Methodisch-didaktisches Konzept für das Profilfach Biotechnologie in der Eingangsklasse des biotechnologischen Gymnasiums

**Binnendifferenzierung am Beispiel der Unterrichtseinheit   
„Restriktionsenzyme“**

**Inhaltsverzeichnis**

[1 Einführung 2](#_Toc526767984)

[2 Thema Restriktionsenzyme – Stellung im Lehrplan 2](#_Toc526767985)

[3 Ein Lernzirkel zum Thema Restriktionsenzyme 3](#_Toc526767986)

[4 Planung und Durchführung des Lernzirkels 4](#_Toc526767987)

[4.1 Theoretische Vorbereitung des Lernzirkels 4](#_Toc526767988)

[4.2 Durchführung des Lernzirkels 4](#_Toc526767989)

[4.3 Stationen des Lernzirkels 5](#_Toc526767990)

[4.4 Nachbereitung des Lernzirkels 7](#_Toc526767991)

[5 Information zum Begriff „Restriktionsenzyme“ 8](#_Toc526767992)

[6 Information zum Begriff „Restriktionskartierung“ 9](#_Toc526767993)

[7 Information zum Begriff „Agarose-Gelelektrophorese“ 9](#_Toc526767994)

[8 Hinweise zu den verwendeten Materialien 10](#_Toc526767995)

[Animation „DNA Restriction“ – Station 3 10](#_Toc526767996)

[Animation „Recombination“ – Station 9 11](#_Toc526767997)

[8.1 Hinweise zur Verwendung von Firmen-Katalogen 13](#_Toc526767998)

**9 Quellen**……………………………………………………………… ……………………… **13**

# Einführung

Der Unterricht im Fach Biotechnologie der Eingangsklasse des biotechnologischen Gymnasiums legt die Grundlage für die folgenden, abiturrelevanten Themen der Jahrgangsstufen 1 und 2. Das Thema Restriktionsenzyme eignet sich sehr gut, um den Schülerinnen und Schülern Wirkungsprinzip und Arbeitsweise von Biokatalysatoren näher zu bringen. Die Entdeckung und Verwendung von Restriktionsenzymen hat zudem entscheidend zur Entwicklung der Gentechnik und Biotechnologie beigetragen.

# Thema Restriktionsenzyme – Stellung im Lehrplan

Restriktionsenzyme sind wichtige Werkzeuge der Gentechnik, die es ermöglichen DNA-Fragmente unterschiedlichen Ursprungs zu kombinieren. Der Begriff Restriktionsenzyme erscheint im Lehrplan der Eingangsklasse an zwei verschiedenen Stellen. Einerseits als Bestandteil der Lehrplaneinheit 2 und andererseits in der Lehrplaneinheit 3, die die Themenschwerpunkte des Praktikums auflistet. Diese Abschnitte sind unten aufgelistet.

*Lehrplaneinheit 2: Die Zelle als Basiseinheit der Biotechnologie*

*Die Schülerinnen und Schüler unterscheiden Zellen durch lichtmikroskopische Untersuchungen und schließen aus der Ultrafeinstruktur der Zelle auf ihre Funktion. Sie zeigen den Zusammenhang zwischen Bau und Funktion biologischer Membranen auf. Aus dem Aufbau und der Struktur von Proteinen leiten sie deren zelluläre Aufgaben ab. Wirkungsprinzip und Arbeitsweise von Biokatalysatoren beschreiben sie modellhaft und erläutern ihre Beeinflussbarkeit. Die Schülerinnen und Schüler führen enzymkinetische Experimente durch, werten sie mit biometrischen Methoden aus und interpretieren die Versuchsergebnisse. Sie beschreiben den chemischen Aufbau von Nukleinsäuren sowie das Prinzip der Längenbestimmung und Quantifizierung von DNA. Bei Prokaryoten stellen sie die Weitergabe und Realisierung der genetischen Information dar.*

*Restriktion*

*Gelelektrophorese*

*Fotometrie*

*Restriktionsenzyme*

*Lehrplaneinheit 3: Praktikum*

*Die Schülerinnen und Schüler begründen die Notwendigkeit von Sicherheitsmaßnahmen und wenden mikrobiologische Arbeitstechniken an.*

*Quantifizierung und Größenbestimmung eines*

*Plasmids*

*– Fotometrie*

*– Restriktionsverdau*

*– Gelelektrophorese*

Quelle: Bildungsplan für das berufliche Gymnasium der dreijährigen Aufbauform, Biotechnologische Richtung (BTG), Fassung vom 3. September 2007, Lehrplanheft 2/2007, L-06/34444, Neckar-Verlag.

Die fachlichen Voraussetzungen für diese Unterrichtseinheit zum Thema Restriktionsenzyme sind folgende Themengebiete der Lehrplaneinheit 2 des Lehrplans für das Fach Biotechnologie:

*Aminosäuren, Peptidbindung, Proteinstrukturen , Aufgaben in der Zelle, Katalysatorfunktion, Substrat- und Wirkungsspezifität, Aktives Zentrum, Cofaktoren, Qualitative und quantitative Abhängigkeit der Enzymaktivität von Temperatur, pH-Wert, Enzym- und Substratkonzentration, Effektoren.*

*Enzymhemmung, Endprodukthemmung, allosterische Hemmung, kompetitive Hemmung, Aufbau, Vorkommen und Informationscharakter von DNA und RNA.*

Diese Themen sollten idealerweise vor dem Thema „Restriktion“ unterrichtet werden, um den Schülerinnen und Schülern eine solide Grundlage zum Verständnis der Inhalte der hier dokumentierten Unterrichtseinheit zu vermitteln.

# Ein Lernzirkel zum Thema Restriktionsenzyme

Die hier vorgestellte Unterrichtseinheit ist als offener Lernzirkel konzipiert, da die Stationen thematisch verbunden sind – aber unabhängig voneinander bearbeitet werden können.

Die Schüler/innen erwerben in Eigenverantwortung Lerninhalte an neun verschiedenen Stationen, bearbeiten und werten diese selbständig aus. Die Auswahl und die Reihenfolge kann selbständig festgelegt werden, wobei die Unterscheidung in Pflicht- und Wahlstationen empfehlenswert ist, um ein Minimum an gemeinsam zu erwerbendem Wissen in der Klasse zu gewährleisten.

Prinzipiell ermöglicht ein Lernzirkel die individuelle Förderung der Schülerinnen und Schüler:

* Selbstkontrolle fördert Selbsteinsicht bzgl. persönlicher Kompetenzen und des Bedarfs ihrer Optimierung.
* unterschiedliche Gestaltung der Aufgabenform unter Berücksichtigung verschiedener Lernkanäle (kognitiv, visuell etc.)
* weiterführende Wahlstationen für schnellere Schüler
* möglicher Rückgriff auf niedrigere Niveaustufen bei auftauchenden Problemen
* inhaltlich unterschiedliche Gestaltung der Pflichtstationen hinsichtlich des Niveaus der Aufgaben (einfachere und schwierigere Fragen)
* Zugriff auf das gesamte Material und damit viele Übungsmöglichkeiten

Ein Lernzirkel ermöglicht auch eine Binnendifferenzierung:

* Einsatz von differenzierendem Unterrichtsmaterial (z. B. Stationen differenziert nach Leistungsniveaus)
* Ausrichtung der Aufgaben auf unterschiedliche Lerntypen

# Planung und Durchführung des Lernzirkels

## 4.1 Theoretische Vorbereitung des Lernzirkels

Das Lernzirkel-Thema „Restriktionsenzyme“ kann durch eine geeignete Hausaufgabe in Form eines Informationstextes eingeführt werden. Dazu eignet sich beispielsweise der Text des Abschnitts „Information zum Begriff Restriktionsenzyme“.

## Durchführung des Lernzirkels

Der Lernzirkel lässt sich in zwei Schulstunden (Doppelstunde) durchführen. Die Lehrkraft gibt eine 10-minütige Einführung zum Thema mit Hilfe eines Vortrags.

Das Vorstellen der Lernzirkel-Methode und ihres Ablaufs erfolgt durch die Lehrkraft. Dabei werden die neun unterschiedlichen Stationen vorgestellt und die Regeln zur Bearbeitung festgelegt. Folgende Informationen werden gegeben:

* Bilden Sie eine 2er-Gruppe!
* Wählen Sie aus den angebotenen Stationen vier geeignete Stationen aus!
* Die Stationen sind mit ein bis drei Sternen markiert für einfachere bis schwierigere Aufgaben.
* Verpflichtend sind die Stationen 1 und 5!
* Bearbeiten Sie die Stationen jeweils innerhalb von 15 Minuten!
* Dokumentieren Sie Ihre Ergebnisse und vergleichen Sie mit der Musterlösung!
* Präsentieren Sie Ihre Ergebnisse!

Es folgt die Erarbeitungsphase. Die Schülerinnen und Schüler bearbeiten die einzelnen Stationen möglichst selbstständig. Zunächst werden die Pflichtaufgaben, danach die Wahlaufgaben bearbeitet.

Die Schülerinnen und Schüler überprüfen ihre gesammelten Informationen und gelösten Aufgaben selbstständig.

Es folgt eine kurze Reflexion der Methode im Plenum.

Alle Aufgaben werden allen Schülerinnen und Schülern zur Verfügung gestellt, damit ein individuelles Weiterarbeiten ermöglicht wird.

## 4.3 Stationen des Lernzirkels

In Tabelle 1 sind die Inhalte der einzelnen Stationen und das jeweilige Anforderungsniveau dargestellt. Im Folgenden werden die Abschnitte näher beschrieben.

Tab.1 Übersicht zu den Stationen der Lernzirkel „Restriktionsenzyme“

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Station | Titel | Lernziele | Reproduktion/  Reorganisation/  Transfer | Anforderungs-niveau  (Sterne) |
| 1 | Palindrome erkennen | DNA-Palindromstrukturen verstehen und erkennen | Reorganisation | 2 |
| 2 | Der Begriff „Restriktion“ | Grundlagen des bakteriellen Restriktions-Modifikations-Systems wiedergeben | Reproduktion | 1 |
| 3 | Funktionsweise des  Restriktionsenzyms  EcoRI | Beschreibung der Funktionsweise eines typischen RE. Übersetzung eines englischen Informationstextes | Transfer | 3 |
| 4 | Die Restriktionsorte eines Multiple Cloning Site (MCS) | Suchen und Erkennen von RE-Erkennungssequenzen innerhalb einer DNA-Sequenz eines MCS | Reorganisation | 2 |
| 5 | Restriktionsenzyme produzieren unterschiedliche DNA-Enden. | Erkennen unterschiedlicher Schneidevorgänge bei verschiedenen REs | Reorganisation | 2 |
| 6 | Die Vielfältigkeit der Restriktionsenzyme | Informationen zu verschiedenen REs finden und zuordnen  Unterschiede der REs erkennen und benennen | Reproduktion | 1 |
| 7 | Sonderformen von Erkennungssequenzen | Spezielle, untypische Formen von Palindromen und zugehörigen Schnittmustern erkennen und beschreiben | Transfer | 3 |
| 8 | Restriktionskartierung | Erkennen und Berech-nen der Größen von Restriktionsfragmenten nach Verdau von zwei unterschiedlichen DNA-Strängen  Vorhersage der Fragmentmuster nach einer Gelelektrophorese | Transfer | 3 |
| 9 | Rekombination | Verstehen, Erkennen und detailliertes Beschreiben der Vorgänge bei der Klonierung eines DNA-Inserts Übersetzung eines englischen Audio-Informations-textes | Transfer | 3 |

## Nachbereitung des Lernzirkels

Das Thema „Restriktionsenzyme“ lässt sich an folgenden Stellen des Lehrplans der 1. Jahrgangsstufe wieder aufgreifen und ggf. weiter vertiefen:

*Lehrplaneinheit 5: Grundlagen der Gentechnik*

*Restriktionsenzyme*

*Lehrplaneinheit 6: Nutzung der Gentechnik in der Medizin*

*DNA-Klonierung*

* *Restriktion*
* *Ligation*
* *Transformation*
* *Selektion*

*Lehrplaneinheit 7: Reproduktionsbiologie*

*DNA-Typisierung*

* *RFLP*

*Lehrplaneinheit 9: Praktikum – Durchführung eines S1-Experiments*

*Prinzipielle Verfahrensschritte*

* *Plasmidisolation*
* *Restriktion*
* *Gelelektrophorese*

Quelle: Bildungsplan für das berufliche Gymnasium der dreijährigen Aufbauform, Biotechnologische Richtung (BTG), Fassung vom 3. September 2007, Lehrplanheft 2/2007, L-06/34444, Neckar-Verlag.

Das Thema „Restriktionsenzyme“ kann weiterhin innerhalb des Faches Bioinformatik vertieft werden.

# 5 Information zum Begriff „Restriktionsenzyme“

Bakterien müssen sich vor eingedrungener Fremd-DNA (z. B. Viren-DNA) schützen. Zu diesem Zweck besitzen sie artspezifische Restriktionsenzyme, die spezielle DNA-Basenabfolgen in der fremden DNA erkennen und diese zerschneiden. Gleichzeitig muss aber die eigene Erbsubstanz geschützt werden: Modifizierende Enzyme verändern hier die entsprechenden Erkennungssequenzen durch Ansetzen einer Methyl-Gruppe. Diese „Methylierung“ bewirkt, dass die betreffende Stelle von den Restriktionsenzymen nicht mehr erkannt werden kann – die eigene DNA ist geschützt. Dieses so genannte Restriktions-Modifikations-System zum Schutz vor artfremder DNA umfasst also sowohl ein spezifisches Restriktionsenzym als auch eine Methylase, die die Bakterien-DNA spezifisch methyliert und somit deren Abbau durch die eigene Endonuklease verhindert.

Restriktionsenzyme (RE) werden in drei große Klassen (Typ I, Typ II und Typ III) eingeteilt. Die gebräuchlichsten REs gehören dem Typ II an, von dem mittlerweile mehr als 3000 verschiedene beschrieben wurden. Typ-II-REs sind normalerweise Homodimere und benötigen Mg2+-Ionen als Cofaktoren. Sie sind typische Vertreter des beschriebenen Restriktions-Modifikations-Modells und schneiden DNA an spezifischen Erkennungsstellen, wobei freie 5´-P- und 3´-OH-Enden entstehen. Die Erkennungssequenzen sind im Allgemeinen 4 bis 8 Basenpaare lange Palindrome. Manche REs erkennen auch unterbrochene oder unvollständig palindromische Sequenzmuster. Je nach Position der Schnittstelle werden bei der Restriktion überhängende („klebrige", engl. *sticky*) Enden mit 5´- oder 3´-Überhängen oder stumpfe (engl. *blunt*) Enden erzeugt.

Das Aktivitätsoptimum der meisten REs liegt bei 37° C. Manche Enzyme (z. B. TaqI) arbeiten bei 65° C optimal, wenige bei niederen Temperaturen (SmaI, 25° C). Zahlreiche Enzyme lassen sich durch Hitzebehandlung bei 65° C inaktivieren.

Merke!

andere Bezeichnungen für REs Restriktionsendonukleasen

spezifische Aktivität unterschiedlich, spezifische Erkennungssequenzen

katalysierte Reaktion Zerschneiden des Zucker-Phosphat-Rückgrats eines doppelsträngigen DNA-Moleküls

# 6 Information zum Begriff „Restriktionskartierung“

REs können zur Kartierung von DNA-Sequenzen eingesetzt werden, indem die Anzahl und Position der Erkennungssequenzen bestimmter REs auf der betreffenden DNA experimentell ermittelt wird. Die Anzahl und Position der Schnittstellen wird durch Bestimmung der nach dem Verdau resultierenden Fragmentgrößen der Schnittstücke der DNA ermittelt. Zur Bestimmung dieser Fragmentgrößen wird die Gelelektrophorese eingesetzt.

# 7 Information zum Begriff „Agarose-Gelelektrophorese“

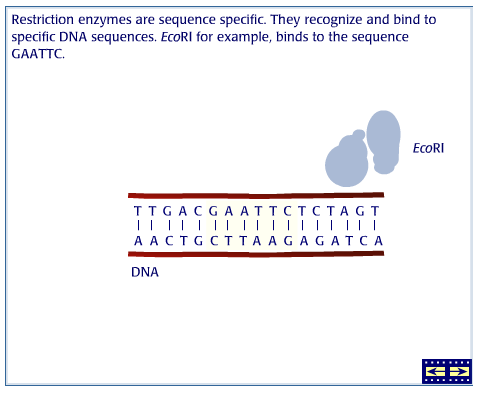
Bei der Agarose-Gelelektrophorese (AGE) wird Agarose verwendet, um eine netzartige Gelmatrix mit Poren herzustellen. Die AGE nutzt die Eigenschaft geladener Moleküle, in einem elektrischen Feld zu wandern, für deren Trennung aus. Die aufzutrennende Mischung von Molekülen besteht bei der AGE meist aus Nukleinsäuren (z. B. DNA). Die DNA wird in eine so genannte Geltasche aufgetragen. Anschließend erzeugt man ein elektrisches Feld in dem Gel, sodass die Makromoleküle sich durch das Gel bewegen. Dabei wandern verschiedene Makromoleküle unterschiedlich schnell durch die Gelmatrix hindurch.

Das Wanderungsverhalten von Nukleinsäuren in einem elektrischen Feld wird vornehmlich durch ihre Hauptladungsträger bestimmt: die negativ geladenen Phosphatgruppen des Zuckerphosphatgerüsts. Große DNA-Moleküle werden bei ihrer Wanderung zum positiven Pol stärker von der Gelmatrix behindert als kleinere, sodass die erstgenannten entsprechend langsamer wandern. Die Größe der DNA-Fragmente lässt sich abschätzen indem gleichzeitig mit den aufzutrennenden DNA-Proben ein DNA-Standard, also ein Gemisch von DNA-Fragmenten verschiedener, aber bekannter Größen, auf das Gel aufgetragen wird. Die AGE wird oft zu analytischen Zwecken eingesetzt, d. h. die gelelektrophoretische Auftrennung der eingesetzten DNA kann der Auswertung von Experimenten wie auch ihrer Erfolgskontrolle dienen. Hierunter fällt beispielsweise die Analyse von DNA-Restriktionen bei der Restriktionskartierung.

# 8 Hinweise zu den verwendeten Materialien

## Animation „DNA Restriction“ – Station 3

Diese Animation zeigt den Restriktionsverdau einer DNA durch das Restriktionsenzym EcoRI und die anschließende Ligation der klebrigen Enden durch das Enzym Ligase.



Quelle: DNA Learning Center DNALC, CC BY 4.0: <https://www.dnalc.org/resources/animations/restriction.html>, https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode

1. Text-Passage

Restriction enzymes are sequence specific. They recognize and bind to specific DNA sequences. EcoRI for example, binds to the sequence GAATTC.

2. Text-Passage

Once they bind to their recognition sequence, restriction enzymes cut the sugar-phosphate backbones of the DNA strands. EcoRI is a restriction enzyme that cuts unevenly, leaving overhangs or “sticky ends”.

3. Text-Passage

The sticky ends can be reattached by another enzyme called ligase. It catalyzes the chemical reaction that rejoins the DNA sugar-phosphate bonds.

Übersetzung:

1. Text-Passage

Replikationsenzyme sind sequenz-spezifisch. Sie erkennen und binden an spezifische DNA-Sequenzen. EcoRI zum Beispiel bindet an die (Erkennungs-) Sequenz GAATTC.

2. Text-Passage

Wenn sie sich an ihre Erkennungssequenz angelagert haben, schneiden sie die Zucker-Phosphat-Rückgrate der DNA-Stränge. EcoRI ist ein Restriktionsenzym, dass versetzt schneidet und danach Überhänge oder „klebrige Enden“ hinterlässt.

3. Text-Passage

Die klebrigen Enden können von einem anderen Enzym, das Ligase heißt, wieder verbunden werden. Es katalysiert die chemische Reaktion, die die Zucker-Phosphat-Bindungen wieder herstellt.

## Animation „Recombination“ – Station 9

Die unten beschriebene 3D-Animation zeigt die Vorgänge bei der Rekombination von DNA. Dargestellt wird, wie der Restriktionsverdau eines Plasmids mit Hilfe von EcoRI zu einem Schnitt innerhalb des Plasmids führt. Die resultierenden klebrigen Enden des Plasmids können genutzt werden, um ein DNA-Insert, das auch mit EcoRI geschnitten wurde.

Link: [www.dnalc.org/view/15476-Mechanism-of-Recombination-3D-animation-with-with-basic-narration.html](http://www.dnalc.org/view/15476-Mechanism-of-Recombination-3D-animation-with-with-basic-narration.html)

Description:

This animation shows how a gene can be cloned into a plasmid vector by cutting the DNA molecule using restriction enzymes or restriction endonucleases (in this case EcoRI), and then pasting the new piece of DNA into the plasmid at the sticky ends using an enzyme called ligase. This new recombinant DNA molecule can be cloned by being grown in bacteria cells. This is known as recombinant DNA technology.

Transcript:

A common technique in genetic engineering is to insert a new gene into a loop of bacterial DNA called a plasmid. The molecular tool used to cut DNA is a restriction enzyme such as EcoRI. The enzyme has a precise shape that allows it to run along the groove of the double helix, scanning for the base letter sequence GAATTC. EcoRI then cuts the plasmid at this specific point - allowing a new piece of DNA to be inserted. When it cuts, EcoRI leaves a sticky end, which helps the new gene to attach. The joins are then stitched together by another enzyme called DNA ligase. The genetically engineered bacterium is then grown in a culture medium.

Very quickly, large numbers of the bacteria can be produced, each with a copy of the inserted gene. The bacteria duly manufacture whatever protein the gene codes for, and so the desired product is produced.

Keywords:

recombinant dna technology, restriction endonucleases, dna molecule, restriction enzymes, plasmid vector, restriction digests, dna plasmid, dna cloning, restriction endonuclease, restriction enzyme, sticky ends, EcoRI, genetic engineering, narration, bacteria, cells, animation

Übersetzung:

Diese Animation zeigt, wie ein Gen in einen Plasmid-Vektor kloniert werden kann, indem man das DNA-Molekül unter Verwendung von Restriktionsenzymen (auch: Restriktionsendonukleasen, in diesem Fall EcoRI) schneidet und dann das resultierende Stück DNA unter Verwendung des Enzyms Ligase mit Hilfe der klebrigen Enden in das Plasmid einsetzt. Dieses neue rekombinierte DNA-Molekül kann durch Anzucht in Bakterienzellen kloniert werden. Dieses Verfahren heißt rekombinante DNA-Technologie oder Gentechnik.  
  
Eine gängige Methode der Gentechnik ist es, ein neues Gen in ein ringförmiges Molekül aus bakterieller DNA, das als „Plasmid“ bezeichnet wird, einzufügen. Das molekulare Werkzeug, das verwendet wird, um die DNA zu schneiden, ist ein Restriktionsenzym wie z. B. EcoRI. Das Enzym hat eine präzise Form, die es ihm ermöglicht, sich entlang der Rille der Doppelhelix zu bewegen, um die DNA nach der Basisbuchstabenfolge GAATTC abzusuchen. Das Enzym schneidet dann das Plasmid an dieser spezifischen Stelle, so dass ein neues DNA-Stück an dieser Stelle eingesetzt werden kann. EcoRI hinterlässt nach dem Schnitt ein sog. „klebriges Ende“, das es ermöglicht, dass sich das neue Gen an die Schnittstellen anheften kann. Die noch offenen „Fugen“ werden danach von einem anderen Enzym namens DNA-Ligase „zusammengenäht“. Das rekombinante Plasmid wird in Bakterienzellen transferiert. Diese gentechnisch veränderten Bakterien werden dann in einem Medium kultiviert.  
  
In kurzer Zeit kann eine große Anzahl von Bakterien produziert werden, von denen jedes mit einer Kopie des eingefügten Gens ausgestattet ist. Die Bakterien produzieren verlässlich das Protein, für das das Gen kodiert, und so wird das gewünschte Produkt produziert.

Schlüsselbegriffe:

Gentechnik, Restriktionsendonukleasen, DNA, Restriktionsenzym, Plasmid-Vector, Restriktionsverdau, Plasmid, Klonierung, klebrige Enden, EcoRI, Bakterien

## 8.1 Hinweise zur Verwendung von Firmen-Katalogen

Die Stationen 4, 5 und 6 sollten idealerweise mit Hilfe von Katalogen einschlägiger Firmen bearbeitet werden. Diese Nachschlagewerke listen die zu erwerbenden Restriktionsenzyme alphabetisch auf und stellen zusätzliche Informationen zu jedem Enzym bereit. Diese Informationen sind für die praktische Arbeit mit Restriktionsenzymen im Labor von großer Wichtigkeit.

**9 Quellen**

Lehrerinnenfortbildung Baden-Württemberg, individuelle Förderung, Methodenblätter

<https://lehrerfortbildung-bw.de/st_if/bs/if/unterrichtsgestaltung/methodenblaetter/>

Bildungsplan für das berufliche Gymnasium der dreijährigen Aufbauform, Biotechnologische Richtung (BTG), Fassung vom 3. September 2007, Lehrplanheft 2/2007, L-06/34444, Neckar-Verlag