

Invasiva arter i barlastvattnet

Lärarhandledning

I denna övning ska eleverna försöka hitta spår av invasiva arter med hjälp av kända DNA-sekvenser. Eleverna får "vattenprover" för att se om en invasiv art kan ha följt med i barlastvattnet. Den gentekniska metod som står i centrum är PCR.

Syftet med övningen är att visa på hur en genteknisk metod (PCR) fungerar och kan användas för att lösa problem kopplade till ekologi och hållbar utveckling.

Tidsåtgång: Övningen kan genomföras med en introduktion, genomförande och genomgång på en lektion (ca 60 minuter).

När och hur passar övningen in?

Exempel på koppling till styrdokument, grundskola (Lgr 22):

- Några gentekniska metoder samt möjligheter, risker och etiska frågor kopplade till genteknik.
- Människans påverkan på naturen lokalt och globalt samt hur man på individ- och samhällsnivå kan främja hållbar utveckling. Betydelsen av biologisk mångfald och ekosystemtjänster.

Temat för övningen är invasiva främmande arter. Om ni arbetat med detta område tidigare så ger övningen möjlighet att påminna och återknyta till tidigare kunskaper. Om ni ännu inte tagit upp något om invasiva främmande arter så ger övningen i sig en möjlig ingång till detta viktiga område. Tips på fler undervisningsmaterial kring temat invasiva främmande arter finns på Bioresurs webbplats.

Förkunskaper?

Övningen har testats på elever som ännu inte läst genetik (åk 9-elever). De fick en mycket kort introduktion till hur DNA är uppbyggt innan de fick ta sig an övningen, som sedan fungerade bra. Den nivå på DNA-kunskaper som krävs för övningen går att se i elevinstruktionen (se "Liten DNA-skola"). Det handlar om att förstå att:

- DNA byggs av fyra olika byggstenar (nukleotider med kvävebaserna A, T, G, C)
- DNA består av två strängar som hålls ihop med parningen A-T, G-C (basparning)
- DNA-sekvenser innebär läsning längs med en DNA-molekyl (ATTCGGGCCAG)

Övningen i korthet

Svartmunnad smörbult, amerikansk kammanet och kinesisk ullhandskrabba har alla klassats som invasiva främmande arter i Sverige. En väg in är via fartyg. Övningen bygger på "vattenprover" från olika fartyg i hamn, påsar med utklippta pappersremsor med DNA-sekvenser.

I övningen används DNA-sekvenser för de tre invasiva arterna som hämtats från databasen NCBI. Vi har tagit de 40 första basparen på en gen som kallas 12S rRNA. Genen finns i mitokondriernas DNA och har ganska olika sekvenser hos de här arterna, vilket gjorde det lätt att göra olika **primers**. Primers är de korta bitar av enkelsträngat DNA som används för att markera start och stopp för kopieringsenzymet DNA-polymeras som används i PCR. I elevinstruktionen finns en ruta med mer information om primers.

Eleverna klipper ut primers (se bilder i gult/blått), tar upp pappersremsor med DNA-sekvenser ur "vattenprovet" och ser efter om primers passar eller inte. Om de inte passar så händer inget. Ta nästa sekvens och pröva igen. I övningen ingår "skräp"-sekvenser som INTE kommer att fångas av dessa primers. De motsvarar verklighetens vattenprover där det kan finnas DNA-bitar från alla möjliga organismer i ett och samma prov.

Didaktiska tips

Introducera begreppet DNA-sekvens: ge eleverna varsin sekvens och be dem hitta igen de klasskamrater som har samma sekvens. Utskriftsmaterialet kan användas även för detta (8 olika sekvenser, 10 sekvenser per papper, se nedan). Ska ge förståelse för att det är ordningen längs med DNA-strängen som är det intressanta (inte bara basparningen). Kan kombineras med att gruppen som bildats ska ta reda på "vem är jag/vi?" - och då kan man ha ett blad med "facit" som de ska jämföra sina sekvenser med. "Skräpsekvenserna" som ingår i utskriftsmaterialet här är inte kopplade till några specifika arter - så där får du själv hitta på vilka arter de ska motsvara.

Förklara PCR-metoden: använd gärna animeringar eller interaktiva simuleringar för att illustrera metoden. Exempel: [Polymerase Chain Reaction \(Interactive\) från DNA Learning Center](#). Observera att i de första cyklerna i PCR bildas längre DNA-kopior, innan avgränsningen mellan primer 1 och 2 "märks". Övningens fokus ligger på förståelse av funktionen hos detta med primers, inte på hur processen med själva kopieringen går till. Det kan gärna sparas till gymnasiet där bygganden för DNA får en högre detaljnivå, vilket underlättar förståelsen av kopieringsmekanismerna. Under utprovningen gjorde eleverna själva associationen till att det då måste finnas speciella primers för "corona-viruset" (PCR-tester har under pandemin blivit omnämnda mycket).

Variera "vattenproven": Vattenproven kan göras mer komplexa med fler skräpsekvenser eller fler olika invasiva arter. En risk med många skräpsekvenser är att eleverna tröttnar på att leta efter "träffar". Vid utprovningen hade vi 10-15 skräpsekvenser per vattenprov och en sekvens med träff - det var på gränsen till för många (enligt eleverna). Att variera vattenproven med att lägga in olika kombinationer av invasiva arter går också. Kanske något vattenprov inte ska innehålla någon invasiva art alls? (men det tycker nog eleverna som får den påsen är lite tråkigt).



Förberedelser

Till övningen finns följande utskriftsmaterial:

1. Fem papper med olika varianter på skräpsekvenser (10 identiska sekvenser/blad).
2. Tre papper med sekvenserna från de invasiva arterna (ett papper för vardera art).
3. Ett papper med primer 1 + primer 2 för de tre invasiva arterna.

Förberedelse för 10 elevgrupper:

- Skriv ut 1 enkelsidigt papper av varje skräpvariant och lägg ihop till en pappersbunt (5 papper tjockt).
- Klipp/skär längs med så att man får 10 buntar hel-långa sekvenser (som innehåller en kopia av de 5 olika skräpsekvenserna).
- Ta fram 10 påsar/burkar som numreras på något sätt (vattenprov 1-10).
- Innan du lägger ner skräpsekvenserna i påsar/burkar: klipp av två av dem på hälften eller en tredjedel (varje påse ska ha en blandning av olika skräpsekvenser med lite olika längder).
- Skriv ut enkelsidiga papper för de tre invasiva arternas sekvenser. Till 10 grupper räcker det med ett blad per art. Klipp isär längs med och låt dem vara helt långa (klipp inte sönder dem).
- Placera ut 1-2 sekvenser från en invasiv art till påsarna. Förslagsvis EN invasiv art per påse. Notera vilka påsar du tillsatt vilken invasiv arts DNA-sekvens i.
- Nu är påsarna färdiga vattenprover!
- Skriv ut blad där det finns primer 1 och primer 2 för de tre invasiva arterna. Förslagsvis ett blad per grupp (eller till varje elev).
- Dela ut SAX till grupperna, så att de kan klippa ut primers.



Svartmunnad smörbult
Neogobius melanostomus



Amerikansk kammanet
Eriocheir sinensis



Kinesisk ullhandskrabba
Mnemiopsis leidyi

Svarsförslag till frågorna:

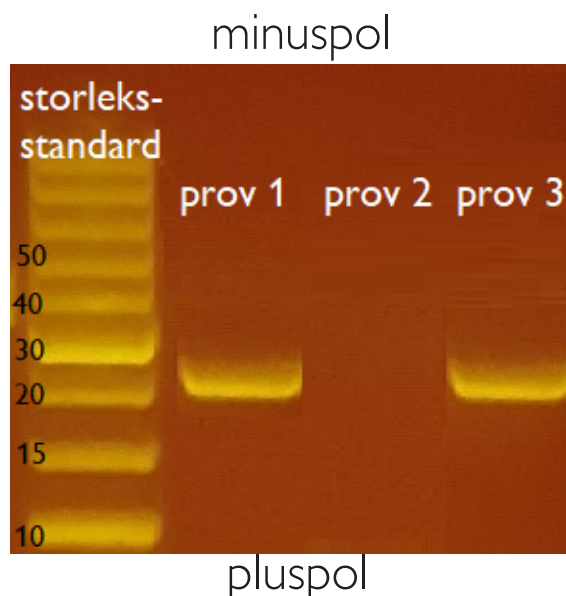
1. Hittade du spår av DNA från någon av de tre invasiva främmande arterna i vattenprovet? Vilken art var det i så fall?
I varje påse ska det finnas en eller två sekvenser från **en** av de tre arterna. Alltså blir det olika svar/påse. Ha ett facit tillgängligt för återkoppling till grupperna.
2. Vad är en DNA-sekvens?
Det är ordningen av nukleotider längs DNA t.ex. ATCGGTTACG
3. Varför användes olika primers för de tre olika arterna?
För att hitta respektive arts unika DNA-sekvens.
4. Vad menas med "längden på en PCR-produkt"? Vad blev längden på PCR-produkten du fick fram?
Det är hur många nukleotider med kvävebaser som sitter ihop i en lång rad. PCR-produkterna är 33, 25 och 19 baspar (bp) långa.
5. Vad kan hända om man använder väldigt korta primers? (t.ex. ATC)
De kan fästa på många fler ställen och blir alltså inte specifika för respektive art.
6. Är det troligt att hitta DNA från alla tre arter i vattnet? Varför/ varför inte?
Ett agument mot är att det är mindre troligt då svartmunnad smörbult kommer från Svarta havet, amerikansk kammanet från USA och Kinesisk ullhandskrabba från Asien. Men ett argument för att det ändå kan förekomma är att fartyg kan röra sig mellan olika hav och kontinenter och ett fartyg skulle därmed kunna samla på sig arter från flera olika delar av planeten.
7. Hur kan man förhindra att nya arter kommer till nya havsområden?
Lagar och regler för hur fartyg får hantera barlastvatten. Kontroller. Eventuell desinfektion/avdödning när ett fartyg lämnar ett område och ska över i ett annat (men svårt praktiskt att hantera hela fartyg).

Uppgift 2

Gelelektrofores är en metod för att ta reda på om det har bildats en produkt efter att ha kört en PCR-reaktion. Beroende på vilka primers man har använt blir DNA-sekvenserna från de olika djuren olika långa (med olika antal baspar). För att ta reda på hur långa de är kan proverna laddas på en gel.

Svarsförslag till frågorna:

Tänk att bilden här ovanför visar resultatet av en PCR-analys där vi sökt efter arten kinesisk ullhandskrabba i tre olika vattenprover.



1. I vilket/vilka vattenprover finns det spår av kinesisk ullhandskrabba?

I prov 1 och 3 finns ett tydligt ljus band som visar att vi fått fram stora mängder DNA där. Det måste tyda på att primers som passar mot DNA från kinesisk ullhandskrabba funnits i dessa vattenprov.

2. I vilket/vilka vattenprover finns inte spår av kinesisk ullhandskrabba?

I prov 2 saknas ett ljus band. I prov 2 har det inte bildats någon stor mängd DNA. Det måste betyda att primers som passar mot DNA från kinesisk ullhandskrabba inte kunnat matcha något DNA i prov 2, och därför har vi inte heller fått någon PCR-produkt i det provet.

3. Hur vet vi att det är just kinesisk ullhandskrabba som vi undersökt?

Om de primer vi använt är specifika och endast passar in på just kinesisk ullhandskrabba så kan vi vara säkra på att ett DNA vi kopierat upp kommer ifrån just den arten.

4. Ungefär hur långa är PCR-produkterna för kinesisk ullhandskrabba enligt bilden?

Med hjälp av storleksstandard kan man se att det ljusa strecket för prov 1 och prov 3 ligger mellan 20 och 30 baspar i längd. En gissning är att det är ca 25 baspar långt (baspar = bp).

OBS! Det blir inte ett linjärt samband mellan storlek och vandringssträcka på en gel, snarare logaritmiskt. Därav det allt tätare förhållandet mellan banden som motsvarar längre och längre DNA-bitar i storleksstandard.

Styrkan på färgen/intensiteten i ett band på en gel motsvarar mängden PCR-produkt som laddats på gelen.

Normalt sett är de PCR-produkter man tar fram i liknande undersökningar betydligt längre än de som används i dessa exempel.