

Under Bioresursdagarna 18-19 november i Uppsala provade deltagarna bland annat på en laboration med analys av markören D1S80 med sitt eget DNA. Här laddar en deltagare för att ladda sitt prov på en agarosgel.



Lika eller olika?



Text: Ammie Berglund

De kompletta DNA-sekvenserna (genomen) har beskrivits för ett stort antal organismer, men för många undersökningar räcker det att studera vissa delar av DNA. Vilken del av arvsmassan ska man i så fall välja? Det beror på din frågeställning...

Kan vi testa om fiskdiskens torskfilé är äkta eller från någon annan fiskart? Ja, om vi undersöker en del av DNA som varierar lagom mycket och skiljer ut olika fiskarter från varandra. Delar av DNA som varierar mellan arter, men inte så mycket inom arten, är lämpliga för att artbestämma vävnadsprover eller för att studera släktskap mellan arter. Genom att jämföra med kända prover av fiskarter som analyserats med samma metod kan vi identifiera fiskfilén.

Vissa delar av DNA är mycket variabla också inom en art. Sådana områden av DNA är användbara för att kartlägga den genetiska variationen både inom och mellan populationer. Är den torskfilé vi köpt verkligen fiskad i norra Ishavet? Om vi känner till den genetiska variationen hos torskpopulationer i olika regioner kan DNA-analysen ge svar på var fisken fångats.

I artikeln ska vi i fortsättningen titta närmare på oss själva och en del av vårt DNA som innehåller ett område med intressant variation.

D1S80 – en genetisk markör

Begreppet *genetisk markör* används för ett locus (plats i DNA) som är användbart för att kart-



Vilken fiskart?

lägga genetisk variation. Hos människa anger D1S80 ett locus på den korta "armen" av kromosom nr 1. Detta locus innehåller vad som kallas "tandem repeats", en DNA-sekvens som upprepas flera gånger efter varandra (jämför med tandemcykel där en cyklist sitter bakom en annan cyklist). D1S80 är en genetisk markör av typen VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) som förekommer på många platser i vårt genom.

I D1S80 är den upprepade sekvensen 16 baspar (bp). Det som skiljer olika D1S80 alleler (genetiska varianter) är antalet upprepningar. Bland människor från olika delar av världen har man hittat mer än 27 olika alleler som har från 14 till mer än 41 upprepade enheter efter varandra. Allelerna varierar alltså i längd, en egenskap som gör att vi kan identifiera skillnader med hjälp av gelelektrofores där DNA-bitar (fragment) kan separeras utifrån längd/storlek.

Normalt bär vi på två alleler för D1S80 i våra kroppsceller. Den ena kromosom nr 1 fanns i ägget och den andra följde med den spermie som befruktade ägget. En person som ärvt samma allel för D1S80 från både sin mamma och pappa har en homozygot genotyp vilket syns vid gelelektrofores som ett enda färgat band av DNA. Har man ärvt olika alleler från mamma och pappa är man heterozygot vilket syns på gelen som två färgade band.

CSI-markör?

För att identifiera individer behöver man kombinera analyser av flera olika delar av genom. I brottsundersökningar används 13 olika *loci* (plural av locus). Sannolikheten att två individer har exakt samma kombination av alleler för alla 13 markörer är mycket låg.

D1S80 används i skolsammanhang men inte längre som en markör i kriminalfall. I skolan är det bra med stora skillnader i längd mellan allelerna eftersom det underlättar separation med vanlig agarosgel. D1S80-allelerna är däremot

för långa (ibland över 800 bp) för att lämpa sig för de automatiska metoder som används inom kriminaltekniken. Genetiska markörer av typen STR (Short Tandem Repeats) används i stället där den upprepade sekvensen består av 4 bp och de längsta allelerna är kortare än 350 bp.

D1S80 i populationsstudier

D1S80 har använts i många studier av variation inom och mellan mänskopopulationer. Med hjälp av variationsmönstren får man en bild av släktskap mellan olika grupper. Ur den globala variationen framträder vissa mönster. Två alleler är särskilt vanliga: de med 18 och 24 upprepningar har en allelfrekvens på över 70%. Sannolikheten är alltså stor att man i en elevgrupp hittar allelerna med 18 (434 bp) och 24 (530 bp) upprepningar. Förekomst (om de finns) och frekvens (hur vanliga de är) av andra alleler varierar mellan populationer från olika delar av världen.

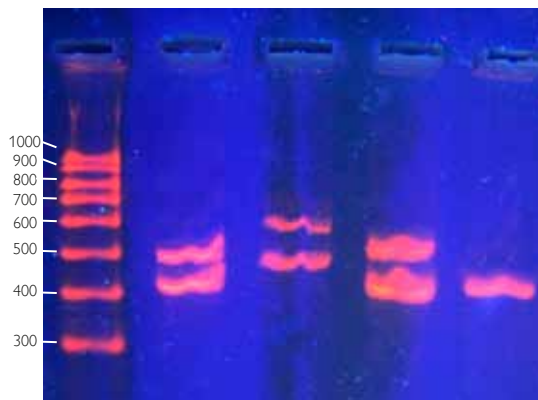
D1S80 i skolan

En fördel med D1S80 jämfört med exempel vis PV92 (*Alu* repeats, se Linnéhäfte nr 6 och Bi-lagan nr 3 2004) är att den är mer variabel. Analys av PV92 visar oftast bara om man är homozygot eller heterozygot för de två alleler som är vanligast. Om man använder D1S80 som genetisk markör och testar en grupp elever brukar man få bandmönster som visar på fler alleler och därmed fler skillnader mellan eleverna.

De genetiska markörer man använder i skolan får inte vara kopplade till risker för sjukdom eller andra fysiska eller psykiska problem. Hur är det med D1S80? Vi har haft kontakt med forskare i medicinsk genetik och med utgångspunkt i deras utlåtanden och egna efterforskningar bedömer vi att det, utifrån dagens kunskap, inte är några problem att använda markören i skolsammanhang för att analysera elevernas egna DNA.

D1S80 utgör inte en proteinkodande sekvens och går inte heller att koppla till någon speciell egenskap. Det är tänkbart att den kan påverka regleringen av andra gener men om detta vet man i nuläget inte särskilt mycket. Vi rekommenderar inte att man använder markören för att kartlägga familjeband utan enbart för att illustrera variation på molekylär nivå mellan individer.

Ett syfte med laborationen är att eleverna får prova på gentekniska metoder så som DNA-extraktion, PCR och gelelektrofores. Ett annat syfte är att eleverna får analysera sitt eget DNA och på så sätt får en personlig koppling till analysresultatet. Den personliga anknytningen kan förstärka engagemanget för att diskutera eventuella etiska dilemman med DNA-tester.



Agarosegel gjuten med färgämnet GelRed. I UV-ljus syns band som motsvarar PCR-produkterna för markören D1S80. Laborationen testades under Biore-sursdagarna 18-19 november i Uppsala. Storleksmarkören till vänster visar ett band för varje 100 bp.

Förslag på frågeställningar

Ett förslag på frågeställning är: "Finns några alleler av D1S80 som är mer vanligt förekommande i klassen än andra?" En hypotes kan formuleras utifrån bakgrundsinformation som gavs tidigare (att det kommer att finnas två alleler som är vanligast, allel 18 och 24). Några förslag på frågeställningar att diskutera efter undersökningen:

- Får vi stöd för hypotesen att allelerna 18 och 24 är de vanligaste för D1S80?
- Hur kan vissa alleler vara vanligare i till exempel Asien medan andra alleler är vanliga i Europa?
- Kan vi med hjälp av enbart D1S80 identifiera en person, exempelvis i ett kriminalfall?
- Identifiera felkällor och förklara hur de kan leda till eventuellt avvikande resultat (till exempel inga band, fler än två band eller kanske oväntat många som har identiska bandmönster).
- Formulera argument för och emot tillämpningar av gentekniska metoder i samhället. Finns det några etiska frågor att ta upp i sammanhanget?
- En fråga som knyter ihop den här laborationen med klassisk genetik (kursen Bi1): Vilka D1S80-genotyper kan avkomman få om du väljer två olika bandmönster från klassens resultat efter D1S80-analysen och antar att personerna får barn tillsammans?

Hands-on

På Bioresurs hemsida (i anslutning till Bi-lagan nr 3 2013) finns labinstruktioner och praktisk information. Stort tack till de lärare vid Katedralskolan i Uppsala som bidragit till utvecklingen av laborationen. Särskilt tack till Åsa Steinholtz (tekniker) som med entusiasm och skicklighet engagerat sig i utvecklingsarbetet.

Information om gelbildstolkning och hur man använder linjär regression för att bestämma storleken på DNA-fragment finns också på hemsidan.

Referenser:

Referenser till vetenskapliga artiklar om D1S80 finns på Bioresurs hemsida i anslutning till Bi-lagan nr 3 2013.

Utförligt engelskspråkigt protokoll om D1S80: www.babec.org/files/PCR_2012/D1S80_PCR_Student_Guide_2012.pdf