

DNA-onderzoek



Vorige keer:

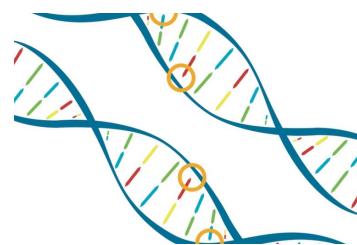
- Wat zijn DNA en genen?
- Erfelijke eigenschappen
- Eerste deel DNA-practicum

Vandaag:

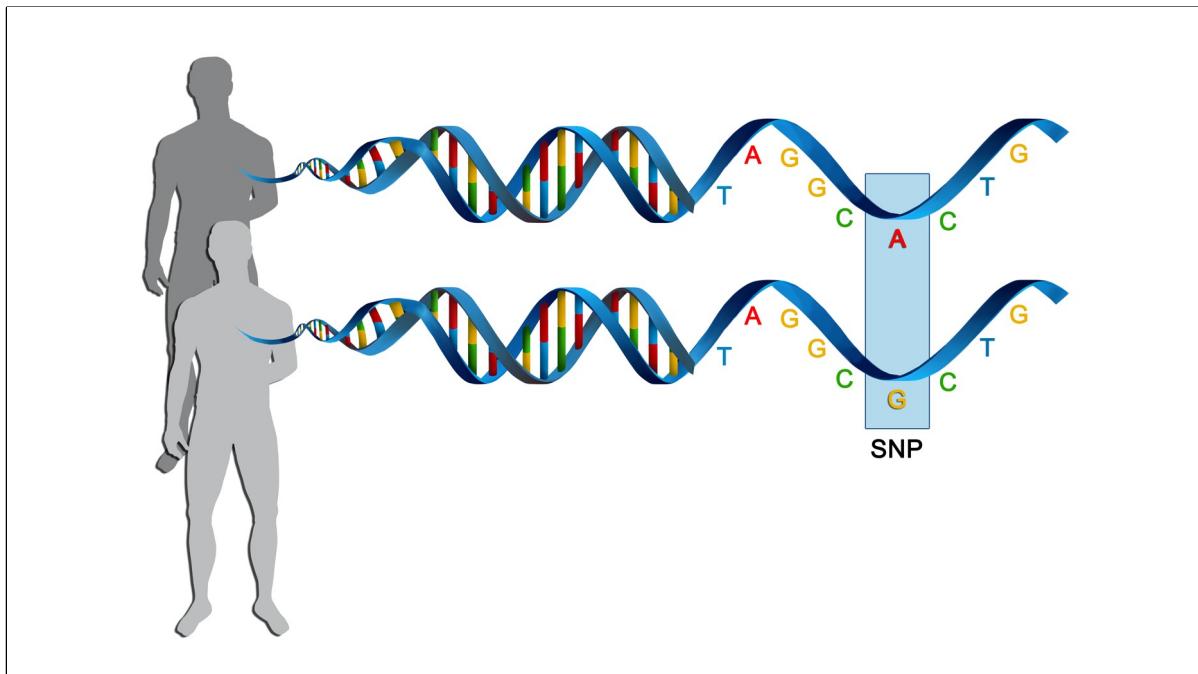
- Verschillen in het DNA
- Wat kan je onderzoeken met DNA?
- Tweede deel DNA-practicum

Verschillen in het DNA

- Ongeveer 0,1% van ons DNA verschilt van andere mensen
- Deze verschillen bestaan o.a. uit ontbrekende of juist uit extra stukken DNA
- Vaak zijn de verschillen maar heel klein: slechts enkele letters per gen



De verschillen in het DNA tussen mensen zijn maar heel klein. Toch zorgen die kleine verschillen voor veel variatie in onze eigenschappen.



De meeste genetische verschillen bestaan uit slechts enkele letters (basen) per gen. Als er op één plek in het DNA een letter verschillend is, dan wordt dat een SNP ('snip') genoemd. Ons DNA bevat in totaal enkele miljoenen SNP's.

Het wel of niet proeven van PTC wordt voor een groot deel veroorzaakt door 1 letter verschil in het 'PTC-gen' (een SNP)

```

1 atgttgactc taactcgcat ccgcactgtg tcctatgaag tcaggagtag atttctgttc
61 atttcagtcc tggagtttc agtggggttt ctgaccaatg ctttcgtttt ctgggtgaat
121 ttttggatg tagtaaagag gcaggcactg agcaacatg atttgtgtct gctgtgtctc
181 agcatcagcc gcctttctt gcatggactg ctgtttcgtg gtgttatcca gcttacccac
241 ttccagaagt tgatgtacc actgaaccac agctaccatg ccatcatcat gctatggatg
301 atttgcääacc aägcaaccc ctggcttgc gcctgcctca gcctgtttt ctgttccaag
361 ctatccgtt tctctcacac ctccctgatc ttcttgccaa gctgggtctc caggaagatc
421 tcccaatgc tccctggat tatttttgc tccctgcatc gcactgtctt ctgtgtttgg
481 tgcttttta gcagacactca ctccacatc acaaactgtgc tatttcatgaa taacaataaca
541 aggttcaact ggcaattaa agatctaat ttatttttt cctttctt ctgttatctg
601 tggtctgtc ctcccttctt attttttctg gtttcttctg ggtatgtgatc tgftccctg
661 ggaaggcaca tgaggacaat gaaggcttat accagaaact ctctgtgacc cagcctggag
721 gcccacatta aagccctcaat gtccttgc tcccttttctt gatatcatc
781 tggtgtgtc tcatctctgt gccccatctg attctgtggc ggcacaaaaat aggggtgtatg
841 gttttgttgg gataatggc agcttgcctt ctcggcatg cagccatctt gatcttggc
901 aatggccaaatg tgaggagatc tggtatgttctt gggctcagag cagccctgaa
961 gtaagagccg accacaaggc agatcccg acactgtgtca

```



Het 'proever-gen' ('P') heeft een **C** op plaats 785

Het 'niet-proever-gen' ('p') heeft hier een **T**

Je ziet hier de volledige basenvolgorde van een variant (allel) van het 'PTC-gen'. Er staat in dit geval een 'T' op plaats 785. Dit is een voorbeeld van een SNP. Het 'proever-gen' heeft hier een 'C', dus dit is het 'niet-proever-gen'. Heb je daar twee van, dan kan je PTC dus niet proeven.

Practicum PTC

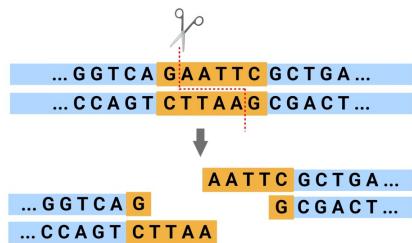
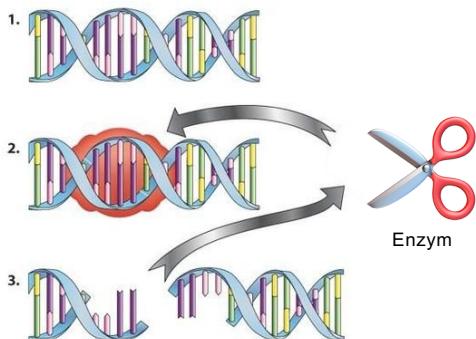
1. Je eigen DNA uit je wangslijmcellen halen (DNA-extractie)
2. Het PTC-gen uit je DNA vermeerderen (kopiëren d.m.v. PCR)
3. Het PTC-gen doormidden knippen (restrictie)
4. Bekijken of het gen geknipt is of niet (gel-elektoforese)

} Vorige keer
} Vandaag

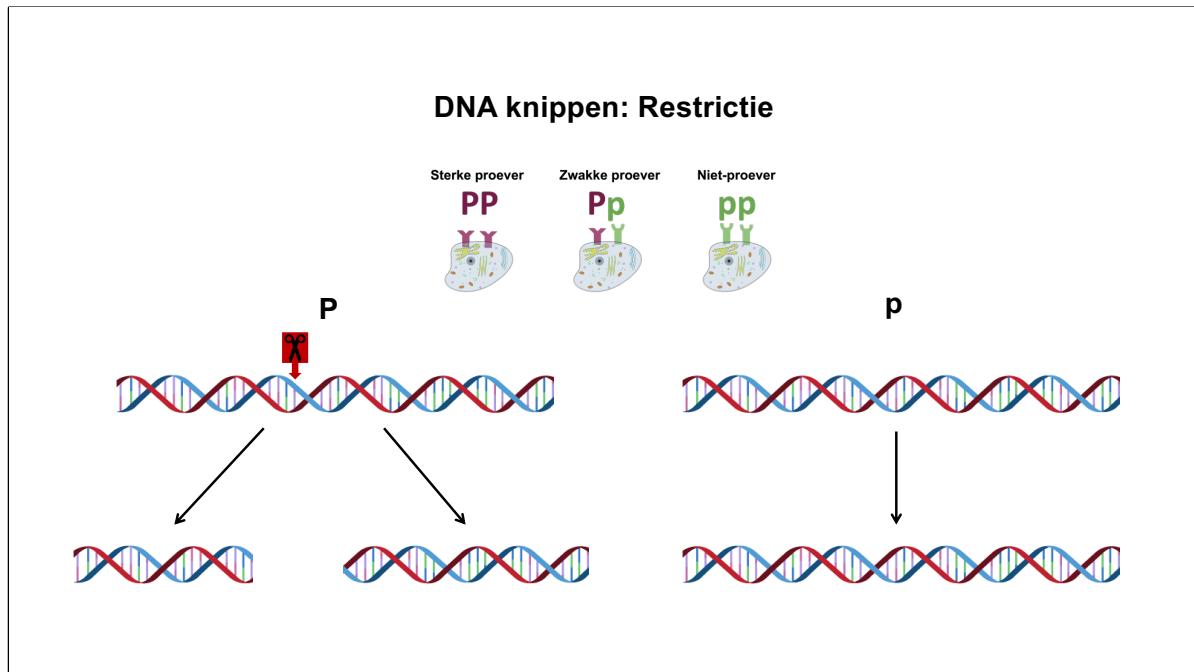


Je gaat nu zelf verder met het onderzoek naar welke genvariant(en) jij hebt voor het proeven van PTC. De vorige keer heb je de eerste twee stappen uitgevoerd, vandaag doe je de laatste twee.

DNA knippen: Restrictie



Bij DNA-onderzoek wordt regelmatig gebruikgemaakt van speciale moleculaire (dus piepkleine) ‘schaartjes’ die DNA in stukjes kunnen knippen. Dit worden restrictie-enzymen genoemd. Deze enzymen herkennen een specifieke lettervolgorde in het DNA (in het voorbeeld is dat ‘GAATTC’) en knippen het DNA vervolgens precies op die plek doormidden. Er bestaan vele soorten restrictie-enzymen die elk hun eigen lettervolgorde herkennen. Dus als je een stuk DNA op een door jou zelf gekozen plek doormidden wilt knippen, kies je daarvoor het meest geschikte restrictie-enzym.



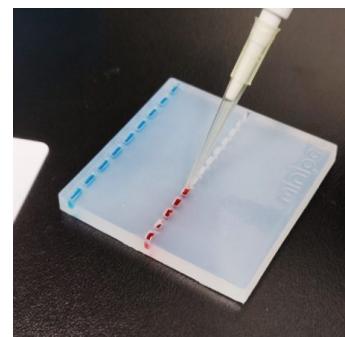
Om te kunnen bepalen welke variant(en) jij hebt van het 'PTC-gen', maken we gebruik van de SNP die op plaats 785 in het gen ligt. Bij het 'proever-gen' ('P') ligt hier de letter 'C' en bij het 'niet-proever-gen' ('p') een 'T'. Als we nu een restrictie-enzym nemen dat op die plek in het DNA in het ene geval wel knipt en in het andere geval niet, dan krijgen we dus ofwel twee stukjes DNA (als het wel wordt geknipt) ofwel één stukje (als het niet wordt geknipt). Het enzym dat wij gaan gebruiken knipt alléén het 'proever-gen' in tweeën omdat het alleen de lettervolgorde op die specifieke plek herkent. Er ontstaan hierbij twee stukjes DNA met een verschillende lengte. Bij het 'niet-proever-gen' is de lettervolgorde net wat anders waardoor het enzym niet kan knippen en het stukje DNA intact blijft.

DNA knippen: Restrictie

- Pipetteer 14 µL van je eigen PCR-product in een schoon buisje en zet op ijs
- Je krijgt 1 µL restrictie-enzym
- Zet je buisje op ijs totdat iedereen klaar is
- 10 seconden centrifugeren
- 15 minuten incuberen bij 37 graden
- Zet je buisje weer op ijs

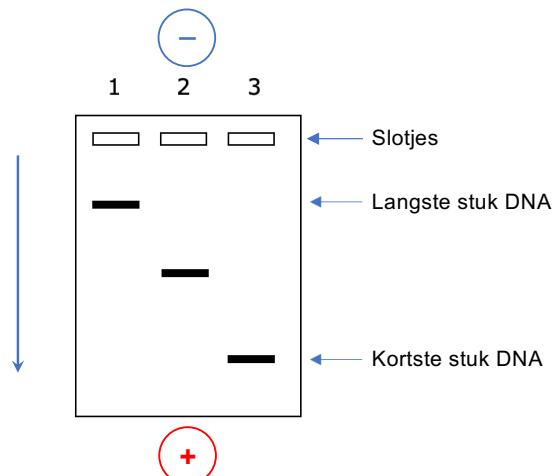
Pipetteeroefening

- Gebruik per tweetal 1 oefengel (siliconen) in een schaaltje met water
- Pipetteer 15 μL gekleurde vloeistof in een van de brede slotjes (gaatjes). Ondersteun de pipet met je niet-pipetterende hand.
- Voel met je pipetpunt waar de zijkanten van het slotje zitten en druk niet door de gel heen



Je gaat nu eerst oefenen om met de micropipetten een kleine hoeveelheid vloeistof in de gaatjes (slotjes) van een speciale oefengel te pipetteren. Dit is belangrijk voor de volgende stap.

DNA bekijken: Gel-elektoforese

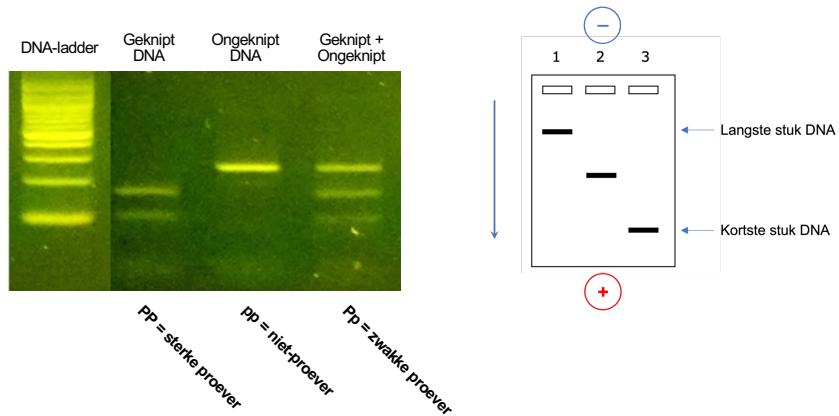


Om stukken DNA met een verschillende lengte van elkaar te kunnen scheiden en zichtbaar te maken, wordt meestal gebruikgemaakt van een techniek die gel-elektoforese wordt genoemd. Hierbij wordt het DNA, dat opgelost is in een (gekleurde) vloeistof met verschillende andere stoffen, op een speciale gel gebracht. Deze gel ligt in een bakje met een andere vloeistof (een buffer). Het DNA wordt in kleine gaatjes (slotjes) gepipetteerd die aan één kant van de gel zitten (in dit geval aan de bovenkant), waarna je een tijd lang elektriciteit door de gel laat stromen. Omdat het DNA negatief geladen is, wordt het door de elektrische spanning als het ware naar de positieve (+) kant 'getrokken'. In de gel zitten hele kleine gaatjes waar het DNA moeilijk doorheen kan. De langste stukken DNA gaan het moeilijkst door de gel, en de kortste stukjes het makkelijkst en daardoor het snelst. Door een speciale kleurstof te gebruiken en de gel met blauw (of ultraviolet) licht te bekijken wordt het DNA zichtbaar in de vorm van oplichtende, gekleurde bandjes (streepjes). Hoe verder zo'n bandje van het beginpunt ligt, hoe korter de stukjes DNA zijn.

DNA bekijken: Gel-elektoforese

- Kies welke gel je gaat gebruiken (maximaal 8 personen per gel)
- Pipetteer in laan 1 15 µL DNA-ladder
- Pipetteer in een van de overgebleven laantjes 15 µL van jouw eigen DNA-monster
- Start de elektroforese als iedereen klaar is en kijk elke 10 minuten hoe ver het DNA is gelopen
- Stop na ongeveer 35 minuten
- Maak eventueel een foto van je gel

DNA bekijken: Gel-elektoforese



Als de gelelektroforese klaar is, dan zul je (als alles goed is gegaan) bij iedereen een bepaald patroon van bandjes zien, zoals in dit voorbeeld. De DNA-ladder bestaat uit stukjes DNA met allerlei verschillende lengtes zodat je jouw DNA daarmee kunt vergelijken.

Als je twee exemplaren van het 'proever'-gen hebt (' PP '), dan zijn beide stukken DNA doormidden geknipt en zie je twee verschillende bandjes.

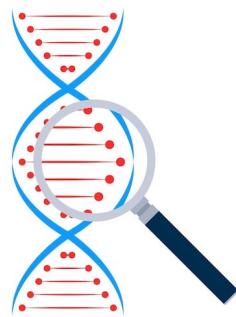
Als je twee exemplaren van het 'niet-proever-gen' hebt (' pp '), dan zijn beide stukken DNA niet geknipt en zie je maar één bandje.

Als je twee verschillende varianten hebt van het 'PTC-gen', dus zowel een 'P' als een 'p', dan is het ene stukje DNA wél geknipt en het andere niet, zodat je drie verschillende bandjes ziet (twee van het geknipte stukje en één van het ongeknipte stukje).

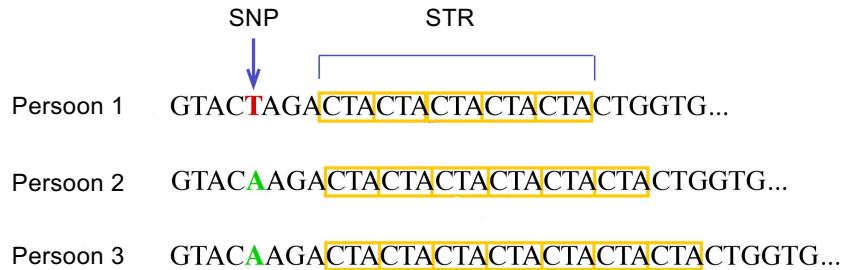
Vergelijk nu de uitkomst van jouw smaaktest met de resultaten van het DNA-onderzoek. Klopt dit met elkaar?

DNA-onderzoek

Er zijn verschillende soorten onderzoek mogelijk met behulp van DNA



STR's

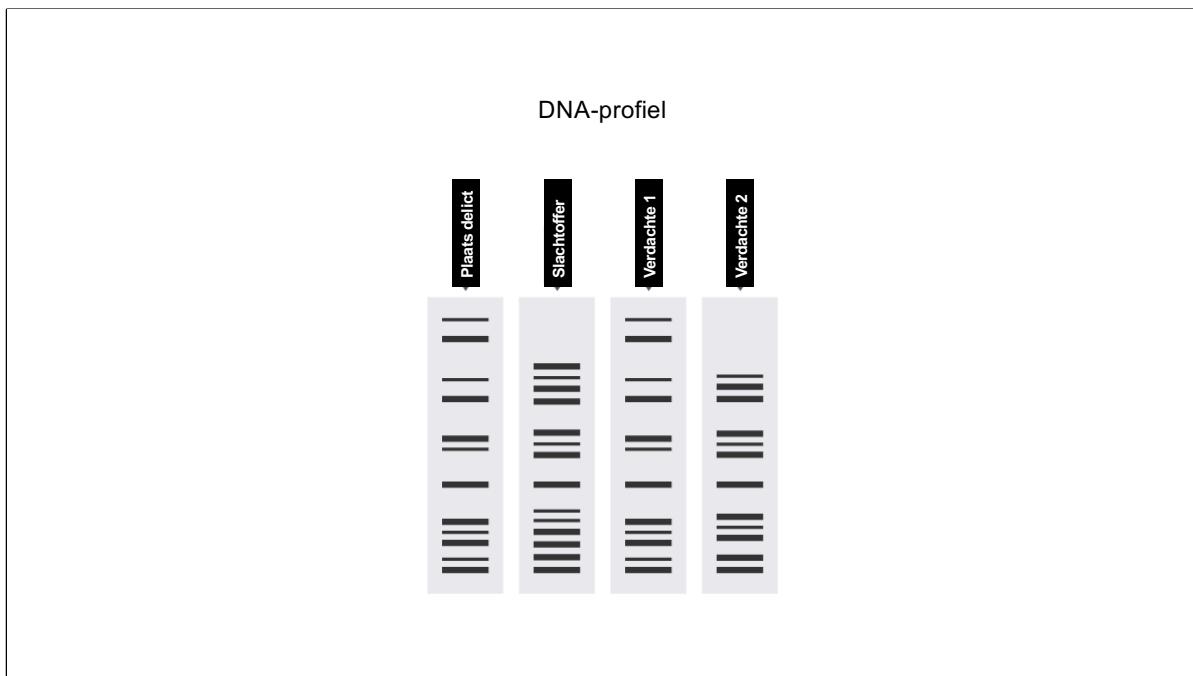


Bij DNA-onderzoek wordt vaak gebruikgemaakt van de verschillen in het DNA tussen verschillende personen (of andere levende wezens). Deze verschillen bestaan niet alleen uit SNP's, maar voor een groot deel ook uit stukjes DNA van slechts enkele letters lang die zich vaak of minder vaak herhalen. Dit worden STR's genoemd. Hier zie je een voorbeeld van een STR waarbij de lettercombinatie 'CTA' zich 5, 6 of 7 keer achter elkaar herhaalt op een bepaalde plek in het DNA. Verspreid over het DNA liggen vele van zulke STR's met verschillende lettercombinaties. De lengtes (oftewel het aantal herhalingen) hiervan kunnen per individu variëren. Hierdoor heeft iedereen een andere, unieke combinatie van STR's.

Forensisch onderzoek



Een van de bekendste voorbeelden waarin veel gebruik wordt gemaakt van DNA-onderzoek is het forensisch onderzoek. Hierbij worden allerlei sporen onderzocht die worden gevonden op een plek waar een misdrijf is gepleegd (de plaats delict), zoals een inbraak of een moord. Omdat de dader bijna altijd wel DNA achterlaat via bijvoorbeeld haren of huidcellen, kan dit gebruikt worden voor onderzoek. Het DNA dat wordt gevonden op de plek van het misdrijf wordt dan vergeleken met een database waarin het DNA van eerder veroordeelde criminelen is opgeslagen. Of er wordt DNA afgenoemt bij een verdachte om dit te kunnen vergelijken.



Om DNA-materiaal dat ergens gevonden wordt te kunnen vergelijken met het DNA van iemand anders, moet er eerst een zogeheten DNA-profiel worden gemaakt. Hierbij wordt meestal gebruikgemaakt van de STR's in het DNA. Door middel van PCR wordt een aantal verschillende STR's uit het DNA-monster vermeerderd, zodat er stukken DNA van verschillende lengtes ontstaan. Door deze DNA-fragmenten vervolgens via gel-elektoforese van elkaar te scheiden en zichtbaar te maken, ontstaat er een specifiek patroon van bandjes. Omdat iedereen een verschillende combinatie van STR's heeft, is zo'n patroon voor iedereen uniek. Het wordt daarom ook wel een genetische vingerafdruk genoemd. Het DNA-profiel van de (vermoedelijke) dader wordt vervolgens vergeleken met de DNA-profielen van het slachtoffer en de mogelijke verdachten. Als twee DNA-profielen met elkaar overeenkomen, en het DNA-profiel is niet van het slachtoffer, dan is er een zogeheten 'match' en moet verder worden uitgezocht of het inderdaad om de dader gaat.

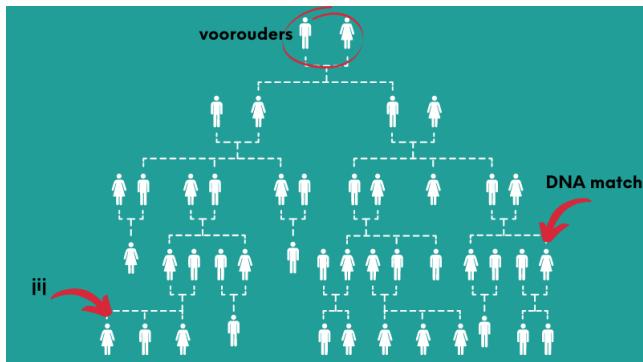
In dit voorbeeld is er een match tussen het DNA van de vermoedelijke dader (gevonden op de plaats delict) en 'Verdachte 1'.

Wolvenonderzoek



DNA-profielen worden niet alleen gebruikt in het forensisch onderzoek. Hetzelfde principe kan worden toegepast om bijvoorbeeld wolvensporen te onderzoeken. Ook dieren hebben namelijk DNA waarin STR's voorkomen. Wanneer ergens een spoor van een vermoedelijke wolf wordt gevonden, zoals een drol of haren, dan wordt hiervan DNA verzameld. Op dezelfde manier als bij forensisch onderzoek kan dan worden bepaald of het inderdaad van een wolf is en zo ja, van welke wolf het spoor zou kunnen zijn. Ook bij een wolvenaanval (bijvoorbeeld op schapen) kan op deze manier worden bepaald of het echt om een wolf ging en niet om een hond of ander dier.

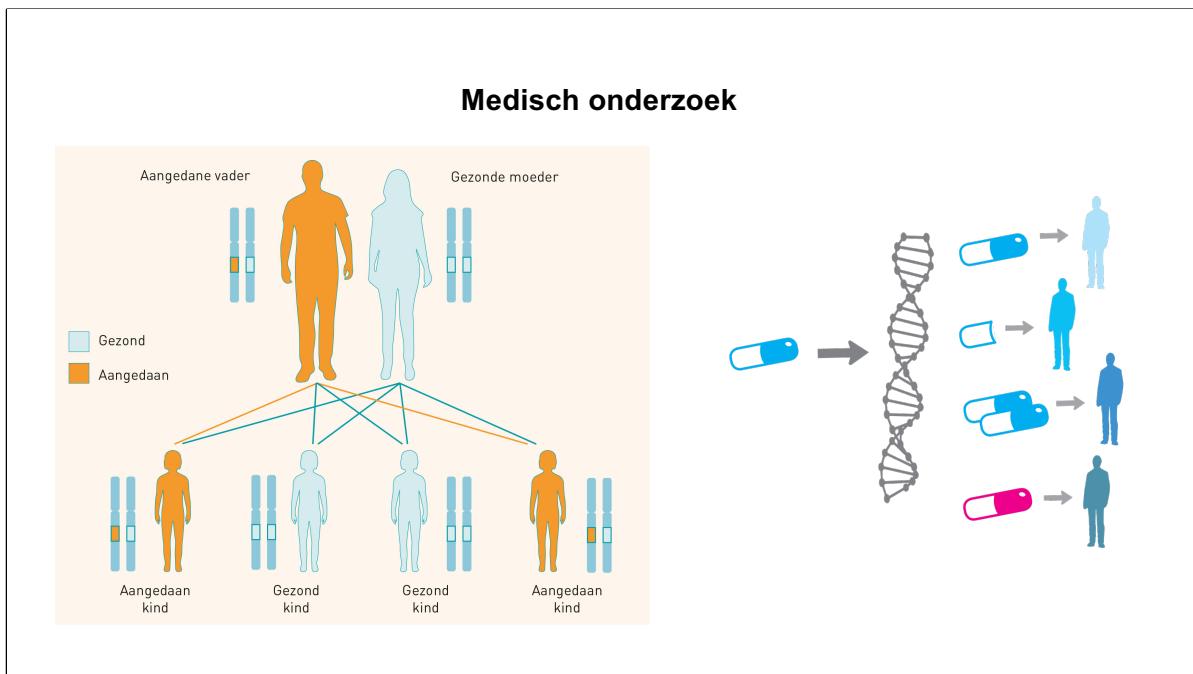
Verwantschapsonderzoek



Een ander voorbeeld waarin gebruik wordt gemaakt van DNA-profielen is verwantschapsonderzoek. Hierbij wordt onderzocht of mensen familie van elkaar zijn. Het bekendste voorbeeld is de vaderschapstest. Hiermee test je of iemand echt de biologische vader is van een kind. Maar ook kan je via zo'n DNA-onderzoek verre familieleden vinden, zodat je bijvoorbeeld je eigen stamboom beter kunt onderzoeken.



Er bestaan vele soorten dieren en planten, die niet altijd goed van elkaar te onderscheiden zijn via hun uiterlijke kenmerken. Soms is het dan nodig om het DNA te onderzoeken om uit te vinden of het om een nieuwe soort gaat. Zo werd pas geleden nog een nieuwe slangensoort ontdekt (een groene anaconda) waarvan eerst werd gedacht dat het om dezelfde soort ging als een andere groene anaconda. Deze ontdekking werd gedaan door Freek Vonk, samen met een team van andere wetenschappers.



Ook in de medische wetenschap kan men niet zonder DNA-onderzoek. Zo kan men er bijvoorbeeld via genetisch onderzoek achter komen of iemand een erfelijke ziekte heeft die zou kunnen worden doorgegeven aan de kinderen. Als dit op tijd wordt ontdekt dan kan dit vaak nog voorkomen worden. Maar ook als een kind al geboren is, is het handig om te weten of het een erfelijke ziekte heeft zodat op tijd een goede behandeling kan worden gezocht.

Een andere nuttige toepassing van genetisch onderzoek is dat je daarmee kunt ontdekken welke geneesmiddelen voor jou het beste werken en welke dosering (hoeveelheid) je moet gebruiken. Dit kan voor iedereen anders zijn omdat genetische verschillen ervoor kunnen zorgen dat het ene lichaam anders reageert op een bepaald medicijn dan het andere. Deze techniek wordt nu nog weinig gebruikt, maar zal in de toekomst waarschijnlijk steeds meer worden toegepast.