



Konsten att göra en höna av en fjäder

– DNA-streckkoder i praktiken

Text: Markus Englund,
Naturhistoriska Riksmuseet

Med hjälp av korta artspecifika delar av DNA:t, så kallade DNA-streckkoder, är det möjligt att artbestämma till exempel en fågel utifrån bara en fjäder. I och med att tekniken blivit både enklare och billigare har tiden nu blivit mogen för att introducera DNA-streckkoder i skolundervisningen.

Att införa nya laborationer är ingen lätt uppgift. Som lärare ställs man inför många frågor: hur ska ny teori integreras? Hur ska eleverna arbeta rent praktiskt? Vilken utrustning behöver skolan köpa in? Och vilka frågeställningar ska eleverna jobba med? Den här artikeln ska försöka ge vägledning i hur du kan tänka kring dessa frågor när det gäller DNA-sekvenser, i första hand DNA-streckkoder.

Gymnasieskolans ämnesplan för biologi nämner inte uttryckligen arbete med DNA-sekvenser, men omfattar det ändå på sätt och vis. För Biologi 1 finns kopplingar till bland annat artidentifiering och organismers släktskap; för Biologi 2 ligger förmodligen molekylärbio-logins användningsområden och arbetsmetoder närmast till hands. Valet av angreppssätt lämnas i stor utsträckning åt läraren själv att avgöra.

DNA-streckkoder är praktiska

Det finns ofta flera skäl till varför man väljer att arbeta med DNA-streckkoder. Streckkodsmarkörerna är väl beprövade och tillräckligt variabla för att kunna särskilja närbesläktade arter. De är dessutom belägna i delar av genomet som är nog konservativa för att kunna mångfaldigas med hjälp av generella primrar. DNA:t är också förhållandevis lätt att mångfaldiga eftersom det förekommer i många kopior i varje cell.

Men streckkodsmarkörer behöver inte alltid vara bästa valet. Det är viktigt att man tar hänsyn till den aktuella frågeställningen när man väljer sin markör. Lämpligheten påverkas

dels av vilken organismgrupp som ska studeras och dels av vilken historisk tidshorisont man föreställer sig. DNA-streckkoder lämpar sig för att undersöka organismers evolutionära historia ner till artnivå, men ger liten eller ingen information på populations- och individnivå.

DNA-sekvenser kan användas för att lära ut många biologiska företeelser, från geners uppbyggnad och funktion till storskaliga evolutionära processer. Konkreta frågeställningar kan till exempel handla om att artbestämma fiskbitar från livsmedelsaffärens kyldisk eller att kartlägga släktskapet hos några arter av blommväxter.



Eleven måste inte göra allt

Arbetet med att ta fram en DNA-sekvens (enligt den traditionella Sanger-metoden) kan delas in i fem laborationsteg (se tabell nästa sida). Vilka steg som ska utföras av eleven och vilka som ska förberedas eller demonstreras av läraren kan anpassas efter rådande förutsättningar och efter vad man vill uppnå. Man kan till och med välja att helt strunta i det laborativa och istället låta eleven analysera DNA-sekvenser som laddats ner från Internet (steg 6 i tabellen).

Om sekvenser som tagits fram med samma markör uppvisar längdskillnader kan det ibland räcka med gelelektrofores för att belysa en frågeställning (se till exempel referensen *Undersökning av växternas evolution*). Längdskillnader förekommer i mindre utsträckning hos streckkodsmarkörerna, vilket innebär att sekvensering i allmänhet är nödvändig för att upptäcka skillnader.

Det femte och sista laborationssteget, sekvenseringen, utförs normalt inte på skolor eftersom det kräver mycket dyrbar utrustning. Flera universitet och kommersiella företag erbjuder sekvensering av renade PCR-produkter. Resultatet brukar skickas till kunden inom en eller ett par veckor.

Olika sätt att isolera DNA

Vid preparationen är det viktigt att provet är rent och att DNA:t inte har förstörts. Oftast

Steg	Exempel på utrustning	Exempel på kemikalier
1. DNA-preparation	Värmeskåp eller vattenbad; mikrocentrifug (ej vid användning av FTA®); dragskåp i vissa fall	Extraktionskit, FTA®-papper eller Chelex®
2. Mångfaldigande av DNA	PCR-maskin	PCR-mix; primrar
3. Gelelektrofores	Värmeplatta eller mikrovågsugn; elektroforesutrustning; spänningskälla	Agaros; buffertlösning; färg; DNA-stege
4. Rening av PCR-produkt	Mikrocentrifug alternativt PCR-maskin (vid användning av enzymer)	Reningskit eller enzymer (ExoSAP)
5. Sekvensering	PCR-maskin; sekvenseringsmaskin; dragskåp	Sekvenseringsreagens; primrar
6. Analys av sekvensdata	Dator med internetuppkoppling	Inga

Tabellen visar stegvis hur analysen går till när man vill ta reda på till vilken art ett biologiskt material hör.

räcker några få milligram av en vävnad. Metoden kan se lite olika ut beroende på om man arbetar med växt- eller djurmaterial.

För extraktion av DNA finns flera kommersiella kit att tillgå, men priserna kan vara ganska höga. Ett lättarbetat budgetalternativ som fungerar för djurvävnad är den så kallade Chelex®-metoden. Ett annat är FTA®-papper som finns för både växt- och djurvävnad. Fördelen med färdiga kit är att de vanligtvis ger ett större DNA-utbyte och att proverna kan sparas under lång tid. En nackdel med Chelex®-metoden är att man bör starta sin PCR direkt efter extraktionen.

Datorn är ett viktigt redskap

Man kan komma långt med bara en dator och en Internet-anslutning. På webbplatser som GenBank, BOLD och EBI (se länktips) finns en outtömlig källa av sekvenser att ösa ur. Där finns också flera olika verktyg för att jobba med sekvenser. Datorövningen *Lär känna din släkt* (se lästips) visar hur eleven kan få bekanta sig med några av verktygen.

Tips

Välj bort giftiga kemikalier

Metoderna inom molekylärbiologin utvecklas i snabb takt. Idag kan man för det mesta undvika kemikalierna som är mest skadliga för hälsan eller miljön. Ett exempel är det mutagena ämnet etidiumbromid (EtBr) som fram till relativt nyligen använts flitigt vid gelelektrofores. Nu finns flera mindre skadliga alternativ som fungerar i stort sett lika bra (till exempel GelRed™ och GelGreen™). Fråga gärna efter hälsosamma och miljövänliga alternativ när du köper in kemikalier till din skola!

Begagnad utrustning duger för det mesta

Mikrocentrifuger och PCR-maskiner har länge hört till standardutrustningen inom molekylärbiologin men är tyvärr fortfarande ganska dyra att köpa in. Hör med ett molekylärbiologiskt laboratorium om det finns någon uttrangerad maskin som de kan tänkas sälja billigt eller ge bort. Ibland händer det nämligen att äldre men fullt fungerande apparater blir stående oanvända när maskinparken uppgraderas.

Våga utforska nätets resurser

Webben är en fantastisk resurs när det gäller molekylärbiologiska data. Den stora informationsmängden kan dock kännas övermäktig och det kan vara svårt att veta var man ska börja. Webbplatsen *Den Svenska DNA-nyckeln* (dna-nyckeln.se) som tillhandahålls av Naturhistoriska riksmuseet är en bra startpunkt för utforskandet av DNA-streckkoder. Därifrån kan du sedan ta dig vidare till flera internationella webbplatser med liknande innehåll.

Referenser och lästips

Växters evolution. Laborationshandledning och datorövning av Markus Englund. Finns på Bioresurs hemsida i anslutning till Bi-lagan nr 1, 2014.

Artikeln *Lika eller olika?* av Ammie Berglund i Bi-lagan nr 3, 2013.

Artikeln *En svartvit streckkod på labbet – en hjälp för fältbiologen att artbestämma* av Malin Strand i Fauna och Flora nr 4, 2012. Kan laddas ner från: www.artdata.slu.se/FaunaochFlora/pdf/faunaochflora_4_2012_Streckkod.pdf

Laborationshandledningen *Undersökning av växternas evolution* av Andy Harrison, John Schollar och Dean Madden. Bioscience Explained, volym 3, nr 2. Kan laddas ner från bioscience-explained.org

Datorövningen *Lär känna din släkt* från Biotopia i Uppsala. Elevmaterial och sekvenser kan laddas ner från www.biotopia.nu/component/content/article/207-laer-kaenna-din-slaekt

The Barcode of Life Data Systems, BOLD (boldsystems.org) är en engelskspråkig internationell webbplats som samlar DNA-streckkoder från olika organismgrupper.

GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) är en amerikansk webbplats som tillhandahåller all slags genetisk data, men även olika verktyg.

The European Bioinformatics Institute, EBI (www.ebi.ac.uk) är europeisk webbplats som tillhandahåller information av samma typ som GenBank.

Svenska biotermgruppen (biotermgruppen.se) tillhandahåller termer och definitioner på svenska för många begrepp som förekommer inom molekylärbiologin.

Den Svenska DNA-nyckeln (dna-nyckeln.se) är en svenskspråkig webbplats från Naturhistoriska riksmuseet där du kan söka efter sekvenser.