

Leitfaden für die Durchführung von Hauptpraktika E

Die Hauptpraktika E sollen den Bachelorstudenten der Fachrichtung Biowissenschaften grundlegende Fertigkeiten im Umgang mit Nukleinsäuren (E1) und Proteinen (E2) vermitteln. Da HP-E Praktika für alle Studenten obligatorisch sind, müssen Inhalt und Prüfungsmodalitäten der angebotenen Praktika vergleichbar sein.

A. Prüfungsmodalität

Die Note setzt sich aus einer Klausur (50%, nicht multiple choice), einem Ergebnisprotokoll im Stile einer Publikation/Bachelorarbeit (30%, siehe B) und der Bewertung von Mitarbeit/Vortrag (20%) zusammensetzen, wobei die Benotung den Studierenden gegenüber durch Nachbesprechung und Klausureinsicht transparent und vermittelbar gemacht werden soll. Es wird Vergleichbarkeit unter allen HP-E1 bzw. HP-E2 Praktika angestrebt.

B. Allgemeine Kenntnisse

1. Rechnen im Labor (Mess- und Rechengenauigkeit; Rechnen mit molaren Massen; Einstellen von Lösungskonzentrationen, Andreaskreuz etc.). Als Leitfaden z.B. Mathematik im Labor: Ein Arbeitsbuch für Molekularbiologie und Biotechnologie (von Frank H. Stephenso) oder Laborguide Puffer (R. Gromes): http://www.cos.uni-heidelberg.de/data/r.gromes/download/Laborguide_Puffer.pdf
2. Eine generelle Einführung in die Protokollführung; Unterschied zwischen Laborprotokoll und Ergebnisprotokoll.

C. Inhalte HP-E1

1. Konzentrations- und Verdünnungsrechnungen, Ansetzen von Puffern (siehe B)
2. In silico Klonierung
 - a. Identifizierung der Sequenz des zu klonierenden Gens in einer Sequenzdatenbank.
 - b. Primerdesign, Restriktionsschnittstellen
 - c. In silico Klonierung (z.B. Ape Plasmid Editor, Laser Gene, etc.)
 - d. Theoretischer Testverdau
3. Klonierung eines Gens
 - a. Isolation von genomischer DNA

- b. PCR
 - c. Präparativer Restriktionsverdau, Ligation
 - d. Herstellung kompetenter Zellen, Transformation
 - e. DNA-Minipräp
 - f. Überprüfung durch Restriktions- und Sequenzanalyse
4. Genexpressionsanalyse
 - a. mRNA-Isolation und RT-PCR (Reverse transcription-PCR)
 - b. qPCR (quantitative Realtime-PCR)
 - c. Northern- oder Southernblot
 5. Fakultative Inhalte*: andere PCR-Anwendungen, Reporter-genassays

D. Inhalte HP-E2

1. Konzentrations- und Verdünnungsrechnungen, Ansetzen von Puffern (siehe B)
2. Reinigung eines Proteins
 - a. Spezifische Extraktion/Anreicherung eines Proteins (z.B. Ammoniumsulfatfällung, Zellysatfraktionierung, Membranisolation)
 - b. Affinitätschromatographie (z.B. Ni-NTA)
 - c. Eine weitere Säulen-Chromatographie (z.B. Größenausschluss-, Ionenaustauschchromatographie)
 - d. Handhabung einer automatischen Chromatographieanlage (zB: Äkta, HPLC, UPLC)
3. SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE)
4. Proteincharakterisierung (z.B. Quatärstrukturanalyse mittels Gelpermeations-Chromatography; Proteinstabilitätsanalyse mittels Thermofluorassay)
5. Quantitative Charakterisierung der Proteinaktivität: Enzymkinetik und/oder quantitative Bindungsassays
6. Immunanalytische Methoden
 - a. Co-Immunpräzipitation
 - b. Westernblot
7. Fakultative Inhalte*: andere Protein-Protein-Wechselwirkungsassays (in vitro/in vivo), ELISA, Immunhistochemie, Isoelektrische Fokussierung, native-, 2D Gelelektrophorese

*, Fakultative Inhalte, welche nicht praktisch durchgeführt werden, sollen zumindest theoretisch behandelt werden.