

DNA-Extraktion aus Zwiebel



Name: _____

Klasse: _____

Datum: _____

Einleitung

DNA (Desoxyribonukleinsäure) ist die in den meisten Organismen vorkommende Erbinformation. Obwohl die DNA in einer Zelle etwa 10.000 Mal so lang ist wie die Zelle selbst, beansprucht sie doch nur 10 % des Zellinnenraums. Die DNA nimmt nur deshalb einen so geringen Platz innerhalb der Zelle ein, weil sie stark gefaltet und mit Proteinen zusammen in komplexe Einheiten gepackt ist, die als Chromosomen bezeichnet werden

Mit diesem Verfahren wird chromosomale DNA aus einer gewöhnlichen Zwiebel extrahiert. Dazu wird die Zwiebel zuerst in einen Mixer gegeben, um die festen Pflanzenzellwände aufzubrechen. Im nächsten Schritt werden dann die Zellmembranen zerstört. Zellmembranen bestehen aus Proteinen und Fetten. Genauso wie ein Detergens (z. B. Spülmittel) Fett in einer Bratpfanne löst, lassen sich auch Zellmembranen durch den Zusatz von ein wenig Detergens auflösen. Den Vorgang Zellen aufzubrechen, nennt man Zellyse. Sie verwenden bei diesem Verfahren ein Heißwasserbad und eine Zellyselösung (Cell Lysis Solution) auf Detergensbasis, um die Zellmembranen der Zwiebel aufzulösen. Bei der Auflösung der Zellmembranen fließt der Zellinhalt aus und bildet eine Suppe aus DNA, anderen Nukleinsäuren, aufgelösten Membranen, Zellproteinen und weiteren Inhaltsstoffen. Es ist

nicht notwendig, hoch reine DNA herzustellen, da die Aufgabe nur darin besteht, diese sichtbar zu machen. Die DNA, die Sie aus der Zellsuppe isolieren, ist daher unrein und enthält zelluläre Proteine sowie weitere Zellbruchstücke. Um die DNA sichtbar zu machen, geben Sie eine DNA-Präzipitationslösung (DNA Precipitation Solution) auf Alkoholbasis zu der Zellsuppe hinzu. Da die DNA in Alkohol nicht löslich ist, wird sie präzipitieren (ausfallen) und es bildet sich eine „weiße Wolke“ aus feinen, zähen Fasern. Zu diesem Zeitpunkt können Sie die DNA auf ein Holzstäbchen aufwickeln und sie genauer betrachten. Dieses Verfahren ist bekannt als das Aufspulen der DNA.

Versuchsanleitung

- Eine grob zerschnittene mittelgroße Zwiebel in den Mixer geben.
- 60 ml Wasser zugeben (das konische 50-ml-Röhrchen kann dazu als Messgefäß benutzt werden).
- 30 s bei niedriger Geschwindigkeit mixen, um die Zwiebel aufzuschließen.
- 10 s mixen, um die Zwiebel zu verflüssigen; pausieren und auf grobe Partikel prüfen; falls nötig, nochmals mixen.
- Schritt 4 zweimal wiederholen; die Zwiebel sollte nun verflüssigt sein.
- 7 ml der Zwiebelmischung in das Röhrchen geben, welches bereits 7 ml der Cell Lysis Solution enthält; den Inhalt durch Umdrehen des Röhrchens mischen. *Nicht schütteln.*
- Für 15 min. in ein Wasserbad mit 60 – 65 °C stellen; es ist wichtig, dass die Temperatur über 60 °C, aber unter 70 °C liegt. Eine Temperatur über 60 °C wird benötigt, um die Enzyme zu zerstören, die die DNA abbauen.
- Filter in 50-ml-Röhrchen einlegen; langsam die lysierte Zwiebelmischung über den Filter gießen und das klare, pinkfarbene Filtrat (gefilterte Flüssigkeit) in das Röhrchen tropfen lassen.
- Vorsichtig ein entsprechendes Volumen der eiskalten DNA Precipitation Solution über das Filtrat, das sich am Boden des Röhrchens befindet, schichten.

Vorsicht: Die DNA kann nicht aufgespult werden, wenn sich die DNA-Präzipitationslösung mit dem Filtrat vermischt. Das Röhrchen sollte in einem leichten Winkel gehalten und die Präzipitationslösung so zugegeben werden, dass sie langsam an der Innenseite des Röhrchens abläuft, damit sie nicht direkt in das Filtrat hineintropft.

- Die klare DNA Precipitation Solution wird sich oben in der Mischung abscheiden. Das klare pinkfarbene Filtrat wird sich am Boden des Röhrchens befinden und die DNA aus der Zwiebel sollte an der Grenzfläche der DNA Precipitation Solution und dem Filtrat vorliegen. Die DNA erscheint als eine Wolke aus feinen, viskosen Fäden.
- Die DNA wird zur genaueren Untersuchung mit Hilfe des Holzstäbchens aufgespult. Dazu das Holzstäbchen in das Röhrchen knapp unter die DNA-Wolke einführen; das Stäbchen drehen und dabei vorsichtig zwischen der DNA und dem pinkfarbenen Filtrat am Boden des Röhrchens vor- und zurück bewegen. Bitte darauf achten, dass die Schichten nicht vermischt werden. Die DNA sollte sich dann um das Holzstäbchen legen wie Garn um eine Spule.