen Materials
- a) Zellfusion (einschließlich Protoplastenfusion) prokaryotischer Arten, die genetisches Material über bekannte physiologische Prozesse austauschen,
  - b) Zellfusion (einschließlich Protoplastenfusion) von Zellen eukaryotischer Arten, einschließlich der Erzeugung von Hybridomen und der Fusion von Pflanzenzellen,
  - c) Selbstklonierung nicht pathogener, natürlich vorkommender Organismen, bestehend aus
    - aa) der Entnahme von Nukleinsäuresequenzen aus Zellen eines Organismus,
    - bb) der Wiedereinführung der gesamten oder eines Teils der Nukleinsäuresequenz (oder eines synthetischen Äquivalents) in Zellen derselben Art oder in Zellen phylogenetisch eng verwandter Arten, die genetisches Material durch natürliche physiologische Prozesse austauschen können, und
    - cc) einer eventuell vorausgehenden enzymatischen oder mechanischen Behandlung.Zur Selbstklonierung kann auch die Anwendung von rekombinanten Vektoren zählen, wenn sie über lange Zeit sicher in diesem Organismus angewandt wurden, [...]“ ([http://bundesrecht.juris.de/gentg/\\_3.html](http://bundesrecht.juris.de/gentg/_3.html), online 05.03.2010)

## 6 Literaturangaben

- Bayrhuber, H., & Lucius, E. R. (Hrsg.) (1992): *Handbuch der praktischen Mikrobiologie und Biotechnik. Band 1. Mikrobiologische Grundlagen, Biotechnik der Nahrungs- und Genußmittelproduktion*. Hannover: Metzler Schulbuch
- Bayrhuber, H., & Lucius, E. R. (Hrsg.) (1997): *Handbuch der praktischen Mikrobiologie und Biotechnik. Band 2. Nutzung von Enzymen in der Biotechnik, Gentechnik, Pflanzliche Zell- und Gewebekulturen*. Hannover: Metzler Schulbuch
- Bennetto, H. P. (1990): *Electricity generation by micro-organisms*. *Biotechnology Education*, 1 (4), 163-168
- Bio-Rad Laboratories (Hrsg.) (o.J.): *Biotechnology Explorer. pGLO Bacterial Transformation Kit*. Hercules CA
- Bunk, B., & Tausch, J. (1973): *Moderne Biologie im Unterricht. Bakteriologie mit einfachen Mitteln*. Braunschweig: Westermann
- Caesar, P. (Hrsg.) (1990): *Gentechnologie - Herausforderung für Ethik und Recht. Thesen der Bioethik-Kommission Rheinland-Pfalz*. Heidelberg: Hüthig Buch
- Freytag, K. (1973): *Schulversuche zur Bakteriologie*. Köln: Aulis Verlag Deubner
- Füller, F. (1988): *Biologisches Praktikum*. Bamberg: C.C. Buchners
- Hammelev, D., Madden, D., Norby, S., Turner, J. (1998): *DNA-Profilanalyse. Einheit 2, European Initiative for Biotechnology Education*. Online 05.03.2010 (URL: <http://www.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT02DE.PDF>)
- Hampl, U., Beyer, P. K., Freytag, K., Wisniewski, H. (2001): *z.e.u.S. Materialien Biologie, Band 5, Genetik*. Köln: Aulis Verlag Deubner
- Hampl, U., Pohndorf, P., Rehbach, R., Wieber, R., Wisniewski, H., Zitzmann, J.J. et al. (2005): *Realschule Bayern. Biologie 10*. Cornelsen, Berlin
- Heinze, R., Müller, M. (2009): *Die PCR als "einfaches" Schulexperiment*. *Der mathematische und naturwissenschaftliche Unterricht*, 62 (2), 98-102
- Hübner, S., Bogner, F. X. (o.J.): *Experimentierkurs IV Mikrobiologische Schulversuche*. Unveröffentlichtes Manuskript, Universität Bayreuth
- Jaenicke, J. (Hrsg.) (2000): *Materialien-Handbuch Kursunterricht Biologie, Band 5/II, Genetik (II)*. Köln: Aulis Verlag Deubner
- Lippert, I. (1999): *Facharbeit über die Durchführbarkeit der Polymerase Kettenreaktion und über die Optimierung einer Polymerase Kettenreaktion*. Unveröffentlichtes Manuskript, Integrierte Gesamtschule Mainz, online 05.03.2010: <http://www.erm.tu-cottbus.de/~lippein/horizon/science/contents/projects/jufo/pcr-arbeit.htm>
- Lucius, E. R., Adley, C., Frings, J., Leonhard, C., Madden, D., Müller, M. et al (1998): *Mikroorganismen und Moleküle. Einheit 1, European Initiative for Biotechnology Education*. Online 05.03.2010 (URL: <http://www.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT01DE.PDF>)
- Lüdemann, H., Nellen, U., Prella, H., Habsch, F., Radetzky, S. (1997): *Herbizidresistente Pflanzen: Ein Züchtungsziel durch Gentechnik in der Landwirtschaft. Biotechnik im Sekundarbereich I; Unterrichtsmaterialien für Realschulen, Gesamtschulen, Gymnasien, Band 4*, 1. Auflage, Gehrden: Dekla-Verlag
- Müller, M., Braun, G. (2008): *DNA-Extraktion aus Mundschleimhautzellen*. *MNU*, 61 (1), 47-48
- Rösch, A. (o.J.): *Mikrobiologische Übungen. Teil A*. Unveröffentlichtes Manuskript, Lehrstuhl für Mikrobiologie, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Online 05.03.2010 (URL: <http://www.uni-bayreuth.de/departments/didaktik-bio/genlabor/materialien.htm>)
- Scharfenberg, F.- J. (2006): *Schulbezogene Experimente zur Bio- und Gentechnik*. Materialien zur RLFB Oberfranken vom 2.2.2006, unveröffentlichtes Manuskript, Universität Bayreuth
- Scherr, D., Werel, R. (2005): *Experimente rund um die Milch. Biotechnologie in der Schule*. *Biologie in unserer Zeit*, 35 (6), 414-418

- Scherr, M., Scherr, D. (2001): *Polymerase-Kettenreaktion für den Unterricht. Gentechnik im Schulversuch*. *Biologie in unserer Zeit*, 31 (3), 194-198
- Schmid, R. D. (2002): *Taschenatlas der Biotechnologie und Gentechnik*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag
- Storrer, J., Rohrmann, S. (2001): *Abfallverwertung nach dem Vorbild der Natur. Versuche zur mikrobiellen Kompostierung*. *Biologie in unserer Zeit*, 31 (2), 116-122
- Tan et al. (2007): *Gel Electrophoresis - DNA science without the DNA!* *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 35 (5), 342–349
- Wenck, H., Kruska, G. (1988): *Experimentelle Chemie der Nucleinsäuren*. Köln: Aulis Verlag Deubner

## **7 Bildnachweise**

Die Photographien und Zeichnungen stammen von F.-J. Scharfenberg.