

Biotechnologie-Forscher™

Genes in a Bottle Kit

DNA Extraktionsmodul

Bestellnummer

166-2000EDU

DNA necklace module (166-2200EDU)

muß separat bestellt werden

explorer.bio-rad.com

Beachten Sie die Temperaturangaben zur Lagerung der einzelnen Komponenten

Das Vervielfältigen von Teilen dieses Dokuments ist nur für den Schulgebrauch erlaubt.

Ein Überblick

Die DNA ist zum alltäglichen Gesprächsthema in den Medien und im Klassenzimmer geworden, ganz gleich, ob es um Klonierung, Sequenzierung, Fingerprinting, Kartierung oder genetische Bearbeitung geht. Führen Sie Ihre Schüler ein, in den molekularen Bereich der Biologie – und zwar mit Leib und Seele. Die Schüler können ihre eigene DNA isolieren, konservieren und schließlich in einem Gefäß aufbewahren.

Wie isolieren Wissenschaftler reine DNA aus Zellen, die hauptsächlich aus Lipiden, Proteinen, Kohlehydraten und Salzen bestehen? Als Erstes werden Membranen mit Detergenzien aufgebrochen, um die DNA in Lösung zu bringen. Dann werden die Proteine und andere Moleküle verdaut und abgetrennt, während die DNA intakt bleibt. Die DNA wird schließlich gewonnen, indem man sie so fällt, daß sie wie gewünscht bearbeitet werden kann.

Diese einfache Labortätigkeit vermittelt den Schülern praktisches Wissen, indem sie eine Realitätsnahe Labortätigkeit durchführen, die zur Extraktion von DNA aus vielen verschiedenen Organismen für eine Reihe von Verwendungszwecken angewandt wird. Die Schüler werden genomische DNA aus ihren eigenen Wangenzellen extrahieren und zuschauen, wie sie aus der Lösung als schwebende weiße Stränge ausfällt. Mit Hilfe des DNA „Extraction Moduls“ (166-2200EDU), werden die DNA Stränge dann leicht gesammelt und in ein Glasgefäß überführt, das als Anhänger verwendet werden kann.

Dieser Kit ist für alle Schüler bis zur Oberstufe geeignet, auch bei geringem Hintergrundwissen. Diese Laborarbeit kann zu jedem Zeitpunkt eines typischen Biologie oder Life-Science Kurses ausgeführt werden und zwar im Rahmen der Diskussion über Zellen, Zellstrukturen, Mitose, Meiose, Genetik und DNA Technologie.

Schülern, die zum ersten Mal vom molekularen Bereich der Biologie hören, erscheint die DNA abstrakt und nicht greifbar. Dieser Versuch macht das Unsichtbare sichtbar – man kann seine eigene DNA betrachten, sie wird real. Die Darstellung der DNA und die Labortätigkeit fördert das Verständnis der Schüler von der DNA als genetischem Plan und hilft ihnen, dieses vorher unsichtbare Lebenselixier zu verstehen.

Dieser Kit enthält Lernhilfen für alle Unterrichtsstufen. Die Arbeit kann in jedem Klassenzimmer durchgeführt werden und erfordert keine spezielle Ausstattung. Für die Schüler der Mittel- oder Oberstufe kann das Wissen über DNA-Struktur und Funktion, Zellstruktur und Enzymfunktion durch diese Laborarbeit vermittelt oder vertieft werden. Für Mittelschüler stellt dieser Versuch eine perfekte Einführung in die Welt der DNA Wissenschaft dar.

Wir freuen uns über Ihre Kommentare und Vorschläge. Viel Spaß!

Nebbie Idris, PhD
Biotechnology Explorer
Product Manager

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Anleitung für die Lehrkraft | |
| Kit-Inhalt und Zubehör Checkliste | 1 |
| Überblick für die Lehrkraft | 2 |
| Warum sollte über die DNA Extraktion berichtet werden? | 2 |
| Zielgruppe | 2 |
| Planung des Lehrplans | 3 |
| Empfohlenes Hintergrundwissen der Schüler | 3 |
| Zeitplan | 3 |
| Sicherheitsmaßnahmen | 3 |
| Schlüssel zum Erfolg | 3 |
| Volumenbestimmungen | 3 |
| Hintergrundinformation und Grundlagen | |
| Anleitung für Anfänger | 4 |
| Anleitung für Fortgeschrittene | 6 |
| | |
| Laboranleitung für die Lehrkraft | |
| | |
| Vorschlag zur Gestaltung der Stunden und Zeitübersicht | 8 |
| Vorbereitungen der Lehrkraft | 8 |
| Arbeitsplatz-Checkliste | 10 |
| Kurzanleitung (Grafisches Laborprotokoll) | 11 |
| | |
| Schülerhandbuch | |
| | |
| Handbuch für die Schüler: Anleitung für Anfänger | 14 |
| Einführung und zentrale Fragen | 15 |
| Arbeitsplatz Checkliste | 18 |
| Anleitung zur DNA Extraktion und Präzipitation | 18 |
| Handbuch für die Schüler: Anleitung für Fortgeschrittene | 21 |
| Einführung und zentrale Fragen | 22 |
| Arbeitsplatz Checkliste | 27 |
| Anleitung zur DNA Extraktion und Präzipitation | 27 |
| Zusätzliche Aufgaben | 30 |
| Theoretische Demonstration der DNA Extraktion | 30 |
| Beobachtungen am Mikroskop und Kernfärbung der Wangenzellen | 30 |
| Antworten auf die Kernfragen | 32 |
| Anleitung für Anfänger | 32 |
| Anleitung für Fortgeschrittenen | 33 |

Anleitung für die Lehrkraft

DNA Extraktions-Modul Inhalt und Zubehör

Die Materialien in diesem Kit reichen für 36 Schüler

| Kit Inhalt | Vorhandene Menge |
|---------------------------------------|-------------------------|
| Lyse-Puffer | 150 ml |
| Protease- und Salzpulver | 1,5 g |
| 15 ml Testgefäße mit runden Boden | 50 |
| farblose Mikro Testgefäße | 60 |
| farbige Mikro Testgefäße | 60 |
| Wegwerf-Transfer Pipetten aus Plastik | 60 |
| Mikrogefäßständer aus Styropor | 10 |

| Benötigtes Zubehör, (nicht in diesem Kit enthalten) | benötigte Menge |
|---|------------------------|
| 91% Isopropanol (erhältlich in Apotheken) oder 95% Ethanol | ca. 250 ml |
| Wasserbad mit Thermometer, eingestellt auf 50°C* | 1 |
| Permanent Marker | 1 – 9 |
| Eisbehälter | 1 |
| Papiertasse oder Becher für Abfälle | 9 |
| Becher/Ständer für die 15 ml Gefäße im Wasserbad (bis maximal 36 Gefäße) | 1 |

| Optional DNA Anhänger („Necklace“) Modul** (nicht in diesem Kit enthalten) | |
|---|--------|
| 166-2200EDU enthält: | |
| Glasgefäße | 18 |
| Silber Kappen | 18 |
| Plastik Stopfen | 18 |
| Gewachste Schnur | 18 |
| „Super glue“ Gel | 1 Tube |

* Ist kein temperierbares Wasserbad verfügbar, benutzen Sie einen oder mehrere Behälter (am besten aus Styropor), die groß genug sind für die Reaktionsgefäßständer und füllen Sie sie mit 50°C warmen Wasser.

** Jedes DNA Anhänger („necklace“) Modul enthält ausreichend Material, um 18 Anhänger herzustellen. Man benötigt zwei Kits für eine Klasse mit 36 Schülern.

DNA Extraktion aus Wangenzellen

Füllen Sie Ihre genetische Essenz in ein Fläschchen

Überblick für die Lehrkraft

Warum sollte über die DNA Extraktion berichtet werden?

- 1. DNA Extraktion gibt den Schülern die einmalige Gelegenheit, ihre eigene genetische Essenz zu sehen.**

Sie und Ihre Schüler werden begeistert sein, zu erleben, wie die Substanz, die sie einzigartig macht, vor den eigenen Augen sichtbar wird. Die gefällte DNA kann versiegelt werden und in einem attraktiven Glasbehälter lange Zeit aufbewahrt werden

- 2. DNA Extraktion hilft den Schülern, die Eigenschaften der DNA zu verstehen.**

Die DNA Moleküle, die die Chromosomen ausmachen, sind unvorstellbar lang und dünn. Bitten Sie die Schüler sich vorzustellen, wie so lange Moleküle in mikroskopisch kleine Wangenzellen passen können. Die feinen weißen Fäden, die als DNA Präzipitat zu erkennen sind, sind Tausende von DNA Molekülen, die aufgewickelt sind, wie Garnfäden.

- 3. DNA Extraktion ist der erste Schritt in der DNA Technologie.**

Die DNA Extraktion ist ein Routineschritt in vielen Biotechnologie Verfahren: Gen-Klonierung, Gen-Kartierung, DNA Sequenzierung und DNA Fingerprints. Alle erfordern, daß DNA aus den Zellen oder Geweben extrahiert und isoliert wird. Dieser Versuch zeigt den Schülern, wie leicht DNA für die „cutting-edge“ Forschung isoliert werden kann.

Zielgruppe

Dieser Laborversuch ist für Schüler der Mittel- und Oberstufe als erste Einführung in die DNA Thematik geeignet, oder als schnelle, leichte und beeindruckende praktische Tätigkeit, begleitend zum Unterricht. Auch Schüler, die schon DNA aus Zwiebeln oder Leber extrahiert haben, finden es weit packender, ihre eigene DNA zu isolieren.

Diese Anleitung beinhaltet sowohl einen Teil für Fortgeschrittene als auch einen für Anfänger. Je nach Wissenstand der Schüler können Sie die Tätigkeiten und Hintergrundwissen aus dem jeweiligen Abschnitt wählen. **Für beide Unterrichts-Levels liegt ein komplettes Handbuch für die Schüler vor.**

Planung des Lehrplans

Diese Labortätigkeit kann an jeder Stelle während eines typischen Biologie oder Life-Science Schuljahres durchgeführt werden, aber sie paßt besonders gut, wenn folgende Punkte diskutiert werden:

- Biomoleküle
- Zellstruktur
- Mitose und Meiose
- Genetik
- DNA Technologie

Empfohlenes Hintergrundwissen der Schüler

Schüler der Oberstufe sollten ein Grundverständnis von der Struktur und Funktion der DNA aufweisen können, ehe sie mit dieser Laborarbeit beginnen. Bei den Schülern der Mittelstufe werden keine Vorkenntnisse bezüglich der Struktur und Funktion der DNA erwartet.

Zeitplan

Dieser Laborversuch kann leicht in einer Unterrichtszeit von 50 Minuten durchgeführt werden, er kann aber auch um einige Zusatzaktivitäten erweitert werden.

- | | |
|-----------|---|
| 1. Stunde | Einführung und Hintergrundwissen |
| 2. Stunde | Isolation von Wangen Zellen, DNA Extraktion und Präzipitation |
| 3. Stunde | Herstellung eines DNA Anhängers (optional) |

Sicherheitsmaßnahmen

Essen, Trinken, Rauchen und Schminken ist im Labor nicht gestattet. Das Tragen von Schutzbrillen und Handschuhen wird strengstens empfohlen. Die Schüler sollten vor und nach der Übung ihre Hände mit Seife waschen. Kommt eine der Lösungen ins Auge eines der Schüler, spülen Sie es 15 Minuten mit Wasser.

Schlüssel zum Erfolg

Es ist entscheidend für den Versuch, daß genug Zellen gesammelt werden. Um die besten Ergebnisse zu erhalten, vergewissern Sie sich, daß die Schüler die empfohlene Zeit für das Sammeln und Überführen der Zellen aufwenden.

Volumenbestimmung

Dieser Kit wurde für die Anwendung im Klassenzimmer mit einer minimalen Laborausstattung und begrenzter Kenntnis wissenschaftlicher Techniken entwickelt. Mikropipetten sind nicht erforderlich, können aber zum Transfer von Flüssigkeiten eingesetzt werden.

Hintergrundinformation und Grundlagen, für die Anleitung für Anfänger

Was ist DNA und was macht sie?

Desoxyribonukleinsäure (DNA) ist ein Molekül, das in allen Lebewesen vorkommt, einschließlich Bakterien, Pflanzen und Tieren. Die DNA trägt die genetische Information, die vererbt wird, oder von den Eltern an den Nachwuchs weitergegeben wird. Sie wird manchmal als biologischer „Plan“ bezeichnet, weil sie alle physischen Eigenschaften eines Individuums, wie die Farbe von Haar, Augen und Haut, Größe, Gesichtszüge, Blutgruppe und zahlreichen anderen Merkmalen festlegt. Ihr DNA Plan ist eine Kombination aus der DNA der Mutter (aus der Eizelle) und der DNA des Vaters (aus dem Sperma), entstanden während der Empfängnis.

Die DNA enthält vier chemische Einheiten, abgekürzt durch den ersten Buchstaben des Namens: **A** (Adenin), **G** (Guanin), **T** (Thymin) und **C** (Cytosin). Diese vier Buchstaben bilden den Kode der genetischen Information. Die Buchstaben des DNA Kodes funktionieren wie die Buchstaben im Alphabet. Die 26 Buchstaben des Alphabets bilden Worte, die in unendlich verschiedenen Arten zusammengesetzt werden können, um Nachrichten und Informationen zu bilden. Auf ähnliche Weise sind die 4 chemischen Buchstaben der DNA dafür ausgelegt, Nachrichten zu bilden, die von den Zellen verstanden werden und **Gene** genannt werden. Diese Gene beinhalten die Information, um **Proteine** zu machen, die die Basis für fast alle Strukturen und Funktionen eines Körpers oder einer Zelle darstellen.

Ihre DNA Sequenz ist eine spezielle Anordnung oder Reihenfolge der chemischen Buchstaben in Ihrer kompletten DNA Kollektion, oder **Genom**. Wissenschaftler haben herausgefunden, daß die menschlichen DNA Sequenzen zu 99,9% identisch sind. Es ist eine Variation der Sequenz <0,1% von Person zu Person, die jeden von uns einzigartig macht.

Wo kommt DNA vor?

Mit nur wenigen Ausnahmen kommt DNA praktisch in jeder Körperzelle eines Organismus vor. In unseren Zellen enthält ein Teil der Zelle, der **Nukleus** genannt wird, die DNA. Immer, wenn sich eine Zelle teilt (für Wachstum, Reparatur oder Reproduktion) wird die DNA im Zell Nukleus kopiert und dann eng zu **Chromosomen** aufgewickelt. Der menschliche genetische Plan ist in 46 Chromosomen organisiert, die ca. 40.000 Gene enthalten, die die Anleitungen zum Aufbau des menschlichen Körpers geben.

Wie sieht DNA aus?

Auf der molekularen Ebene sieht die DNA wie eine verdrehte Leiter oder ein spiralförmiger Treppenaufgang aus. Die Leiter enthält zwei DNA Stränge, wobei Paare der chemischen Buchstaben A, G, T und C die Sprossen bilden. Diese Struktur nennt man DNA **Doppelhelix**, wegen der spiralen, helikalen Form der zwei DNA Stränge. Jeder DNA Strang ist sehr lang und dünn und sehr eng aufgewickelt, damit er in den Zell Nukleus paßt. Wären alle 46 Chromosomen einer menschlichen Zelle abgewickelt und aneinandergereiht, wäre die DNA 2 Meter lang – aber nur 2 Nanometer (2 milliardstel Meter) dick.



Abb. 1. Eine schematische Darstellung der DNA (Desoxyribonukleinsäure). Die DNA ist ein langes kettenartiges Molekül, das die genetische Information speichert.

Wie kann man DNA sichtbar machen?

Sie können die DNA sehen, wenn Sie Zellen sammeln, sie aufbrechen und die DNA von allen Zellen zusammennehmen. Stellen Sie sich die langen dünnen DNA Moleküle wie dünne weiße Fäden vor. Würde man die Fäden auseinander ziehen, wären sie kaum erkennbar, sind aber alle zusammen gelegt, sind sie sichtbar. Dieser Versuch setzt Detergenzien und Enzyme ein, um die Wangen Zellen der Schüler aufzubrechen und die DNA daraus freizusetzen. Salz und kalter Alkohol werden dann zugegeben, um die DNA aus der Lösung zu holen, sie zu **präzipitieren**, in eine Masse, die groß genug ist, um sie sehen zu können.

Hintergrundinformation und Grundlagen, für die Anleitung für Fortgeschrittene

Anwendungen der DNA Technologie

Diese Laborarbeit kann in Klassen eingebaut werden, die DNA Struktur und Funktion behandeln und kann dazu benutzt werden, den Schülern eine einfache praktische Erfahrung mit ihrer eigenen DNA machen zu lassen. Die Bedeutung des Versuchs wird sich noch verstärken, wenn die Schüler verstehen, daß die DNA Extraktion der erste Schritt von vielen Biotechnologie Applikationen ist, wie z.B.

Klonen

Klonen bedeutet, man fertigt viele Kopien eines DNA Fragments oder des Genoms an. Ein defektes Gen, das eine Krankheit auslöst, kann geklont werden, so daß es sequenziert und analysiert werden kann, mit dem Ziel, eine Heilung der Krankheit zu finden. Ein Gen, das ein gewünschtes Protein oder einen Wesenszug kodiert, wird geklont, damit es in einen anderen Organismus eingesetzt werden kann (vgl. Sie Gen Transfer, unten beschrieben). Ebenso kann ein ganzes Genom geklont werden, indem man es in Zellkerne einsetzt, die in der Lage sind, sich zu einem Organismus zu entwickeln.

Gen Transfer: Genetisch modifizierte Organismen (GMOs, „genetically modified organisms“)

Um sinnvolle Mengen eines wertvollen Proteins wie z. B. das menschliche Blutgerinnungsprotein, zu produzieren, wird das Gen, das dieses Protein kodiert, isoliert und in Zellen gebracht, die schnell und in großer Menge gezogen werden können. Diese „Zellfabriken“ können Bakterien, Hefen, Schimmelpilz, Pflanzen oder Tierzellen sein.

Manchmal wird ein Säugetier benutzt, um ein gewünschtes Protein herzustellen. Ein Gen, das für ein gewünschtes Protein kodiert, kann in eine befruchtete Eizelle der Kuh eingepflanzt werden. Die genetisch modifizierte Kuh wird dann das gewünschte Protein in seiner Milch produzieren, aus der das gewünschte Protein dann extrahiert werden kann.

Angebautes Getreide enthält nun Gene von anderen Organismen. Zum Beispiel enthalten einige Pflanzen Gene, die ein Protein kodieren, das Raupen tötet. Andere Pflanzen enthalten Gene, die sie widerstandsfähig gegen Herbizide machen, so daß der Bauer das ganze Feld mit Herbiziden besprühen kann und dabei das Unkraut abtötet, aber das Getreide überleben läßt.

DNA Profiling

Durch Einsatz einer Technik namens Polymerase Kettenreaktion (PCR, „polymerase chain reaction“), können Wissenschaftler spezielle Regionen eines Chromosoms, in denen die individuellen DNA Sequenzen sich unterscheiden, untersuchen und anreichern, oder viele Kopien davon herstellen (und so genügend Material von diesen Sequenzen herstellen, um sie zu manipulieren und zu analysieren). Mittels Gel Elektrophorese können die Unterschiede zwischen den Individuen als Bandenmuster dargestellt werden, die einem Barcode ähneln. Diese Technik hilft, Verbrechen aufzuklären, Vaterschaften zu testen und auch die evolutionäre Verwandtschaft von Organismen zu klären.

Extraktion und Präzipitation von DNA: Wie funktioniert das?

Die Schüler beginnen damit, Zellen von der Innenseite des Mundes abzuschaben und die gesammelten Zellen in ein Gefäß mit lysierendem Puffer zu überführen. Der Lyse-Puffer enthält ein Detergens, das die Phospholipid-Membranen der Zelle und der Kernmembranen auflöst und so die DNA freisetzt. Er enthält auch ein Pufferreagenz, das den pH der Lösung und damit auch die DNA stabil hält.

Eine Protease, ein Enzym, das Proteine verdaut, wird zugesetzt, um Proteinbindungen zur DNA zu entfernen und Zell-Enzyme zu zerstören, die die DNA verdauen könnten. Dies stellt sicher, daß die maximal mögliche Menge an intakter DNA extrahiert wird. Der Zellextrakt mit der Protease wird bei 50°C inkubiert, der optimalen Temperatur für die Protease Aktivität.

Die DNA und andere zellulären Komponenten, wie Fette, Zucker und Proteine, lösen sich im Lyse-Puffer. DNA hat auf Grund der Phosphatgruppen im DNA Rückgrat eine negative Ladung, und die elektrische Ladung macht sie löslich. Gibt man Salz zur Probe, werden die positiv geladenen Natrium-Ionen des Salzes von den negativen Ladungen der DNA angezogen und dabei neutralisiert sich die elektrische Ladung der DNA. Dies ermöglicht den DNA Molekülen, sich anzunähern, anstatt sich abzustößten. Bei Zugabe von kaltem Alkohol fällt die DNA aus, da sie in hohen Salzkonzentrationen und Alkohol unlöslich ist. Das DNA Präzipitat wird als feine weiße Fäden an der Grenze der Alkoholschicht sichtbar, während die anderen zellulären Substanzen in Lösung bleiben.

Laboranleitung für die Lehrkraft

Dieser Abschnitt zeigt einen Überblick und den Stundenverlauf, die Vorbereitungen, das Einrichten der Arbeitsplätze der Schüler, sowie Techniken und besonders hervorzuhebende Konzepte.

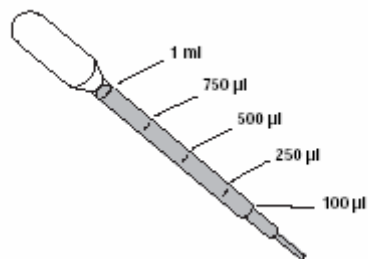
Zeitaufwand der Durchführung

| | | |
|-----------------|-----------|---|
| 1-2 Tage | 1. Stunde | Einführung und Hintergrundmaterial Optional Theoretische Demonstration der DNA Extraktion - empfehlenswert für alle Schüler der Mittelstufe. Vergleichen Sie „zusätzliche Aufgaben“ am Ende des Handbuches. |
| 50 Minuten | 2. Stunde | Isolieren der Wangenzellen, DNA Extraktion und Präzipitation |
| 30 – 50 Minuten | 3. Stunde | Optional Herstellung eines DNA Anhängers |

Vorbereitung der Lehrkraft (vor dem Labor) zur 2. Stunde

Volumen Bestimmung

Dieser Kit enthält Wegwerf-Plastikpipetten mit einer Maßeinteilung, die zur Volumenbestimmung aller Flüssigkeiten verwendet werden. Das unten abgebildete Diagramm zeigt die Markierungen auf der Pipette und die zugehörigen Volumenangaben. Es können auch digitale Mikropipetten verwendet werden.



- Stellen Sie den Alkohol (Isopropanol oder Ethanol) mindestens eine Stunde vor Laborbeginn in den Kühlschrank.
- Schneiden Sie von dem Tütchen, das das Protease/Salzpulver enthält („**Prot**“), eine Ecke ab. Geben Sie das Pulver zusammen mit 15 ml Wasser in eines der 15 ml Reaktionsgefäße. Sie können Trinkwasser oder destilliertes Wasser verwenden.

Diese Mischung („**Prot**“) kann für eine Woche im Kühlschrank bei 4°C gelagert werden. Wenn Sie den Kit über einen längeren Zeitraum verwenden möchten, empfehlen wir, nur einen Teil des Protease/Salzpulvers für den sofortigen Gebrauch zu entnehmen, und die restliche Protease erst zu dem späteren Zeitpunkt zu rehydrieren. Die Protease sollte dabei in einer Konzentration von 100 mg/ml angesetzt werden.

- Aliquotieren Sie 1,25 ml der verdünnten Protease in 8 rosa gefärbte Reaktionsgefäße, siehe unten.

Aliquotieren der Lösungen für jeden Arbeitsplatz der Schüler (4 Schüler/ Platz)

1. Aliquotieren Sie für jeden Schüler 3 ml Trinkwasser in ein 15 ml Reaktionsgefäß (bis zu 4 Gefäße pro Platz).
2. Aliquotieren Sie 1,25 ml der verdünnten Protease/Salzmischung (vgl. S. 8, Verdünnungsanleitung) in 9 rosa Mikrottestgefäße und beschriften Sie diese mit „**Prot**“.
3. Aliquotieren Sie 10 ml Lysepuffer in 9x 15ml Reaktionsgefäße und beschriften Sie diese mit „**Lysis**“.
4. Stellen Sie 4x 15ml Reaktionsgefäße mit Wasser und 1 Reaktionsgefäß mit **Lyse-Puffer** in einen Becher oder Ständer. Stellen Sie 1 pinkfarbenedes Mikrottestgefäß, beschriftet mit „**Prot**“, in einen Reaktionsgefäßständer aus Styropor. Stellen Sie diese Reaktionsgefäße an jeden Arbeitsplatz der Schüler.

Bemerkung: Einige Nutzer finden es schwierig, die Mundspül-Lösung in 15 ml Reaktionsgefäßen zu sammeln. Alternativ können Sie auch kleine Trinkbecher anbieten.

DNA Extraktion und Präzipitation

Checkliste für den Arbeitsplatz

Das Material im Kit reicht für 36 Schüler.

Arbeitsplatz der Lehrkraft (der Allgemeinheit)

Wasserbad eingestellt auf 50°C und ein Becher oder Ständer für max. 36x 15 ml Reaktionsgefäße
Eiskalte Flasche mit 91% Isopropanol oder 95% Ethanol auf Eis

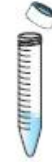
| <u>Arbeitsplatz der Schüler (4 Schüler pro Platz)</u> | <u>benötigte Anzahl</u> |
|---|-------------------------|
| 15 ml Reaktionsgefäße, mit je 3 ml Wasser | 4 |
| Rosafarbene Mikrotestgefäß, beschriftet mit „Prot“, enthält 1,25 ml Protease/Salzgemisch | 1 |
| 15 ml Testgefäß beschriftet mit „Lysis“, enthält 10 ml Lysepuffer | 1 |
| Wegwerf Transferpipetten | 6 |
| Mikrogefäßständer aus Styropor | 1 |
| Permanent Marker | 1 |
| Wegwerf Papiertasse oder Becher, zum Halten der 15 ml Gefäße im Wasserbad, später für den Abfall | 1 |

Anmerkung für die Lehrkraft

Entscheidend für den Erfolg ist, daß genug Zellen gewonnen werden. Um die bestmöglichen Ergebnisse zu erzielen, vergewissern Sie sich, daß die Schüler die empfohlene Zeit damit verbringen, Zellen zu sammeln und sie dann vorsichtig transferieren.

Kurzanleitung für die DNA Extraktion und Präzipitation

1. Nehmen Sie ein 15 ml Reaktionsgefäß mit 3 ml Wasser aus dem Reaktionsgefäßständer und beschriften Sie es mit dem Permanentmarker mit Ihren Initialen.



2. Kauen Sie vorsichtig 30 Sekunden lang auf der Innenseite Ihrer Wange, ohne dass es blutet.

3. Nehmen Sie das Wasser aus dem 15 ml Reaktionsgefäß in den Mund und spülen Sie den Mund gründlich 30 Sekunden lang.



4. Geben Sie vorsichtig die Mundspül-Lösung zurück in das 15 ml Reaktionsgefäß.

5. Nehmen Sie das Reaktionsgefäß mit dem Lysepuffer, und geben 2 ml von diesem Puffer in das 15 ml Reaktionsgefäß mit der Mundspül-Lösung.



6. Schließen Sie das Reaktionsgefäß mit der Mundspül-Lösung und kippen Sie es **vorsichtig** 5 mal, um es zu mischen. Bitte nicht schütteln! Betrachten Sie den Inhalt – Verändert sich etwas? Wenn ja, schreiben Sie bitte auf, was sich verändert hat.

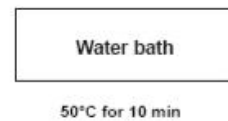
7. Nehmen Sie eine Plastik Transfer Pipette und geben Sie 5 Tropfen Protease aus dem Gefäß „**Prot**“ in das Gefäß mit Ihren Zellen.



8. Verschließen Sie das Zellextrakt-Gefäß und kippen Sie es 5 mal, um es zu mischen.



9. Stellen Sie das Zellextrakt-Gefäß in einen Becher oder Gefäßständer und inkubieren Sie es 10 Minuten bei 50°C. Entnehmen Sie die Gefäße dem Wasserbad.



10. Nehmen Sie eine Plastik-Transferpipette und füllen Sie diese mit kaltem Alkohol. Kippen Sie das Zellextrakt-Gefäß im 45° Winkel und geben Sie langsam den Alkohol zu, wobei Sie ihn langsam entlang der Gefäß-Innenwand fließen lassen. Füllen Sie insgesamt 10 ml kalten Alkohol in das Reaktionsgefäß. Dazu muss die Pipette mehrmals befüllt werden.



11. Schließen Sie den Deckel und lassen Sie das Gefäß 5 Minuten in Ruhe stehen. Schreiben Sie alles auf, was Sie im Reaktionsgefäß beobachten.



12. Kippen sie langsam nach 5 Minuten das Reaktionsgefäß. Damit erleichtern Sie der DNA zu aggregieren.



13. Mit einer Plastik-Transferpipette überführen Sie vorsichtig die ausgefallene DNA zusammen mit ca. 750 μ l bis 1 ml Alkohol-Lösung in ein kleines Glasgefäß, das im DNA „Necklace kit“ (166-2200EDU) enthalten ist. Oder bewahren Sie Ihre DNA in einem Reaktionsgefäß aus diesem Kit auf.

Schüler Handbuch: Anfänger

DNA Extraktion aus Wangenzellen Füllen Sie Ihre genetische Essenz in ein Fläschchen

Inhalt

- 1. Stunde** Einführung und Hintergrundmaterial, theoretische Demonstration (optional)
- 2. Stunde** Isolation von Wangenzellen, DNA Extraktion, und Präzipitation
- 3. Stunde** Herstellung eines DNA Anhängers (optional)

Handbuch für die Schüler: Anleitung für Anfänger

DNA Extraktion aus Wangenzellen Füllen Sie Ihre genetische Essenz in ein Fläschchen

Einleitung

Was ist DNA und welche Funktion hat sie?

Desoxyribonukleinsäure (DNA) ist ein Molekül, das in allen Lebewesen vorkommt, einschließlich Bakterien, Pflanzen und Tieren. Die DNA trägt die genetische Information, die vererbt wird, bzw. von den Eltern an den Nachwuchs weitergegeben wird. Sie ist verantwortlich für die Farbe von Haar, Augen und Haut einer Person, für Gesichtszüge, Erscheinung, Größe, Blutgruppe und für fast alles andere, das ein Individuum einzigartig macht. Aber sie enthält auch alle Informationen über den Körper, die in allen Lebewesen gleich sind. Mit anderen Worten ist die DNA ein Plan, der das gesamte physiologische Wachstum und die Entwicklung festlegt. Ihr DNA Plan ist eine Kombination von der Hälfte der DNA der Mutter und der Hälfte der DNA des Vaters, was erklärt, warum man Merkmale von beiden Elternteilen besitzt.

Die DNA enthält vier chemische Einheiten, abgekürzt durch den ersten Buchstaben des Namens: **A** (Adenin), **G** (Guanin), **T** (Thymin) und **C** (Cytosin). Diese vier DNA „Buchstaben“ bilden den Kode der genetischen Information. Die Buchstaben des DNA Kodes funktionieren wie die Buchstaben im Alphabet. Die 26 Buchstaben des Alphabets bilden Worte, die in unendlich verschiedenen Arten zusammengesetzt werden können, um Nachrichten und Informationen zu bilden. Auf ähnliche Weise sind die 4 chemischen Buchstaben der DNA dafür ausgelegt, Nachrichten zu bilden, die **Gene** genannt werden und von den Zellen verstanden werden. Diese Gene beinhalten die Information, um Proteine zu machen, die die Basis für fast alle Strukturen und Funktionen eines Körpers darstellen. Ein Gen ist wie ein Rezept, da es alle Informationen enthält, die benötigt werden, um ein Protein herzustellen.

Ihre DNA Sequenz ist eine spezielle Anordnung oder Reihenfolge der chemischen Buchstaben in Ihrer kompletten DNA Kollektion, oder **Genom**. Wissenschaftler haben herausgefunden, daß die menschlichen DNA Sequenzen zu 99,9% identisch sind. Es ist eine Variation von <0,1% der Sequenz von Person zu Person, die jeden von uns einzigartig macht. Mit anderen Worten, was Sie von den Klassenkameraden unterscheidet, ist eine zufälliger Unterschied in den Buchstaben des Genoms.

Wo kommt DNA vor?

Die grundlegenden Einheiten des Körpers eines Organismus sind die Zellen – sie bilden alle Gewebe und Organe (z.B. Muskel, Gehirn, Verdauungs System, Haut, Drüsen, usw.). Die Zellen sind Kompartimente mit Membranen, die aus Proteinen und Lipiden (Fetten) bestehen, die sie von anderen Zellen abtrennen. Innerhalb der Zellen gibt es weitere Kompartimente mit speziellen Funktionen. Ein Kompartiment, genannt **Nukleus**, ist sozusagen das Kontrollzentrum und enthält die DNA Moleküle, die die Anweisungen für das Funktionieren der Zelle geben. Die DNA besteht aus 46 eng umwundenen Strukturen, genannt Chromosomen. Immer, wenn sich eine Zelle teilt, um zwei identische neue Zellen hervorzubringen - für Wachstum, Reparatur oder Reproduktion - werden die Chromosomen kopiert, um sicherzustellen, daß die neuen Zellen eine komplette Kopie des genetischen Plans für den Organismus erhält.

Wie sieht DNA aus?

Auf der molekularen Ebene sieht die DNA aus wie eine verdrehte Leiter oder ein spiralförmiger Treppenaufgang. Die Leiter enthält zwei DNA Stränge, wobei Paare der chemischen Buchstaben A, G, T und C die Sprossen bilden. Diese Struktur nennt man DNA Doppelhelix, wegen der spiralen, helikalen Form der zwei DNA Stränge. Jeder DNA Strang ist sehr lang und dünn und sehr eng aufgewickelt, damit er in den Zell Nukleus paßt. Wären alle 46 Chromosomen einer menschlichen Zelle abgewickelt und aneinandergereiht, wäre die DNA 2 Meter lang aber nur 2 Nanometer (2 milliardstel Meter) dick.



Abb. 2. Eine schematische Darstellung der DNA (Desoxyribonukleinsäure). Die DNA ist ein langes kettenartiges Molekül, das die genetische Information speichert.

Wie kann man DNA sichtbar machen?

Schritt 1: Sammeln von Zellen

Sie können die DNA sehen, wenn Sie Zellen sammeln, sie aufbrechen und die DNA von allen Zellen zusammennehmen. Sie können Tausende von Zellen aus der Innenseite Ihres Mundes sammeln, indem Sie vorsichtig auf der Innenseite Ihrer Wange kauen und Ihren Mund dann mit Wasser spülen. Der Zelltyp in ihrem Mund teilt sich sehr häufig, und löst sich leicht ab, da neue Zellen ihn kontinuierlich ersetzen. In der Tat lösen sich diese Zellen ab und werden jedesmal ersetzt, wenn Sie kauen und essen.

Kernfrage:

1. Wie können Sie testen, ob Sie gerade Zellen von Ihren Wangen sammeln? Welches Laborgerät könnten Sie dazu verwenden?

Schritt 2: Brechen Sie die Zellen auf (lysiere)

Sobald Sie Ihre Zellen gesammelt haben, müssen die Zellen aufgebrochen werden, um die DNA freizusetzen. Ein Detergens wird die Membranen der Zellen auflösen, so wie Spülmittel Fette und Proteine von einer fetten Pfanne löst, weil Membranen von Zellen und vom Kern aus Fetten und Proteinen bestehen. Das Auflösen der Membranen führt dazu, daß die DNA freigesetzt wird. Den Prozeß des Aufbrechens der Zelle nennt man **Lyse** und die Lösung, die das Detergens enthält heißt **Lyse-Puffer**.

Kernfrage:

2. Was wirkt besser beim Geschirrspülen, warmes oder kaltes Wasser? Werden dann warme oder kalte Temperaturen dem Detergens das Aufbrechen der Zellen erleichtern?

3. Meinen Sie, die DNA wird nach dem Aufbrechen der Zellen sichtbar sein? Begründen Sie Ihre Antwort.

Schritt 3: Entfernen der Proteine

Die DNA ist eng um Proteine gewickelt. Wie Garnspulen halten diese Proteine die DNA eng aufgewickelt und so organisiert, daß sie sich im Kern nicht verwirrt. Um die DNA sichtbar zu machen, ist es hilfreich die Proteine zu entfernen, so daß die DNA sich erst lockern und ausdehnen kann und sich dann mit DNA aus all den anderen Zellen zusammen klumpt. Sie werden die lysierten Wangenzellen mit einer **Protease** inkubieren, die die Proteine zerstört, so daß sie die DNA nicht mehr binden können. Eine Protease ist ein **Enzym**, oder eine Proteinmaschine, die am besten bei 50°C funktioniert, d.h. der Temperatur von warmem Wasser. Die Protease verdaut die Proteine, die mit der DNA verknüpft sind und hilft auch noch übrig gebliebene Zellen oder Proteine aus der Kernmembran zu verdauen.

Kernfrage:

4. Wo meinen Sie, können Sie Proteasen in Ihrem Körper finden? **Hinweis:** Wo werden die Proteine, die Sie essen, aufgebrochen?

Schritt 4 und 5: Kondensieren der DNA

Die DNA Stränge sind so dünn, daß man sie nicht sehen kann, wenn sie gelöst sind. Stellen Sie sich den langen dünnen Strang der DNA vor wie ein feines weißes Garn. Würde man das lange Stück Garn quer durch das Zimmer dehnen, wäre es nur noch schwer erkennbar. Um das Garn besser erkennen zu können, könnten Sie es aufsammeln und es am Boden anhäufen. In diesem Versuch verwenden Sie Salz und kalten Alkohol, um die DNA aus der Lösung zu holen, sie zu **präzipitieren**. Salz und Alkohol schaffen eine Umgebung, in der DNA nicht in Lösung bleibt, sondern zusammenklumpt und zu einer festen Masse wird, die man erkennen kann.

Kernfrage:

5. Haben Sie je versucht, Zucker zu Eistee zu geben? Löst sich der Zucker leicht auf? Wie ist das im Vergleich zu der Vorstellung, daß die gleiche Menge Zucker in der gleichen Menge heißem Tee gelöst werden soll?

Wie sieht präzipitierte DNA aus?

Wie Salz oder Zucker ist DNA in Lösung farblos, aber weiß, wenn soviel ausfällt, daß man sie erkennen kann. Beim Ausfallen sieht man feine weiße Fäden in der Flüssigkeit schweben. Die Fäden sind zerbrechlich wie sehr dünne Nadeln, die bei unsanfter Berührung zerbrechen können. Wird viel präzipitierte DNA aus der Flüssigkeit geholt, wird sie zusammen kleben, so wie gekochte Nudeln zusammen kleben, wenn man sie aus dem Wasser holt.

Extraktion von DNA aus Wangenzellen: Laboranleitung

Füllen Sie Ihre genetische Essenz in ein Fläschchen

Arbeitsplatz der Lehrkraft (der Allgemeinheit)

Wasserbad, eingestellt auf 50°C

Eiskalte Flasche mit 91% Isopropanol oder 95% Ethanol auf Eis

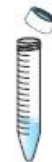
| <u>Arbeitsplatz der Schüler (4 Schüler pro Platz)</u> | <u>benötigte Anzahl</u> |
|--|-------------------------|
| 15 ml Reaktionsgefäße, mit je 3 ml Wasser | 4 |
| Rosafarbene Mikrotestgefäß, beschriftet mit „Prot“, enthält 1,25 ml Protease/Salzgemisch | 1 |
| 15 ml Testgefäß beschriftet mit „Lysis“, enthält 10 ml Lysepuffer | 1 |
| Wegwerf Transferpipetten | 6 |
| Mikrogefäßständer aus Styropor | 1 |
| Permanent Marker | 1 |
| Wegwerf Papiertasse oder Becher, zum Halten der 15 ml Gefäße im Wasserbad, später für den Abfall | 1 |

Anleitung zur DNA Extraktion und Präzipitation

Schritt 1 und 2: Sammeln und Aufbrechen der Zellen

Um möglichst viele Wangenzellen zu erhalten, werden Sie 30 Sekunden lang vorsichtig auf den Innenseiten Ihrer Wangenzellen kauen und dann den Mund mit etwas Wasser spülen. Das Sammeln von genug Zellen ist entscheidend für den Erfolg. Um die besten Ergebnisse zu erzielen, vergewissern Sie sich, daß Sie die empfohlene Zeit zum Sammeln und vorsichtigen Überführen der Zellen einhalten.

1. Nehmen Sie ein 15 ml Reaktionsgefäß mit 3 ml Wasser aus dem Reaktionsgefäßständer und beschriften Sie es mit dem Permanentmarker mit Ihren Initialen.



2. Kauen Sie vorsichtig 30 Sekunden lang auf der Innenseite Ihrer Wange.
3. Nehmen Sie das Wasser aus dem 15 ml Reaktionsgefäß in den Mund und spülen Sie den Mund gründlich 30 Sekunden lang. Verschlucken Sie nicht das Wasser!



4. Geben Sie vorsichtig die Zellextrakt-Lösung zurück in das 15 ml Reaktionsgefäß.

5. Nehmen Sie das 15 ml Reaktionsgefäß, auf dem „Lysis“ steht, und geben Sie 2 ml von diesem Lyse-Puffer in das Zellextrakt-Gefäß.



6. Schließen Sie das Reaktionsgefäß mit der Zellextrakt-Lösung und kippen Sie es **vorsichtig** 5 mal, um es zu mischen. Bitte nicht schütteln! Betrachten Sie den Inhalt – Verändert sich etwas? Wenn ja, schreiben Sie bitte auf, was sich verändert hat.

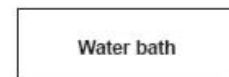


Stufe 3: Entfernen der Proteine

1. Nehmen Sie eine Plastik-Transferpipette und geben Sie 5 Tropfen der Protease/Salzlösung aus dem Gefäß „Prot“ in das Gefäß mit Ihren Zellen. Verschließen Sie das Zellextrakt-Gefäß und kippen Sie es 5 Mal, um es zu mischen.



2. Stellen Sie das Zellextrakt-Gefäß in einen Becher oder Gefäßständer und inkubieren Sie es 10 Minuten bei 50°C. Entnehmen Sie die Gefäße dem Wasserbad.



50°C for 10 min

Schritt 4 und 5: Sichtbarmachen der DNA

1. Nehmen Sie eine Plastik-Transferpipette und füllen Sie diese mit kaltem Alkohol (am Arbeitsplatz der Lehrkraft). Kippen Sie das Zellextrakt-Gefäß im 45° Winkel und geben Sie langsam den Alkohol zu, wobei Sie ihn langsam entlang der Gefäß-Innenwand fließen lassen. Füllen Sie insgesamt 10 ml kalten Alkohol in das Reaktionsgefäß. Dazu muss die Pipette mehrmals befüllt werden. Schließen Sie dann den Deckel.



2. Stellen Sie das Gefäß aufrecht in einen Becher oder Ständer und lassen Sie es 5 Minuten bei Zimmertemperatur in Ruhe stehen.



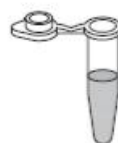
3. Beobachten Sie nach 5 Minuten den Inhalt des Reaktionsgefäßes, besonders die Zone, in der der Alkohol und die Zellextrakte aufeinander treffen. Sehen Sie etwas? Schreiben Sie alles auf, was Sie im Reaktionsgefäß beobachten. Vergleichen Sie Ihre Probe mit der Ihrer Klassenkameraden.
4. Überprüfen Sie, dass Ihr Reaktionsgefäß gut verschlossen ist. Kippen Sie das Reaktionsgefäß langsam einige Male vorsichtig. Schauen Sie nach fadenförmigem, weißem oder durchsichtigem Material. **Dies ist Ihre DNA!**



5. Wenn Sie sich eine DNA Kette machen wollen, gibt Ihnen Ihr Lehrer ein kleines Glasgefäß. Mit einer Plastik-Transferpipette überführen Sie vorsichtig die ausgefallene DNA zusammen mit ca. 750 μ l bis 1 ml Alkohol-Lösung in das Gefäß. Dann wird Ihre Lehrkraft Ihnen helfen, das Gefäß zu verschließen.
6. Wenn Sie keine DNA Kette anfertigen möchten, können Sie Ihre DNA auch in ein Mikro-Testgefäß überführen. Mit einer Plastik-Transferpipette überführen Sie vorsichtig die ausgefallene DNA zusammen mit ca. 1 ml Alkohol-Lösung in das Gefäß. Schließen Sie den Deckel und verblüffen Sie Ihre Freunde und Familie mit Ihrer eigenen DNA.



or



Handbuch für Schüler: Anleitung für Fortgeschrittene

DNA Extraktion aus Wangenzellen Füllen Sie Ihre genetische Essenz in ein Fläschchen

Inhalt

- | | |
|-----------|---|
| 1. Stunde | Einführung und Hintergrund Material |
| 2. Stunde | Isolieren von Wangenzelle, DNA Extraktion und Präzipitation |
| 3. Stunde | Herstellung eines Anhängers (optional) |

Schülerhandbuch: Anleitung für Fortgeschrittene

DNA Extraktion aus Wangenzellen Füllen Sie Ihre genetische Essenz in ein Fläschchen

Einleitung

Desoxyribonukleinsäure (DNA) ist ein Molekül, das in allen Lebewesen vorkommt, einschließlich Bakterien, Pflanzen und Tieren, sowie in fast allen Zelltypen. Die DNA trägt die genetische Information und ist verantwortlich für die Farbe von Haar, Augen und Haut, Größe, Gesichtszüge, Blutgruppe einer Person und für fast alles andere, das eine Person einzigartig macht. Sie trägt auch die Informationen, die die Zellen brauchen, um alle Funktionen ausführen zu können, die allen Mitgliedern einer Spezies oder allen Lebewesen gemein sind und wird so manchmal als biologischer „Plan“ bezeichnet. Ihr persönlicher „Plan“ ist eine Kombination von der Hälfte der DNA der Mutter (aus der Eizelle) und der Hälfte der DNA des Vaters (aus dem Sperma), entstanden während der Empfängnis. Alle Ihre Zellen enthalten dieses komplette Set an Anweisungen.

Jede DNA sieht gleich aus, wenn sie aus den Zellen extrahiert wurde, aber es ist aufregend, seine eigene DNA zu sehen und zu wissen, daß es das ist, was uns einzigartig und lebendig macht. In diesem Laborversuch werden Sie aus Ihren Wangenzellen Ihre eigene DNA extrahieren – eine Substanz, die ihren eigenen „Plan“ enthält. Sie werden dazu eine schnelle und einfache Methode anwenden, die Wissenschaftler routinemäßig einsetzen, um DNA aus verschiedenen Organismen zu extrahieren.

Jeden Tag machen Wissenschaftler neue Entdeckungen beim Studium der in der DNA kodierten Information. Das Verstehen der DNA eröffnet Möglichkeiten, Krankheiten zu kurieren, - die Hoffnung von Millionen von Menschen, die an verschiedenen genetischen Abweichungen und Syndromen leiden,- bessere Produkte aus biologischen Quellen herzustellen und sogar möglicherweise den Schlüssel zu längerem Leben zu finden. Wir beginnen nun zu verstehen, wer wir sind und warum wir unser genetisches Material untersuchen.

Struktur der DNA

Auf der molekularen Ebene sieht die DNA aus wie eine verdreht Leiter oder eine spiralförmige Treppe. Zwei lange Moleküle sind miteinander verbunden und die Sprossen werden von Paaren von chemischen Einheiten, den sogenannten **Basen** gebildet. Die Struktur wird als Doppelhelix bezeichnet, wegen der spiralförmigen oder helikalen Form der zwei Stränge. Die Basen funktionieren wie Buchstaben in einem Kode und sind als **A**, **G**, **T** und **C** (Abkürzungen für die vollen Namen Adenin, Guanin, Thymin und Cytosin) bekannt. Jede Base ist mit einer Zucker und einer Phosphatgruppe verbunden und die Zucker und Phosphatgruppen bilden das „Rückgrat“ der Leiterstruktur. (Ein **Nukleotid** ist eine Einheit, bestehend aus Base, Zucker und Phosphat). Wissenschaftler haben herausgefunden, daß in einer doppelsträngigen DNA **A** immer mit **T** paart und **G** immer mit **C**.



Abb. 3. Eine schematische Darstellung der DNA (Desoxyribonukleinsäure). DNA ist ein langes kettenartiges Molekül, das die genetische Information speichert.

Die 4 chemischen Buchstaben der DNA sind so organisiert, daß sie Nachrichten bilden, die von den Zellen verstanden werden, die sogenannten **Gene**. Diese Gene beinhalten die Information, um **Proteine** zu machen, die die Basis für fast alle Strukturen und Funktionen eines Körpers darstellen. Jede einzelne Zelle enthält mehrere Milliarden Briefe mit DNA „Text“.

Eine DNA Sequenz ist eine spezielle Anordnung oder Reihenfolge der Basen im DNA Molekül. Menschliche DNA Sequenzen sind zu 99,9% identisch. Es ist eine Variation der Sequenz <0,1% von Person zu Person, die jeden von uns einzigartig macht. Mit anderen Worten, was Sie von Ihren Klassenkameraden unterscheidet, ist ein zufälliger Unterschied in der Basensequenz Ihrer Gene.

Genom, Chromosome, Gene, DNA, RNA und Proteine ... Worin besteht der Zusammenhang?

DNA kommt im Zellkern jeder menschlicher Körperzelle vor, außer in reifen roten Blutzellen. Die DNA ist organisiert in Strukturen, den sogenannten **Chromosomen**, in denen die langen dünnen Stränge der DNA fest um Proteine gewickelt sind. Immer, wenn sich eine Zelle teilt (zum Wachstum, Reparatur oder Reproduktion), replizieren die Chromosomen in einem gut organisiertem Prozeß, genannt Mitose. Die 46 menschlichen Chromosomen, die in menschlichen Zellen gefunden werden, sind vergleichbar mit 46 Enzyklopädien, die alle zusammen die Information des **Genoms** enthalten.

Ein **Gen** ist ein Abschnitt der DNA, der die Information zur Herstellung eines Proteins enthält; es ist vergleichbar mit einem Rezept, das die Zusammenstellung und Reihenfolge des Zusammenbaus eines Proteins festlegt. Das menschliche Genom umfaßt ungefähr 40.000 Gene. Das Genom ist vergleichbar mit einer (gigantischen) Sammlung von Kochbüchern (erinnern Sie sich, es sind 46 „Bände“ in der gesamten Sammlung); nicht alle Rezepte in einem Kochbuch werden gleichzeitig zubereitet, um eine Malzeit herzustellen und nicht alle Gene des Genoms werden in jeder Zelle genutzt. Diese selektive Gen Expression, je nach Zelltyp, schafft das Charakteristikum der verschiedenen Zelltypen in einem Körper. Im Grunde enthalten alle Ihre Zellen die gleichen Bücher (Chromosomen), aber verschiedene Zellen lesen verschiedene Rezepte (Gene) aus den Büchern.

Auch wenn die Gene die Proteine spezifizieren, die von den Zellen gemacht werden, ist die DNA nicht die direkte Schablone für die Proteinsynthese. Die Schablonen zur Proteinsynthese sind RNA (Ribonukleinsäure) Moleküle, so genannte messenger RNA (mRNA). Jedes mRNA Molekül ist einfach eine Kopie der DNA Sequenz eines Gens. mRNAs sind die Vermittler, die die Information von der DNA im Nukleus zu den **Ribosomen**, oder Proteinkraftwerken, im Zytoplasma bringen. Die Ribosomen dekodieren die genetische Information und knüpfen die richtigen Aminosäuren zusammen, um das **Protein** herzustellen, für das das Gen kodiert. Alle Proteine, die in einer Zelle hergestellt werden, funktionieren, um der Zelle ihren Charakter zu geben.

Kernfragen:

1. Stellen Sie sich vor, Sie versuchen Ihrem/Ihrer zwei Jahre jüngeren/jüngerer Bruder/Schwester den Unterschied zwischen Chromosomen, Genen und DNA zu erklären. Wie lautet Ihre Erklärung in einfachen Worten, so daß sie es verstehen können?
2. Enthält eine Leberzelle die gleichen Chromosomen wie eine Wangenzelle?
3. Wenn Sie eine Kopie eines Gens, das ein Protein kodiert, das im Magen vorkommt, isolieren wollen, könnte dieses Gen in Wangenzellen vorkommen? Erläutern Sie Ihre Erklärung.

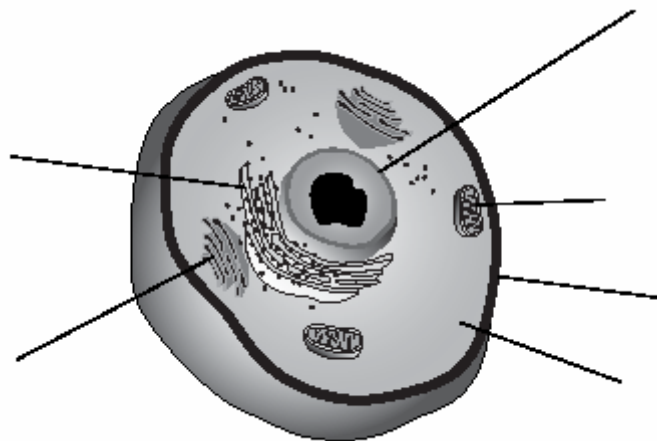
Wie kann DNA aus Zellen isoliert werden?

Schritt 1. Sammeln von Zellen

Der erste Schritt zur DNA Isolierung ist das Sammeln von Zellen. Die Innenseite des Mundes ist eine gute Quelle für Zellen, da diese sich sehr oft teilen und kontinuierlich abgelöst werden. Durch leichtes „Kauen“ auf den Innenseiten der Wangen und nachfolgendes Spülen mit Wasser kann eine ausreichende Menge Wangenzellen gesammelt werden, aus denen die DNA isoliert werden kann.

Kernfragen:

Unten abgebildet, sehen Sie eine schematische Darstellung einer Wangenzelle.



4. Beschriften Sie die Kompartimente der Zelle, inklusive Zellmembran, Cytoplasma und Nukleus.
5. In welchem Zellkompartiment erwarten Sie die genomische DNA?
6. Warum braucht man eine Zwischenstufe, wie die mRNA, um die Information der genomischen DNA zu kopieren, damit sie in Proteine übersetzt werden kann?
7. Was glauben Sie, ist der erste Schritt zur Isolierung von DNA aus Ihren Zellen?

Schritt 2. Lyse der Zellen und Aufbrechen der Phospholipid-, „Bilayer“- Membranen

Wenn Sie als ersten Schritt bei der DNA Extraktion das Aufbrechen der Zellen angegeben haben, liegen Sie richtig. Ein Detergens löst auf Fetten basierende Moleküle, und die Membranen von Zelle und Kern bestehen hauptsächlich aus Fetten (Sie haben wahrscheinlich schon gehört, daß Zellmembranen aus Phospholipid- Doppellagen bestehen). Nach dem Abschaben der Zellen geben Sie diese in eine Lösung, die Detergens enthält.

Kernfragen:

8. Sobald die Membranen aufgelöst sind, wird die DNA in die Lösung freigesetzt, aber auch andere Arten von zellulären Molekülen. Zählen Sie einige Arten von Molekülen neben der DNA auf, die Sie in einer Zelle erwarten.
9. Welche Methode, oder welches Reagenz könnte verwendet werden, um diese unerwünschten Moleküle zu entfernen?

Schritt 3. Einsetzen von Protease, um die zellulären Proteine zu zerstören

Sie werden sich schon gedacht haben, daß die meisten Moleküle, die die Präzipitation von reiner DNA stören, Proteine sind. Diese Proteine können leicht entfernt werden, ohne die DNA zu zerstören, wenn man spezifische Enzyme, genannt Proteasen einsetzt, die Proteine verdauen. Die Proteasen zerstören die Peptidbindungen zwischen den Aminosäuren der Proteine. Zerstört man alle Proteine, wird man auch DNasen entfernen, Enzyme, die DNA verdauen (weil Enzyme Proteine sind).

Kernfragen:

10. Welche Proteine kommen zusammen mit DNA in der Zelle vor?
11. Die Protease in diesem Versuch arbeitet am besten bei 50°C. Halten Sie es für möglich, daß diese Protease aus dem *E. coli* Bakterium isoliert wurde? Erläutern Sie Ihre Antwort. **Hinweis:** Wo lebt *E. coli*?

12. Weichmacher im Fleisch werden oft eingesetzt, um zähe Fleischstücke, wie Steak weich zu machen. Steak besteht aus Protein reichem Muskelgewebe der Kühe; können Sie sich erklären, wie Weichmacher im Fleisch funktionieren?

Schritt 4. DNA wird unlöslich gemacht

Sie geben eine Salz Lösung zu Ihrer Probe, was bewirkt, daß die DNA im Zellextrakt schlechter löslich wird. DNA hat aufgrund der Phosphatgruppen im Rückgrat der DNA eine negative elektrische Ladung. Gibt man Salz zu, so werden die positiv geladenen Natriumionen aus dem Salz von der negativen Ladung der DNA angezogen und neutralisieren die elektrische Ladung der DNA. Dies ermöglicht den DNA Molekülen eine Annäherung, anstatt sich abzustößten.

Schritt 5. Fällern der DNA mit kaltem Alkohol

Um die DNA von anderen Molekülen im Zellextrakt zu trennen, geben Sie kalten Alkohol zur Probe. Durch die Zugabe von kaltem Alkohol wird die DNA ausfallen, denn sie ist in Alkohol schlechter löslich als in Wasser. Je kälter das Ethanol ist, desto schlechter ist die DNA löslich. Dies ist vergleichbar mit der Löslichkeit von Zucker im Tee (oder jedem anderen Getränk); Zucker löst sich besser in heißem Tee als in Eistee.

In Anwesenheit von hohen Salzkonzentrationen und kaltem Alkohol, wird die DNA, die aus den Zellen freigesetzt wurde, ausfallen und aggregieren, bis sie mit bloßem Auge erkennbar ist. Die anderen Moleküle des Zellextraktes wie Aminosäuren und Kohlehydrate bleiben in Alkohol und in Wasser gelöst und sind nicht sichtbar. Es sind viele tausend DNA Stränge nötig, um eine Faser zu bilden, die so lang ist, daß man sie erkennen kann. Jeder Strang trägt Tausende von Genen, so daß Sie Material betrachten, das Millionen von Genen enthält. Bedenken Sie, Sie sehen eine Ansammlung von DNA aus Tausenden von Zellen.

Kernfragen:

13. Setzen Sie die Ergebnisse links mit den Arbeitsschritten rechts zusammen.

- | | |
|--|---|
| __ Ernte der Zellen | A. Durch vorsichtiges Kauen der Wangen die Zellen lösen u. anschließend mit Wasser spülen |
| __ Auflösen der Zellmembranen | B. Zugabe von Protease, Inkubation bei 50°C |
| __ Präzipitieren der DNA | C. Mischen mit einer Detergens Lösung |
| __ Zerstören von Proteinen | D. Kalter Alkohol wird über den Zellextrakt geschichtet |
| __ Erniedrigen der DNA Löslichkeit in Wasser | E. Zugabe von Salz |

Extraktion von DNA aus Wangenzellen: Laboranleitung

Füllen Sie Ihre genetische Essenz in ein Fläschchen

Arbeitsplatz der Lehrkraft (der Allgemeinheit)

Wasserbad, eingestellt auf 50°C

Eiskalte Flasche mit 91% Isopropanol oder 95% Ethanol auf Eis

Arbeitsplatz der Schüler (4 Schüler pro Platz)

benötigte Anzahl

| | |
|--|---|
| 15 ml Reaktionsgefäße, mit je 3 ml Wasser | 4 |
| Rosafarbene Mikrottestgefäß, beschriftet mit „Prot“, enthält 1,25 ml Protease/Salzgemisch | 1 |
| 15 ml Testgefäß beschriftet mit „Lysis“, enthält 10 ml Lysepuffer | 1 |
| Wegwerf Transferpipetten | 6 |
| Mikrogefäßständer aus Styropor | 1 |
| Permanent Marker | 1 |
| Wegwerf Papiertasse oder Becher, zum Halten der 15 ml Gefäße im Wasserbad, später für den Abfall | 1 |

Anleitung zur DNA Extraktion und Präzipitation

Schritt 1 und 2: Sammeln und Aufbrechen der Zellen

Um möglichst viele Wangenzellen zu erhalten, werden Sie 30 Sekunden lang vorsichtig auf den Innenseiten Ihrer Wangenzellen kauen und dann den Mund mit etwas Wasser spülen. Das Sammeln von genug Zellen ist entscheidend für den Erfolg. Um die besten Ergebnisse zu erzielen, vergewissern Sie sich, daß Sie die empfohlene Zeit zum Sammeln und vorsichtigen Überführen der Zellen einhalten.

1. Nehmen Sie ein 15 ml Reaktionsgefäß mit 3 ml Wasser aus dem Reaktionsgefäßständer und beschriften Sie es mit dem Permanentmarker mit Ihren Initialen.



2. Kauen Sie vorsichtig 30 Sekunden lang auf der Innenseite Ihrer Wange.
3. Nehmen Sie das Wasser aus dem 15 ml Reaktionsgefäß in den Mund und spülen Sie den Mund gründlich 30 Sekunden lang. Verschlucken Sie nicht das Wasser!



- Geben Sie vorsichtig die Zellextrakt-Lösung zurück in das 15 ml Reaktionsgefäß.
- Nehmen Sie das 15 ml Reaktionsgefäß, auf dem „Lysis“ steht, und geben Sie 2 ml von diesem Lyse-Puffer in das Zellextrakt-Gefäß.



- Schließen Sie das Reaktionsgefäß mit der Zellextrakt-Lösung und kippen Sie es **vorsichtig** 5 mal, um es zu mischen. Bitte nicht schütteln! Betrachten Sie den Inhalt – Verändert sich etwas? Wenn ja, schreiben Sie bitte auf, was sich verändert hat.

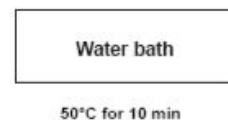


Stufe 3: Entfernen der Proteine

- Nehmen Sie eine Plastik-Transferpipette und geben Sie 5 Tropfen der Protease/Salzlösung aus dem Gefäß „**Prot**“ in das Gefäß mit Ihren Zellen. Verschließen Sie das Zellextrakt-Gefäß und kippen Sie es 5 Mal, um es zu mischen.



- Stellen Sie das Zellextrakt-Gefäß in einen Becher oder Gefäßständer und inkubieren Sie es 10 Minuten bei 50°C. Entnehmen Sie die Gefäße dem Wasserbad.



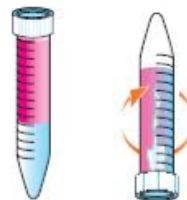
Schritt 4 und 5: Sichtbarmachen der DNA

- Nehmen Sie eine Plastik-Transferpipette und füllen Sie diese mit kaltem Alkohol (am Arbeitsplatz der Lehrkraft).

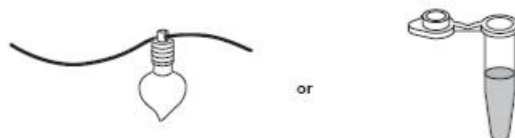
2. Kippen Sie das Zellextrakt-Gefäß im 45° Winkel und geben Sie langsam den Alkohol zu, wobei Sie ihn langsam entlang der Gefäß-Innenwand fließen lassen. Füllen Sie insgesamt 10 ml kalten Alkohol in das Reaktionsgefäß. Dazu muss die Pipette mehrmals befüllt werden. Sie werden sehen, wie sich zwei verschiedene Phasen formen, eine obere und eine untere. Beobachten Sie besonders die Zone, in der der Alkohol und die Zellextrakte aufeinander treffen. Schreiben Sie alles auf, was Sie im Reaktionsgefäß beobachten.



3. Stellen Sie das Gefäß aufrecht in einen Becher oder Ständer und lassen Sie es 5 Minuten bei Zimmertemperatur in Ruhe stehen.
4. Beobachten Sie nach 5 Minuten den Inhalt des Reaktionsgefäßes, besonders die Zone, in der der Alkohol und die Zellextrakte aufeinander treffen. Sehen Sie etwas? Schreiben Sie alles auf, was Sie im Reaktionsgefäß beobachten. Vergleichen Sie Ihre Probe mit der Ihrer Klassenkameraden.
5. Überprüfen Sie, dass Ihr Reaktionsgefäß gut verschlossen ist. Kippen sie das Reaktionsgefäß langsam einige Male vorsichtig. Schauen Sie nach fadenförmigem, weißem oder durchsichtigem Material. **Dies ist Ihre DNA!**



6. Wenn Sie sich eine DNA Kette machen wollen, gibt Ihnen Ihr Lehrer ein kleines Glasgefäß. Mit einer Plastik-Transferringpipette überführen Sie vorsichtig die ausgefallene DNA zusammen mit ca. 750 µl bis 1 ml Alkohol-Lösung in das Gefäß. Dann wird Ihre Lehrkraft Ihnen helfen, das Gefäß zu verschließen.
Wenn Sie keine DNA Kette anfertigen möchten, können Sie Ihre DNA auch in ein Mikro-Testgefäß überführen. Mit einer Plastik-Transferringpipette überführen Sie vorsichtig die ausgefallene DNA zusammen mit ca. 1 ml Alkohol-Lösung in das Gefäß. Schließen Sie den Deckel und verblüffen Sie Ihre Freunde und Familie mit Ihrer eigenen DNA.



Zusätzliche Aufgaben

Theoretische Demonstration der DNA Extraktion

Für Schüler der Mittelstufe empfehlen wir eine theoretische Demonstration der Laborarbeit zur DNA Extraktion, um den Schülern zu helfen, sich vorzustellen, was bei jedem Schritt auf der molekularen Ebene passiert. Dies macht Spaß und ist eine visuelle Übung, die der Lehrkraft hilft, die Konzepte, die dieses Praktikum sinnvoll machen, darzustellen. Um den Prozeß der DNA Isolierung aus Wangenzellen darzustellen, können Sie ein Modell einer Zelle bauen, wobei Sie einen durchsichtigen Latexballon benutzen, der mit verschiedenen Gegenständen und einer Schnur gefüllt ist, die die Membranen, Organellen, Proteine und DNA darstellen sollen. Betonen Sie, daß ein Detergens Membranen auflöst (Zerplatzen des Ballons), Proteasen Proteine verdauen (Zerstören kleiner Gegenstände) und Salz und Alkohol die DNA ausfallen und aggregieren lassen (Zusammensammeln der Schnur).

Beobachtungen am Mikroskop und Kernfärbung der Wangenzellen

FastBlast DNA Stain kann als Färbelösung für die Zellkerne der Wangenzellen eingesetzt werden. Die positiv geladenen Farbstoffmoleküle des FastBlast binden an die negativ geladenen Phosphatgruppen der DNA. Daß der gleiche Farbstoff sowohl für die Färbung der DNA in Agarose-Gelen als auch für die Färbung der Zellkerne verwendet werden kann, hilft den Schülern zu verstehen, wo die DNA in eukaryotischen Zellen lokalisiert ist.

Achtung: Fast Blast Stain ist nicht giftig, färbt aber hervorragend Haut und Kleidung. Bitte Handschuhe und Kittel tragen, wenn mit dieser Färbelösung gearbeitet wird!

Anleitung für Lehrer:

Ziel:

Herstellen einer 1:50-Verdünnung der Fast Blast-Lösung (und 1 x PBS, phosphate buffered saline, falls notwendig)

Benötigte Materialien:

- 500fach Fast Blast DNA Stain (Katalognummer 166-0420EDU)
- 200 µl Pipette oder Pasteurpipetten aus Kunststoff zum Einmalgebrauch
- Pipettenspitzen (nur, wenn eine Microliterpipette benutzt wird)
- 5 ml isotonische Salzlösung (od. Kontaktlinsenlösung, od. 1x PBS)

Anleitung:

Die 500fach konzentrierte Färbelösung muß verdünnt werden, bevor sie zur Färbung der Kernregion eingesetzt werden kann. Um 5 ml der verdünnten Färbelösung herzustellen, werden 100 µl des Farbstoffkonzentrats zu 4,9 ml der isotonischen Salzlösung pipettiert.

Achtung: Eine isotonische Lösung ist notwendig, um die richtigen osmotischen Bedingungen für die Zellmembran zu erhalten.

Benötigte Geräte:

- Mikroskop
- Objektträger
- Deckgläschen
- Pasteurpipetten
- Pipettenspitzen

Anleitung:

Sammeln der Wangenzellen

Durch leichtes Kratzen mit sterilen Pipettenspitzen an der Innenseite der Wangen (je 5 x rechts und 5 x links) sammeln sich die Wangenzellen in der Pipettenspitze. Die weißen Zellen in der Pipettenspitze müssen gut sichtbar sein.

Anfärben der Zellen:

1. Ein Tropfen der verdünnten Färbelösung wird auf einen Objektträger gegeben. Die Pipettenspitze mit den Wangenzellen wird auf eine passende Microliterpipette aufgesteckt, diese auf 20 µl eingestellt. Durch vorsichtiges Ansaugen und wieder Auspipettieren (5 mal) gelangen die Wangenzellen in die Färbelösung.
2. Die Färbelösung wird mit einem Deckgläschen bedeckt und das Objekt durch ein Mikroskop betrachtet

Achtung: Die Schüler sollten vorher in die Benutzung des Mikroskops eingewiesen worden sein. Zellkerne werden innerhalb von 2 min angefärbt. Die Schüler können ihre Beobachtungen notieren und Zeichnungen anfertigen.

Anfärben präzipitierter DNA mit Hilfe von konzentrierter Fast Blast Lösung (Bio-Rad Katalognummer 166-0420EDU)

1. Die präzipitierte DNA (siehe Schritt 13 aus der Kurzanleitung) wird mit Hilfe einer Transferpipette aus dem 15 ml Röhrchen zusammen mit weniger als 1 ml Alkohol in ein 1.5 ml Reaktionsröhrchen überführt. Mit derselben Pipette wird überschüssiger Alkohol entfernt, so dass etwa 750 µl im Reaktionsgefäß bleiben.
2. 500 µl der konzentrierten Färbelösung (500fach) werden zur DNA pipettiert und für mindestens 10 min. gefärbt.
3. Die gesamte Lösung (DNA und Färbelösung) wird mit einer Transferpipette in ein 15-ml-Röhrchen pipettiert, welches 10 ml 70 %igen Alkohol enthält. Das Röhrchen für 5 min ruhig stehen lassen.
4. So viel Alkohol wie möglich wird dekantiert bzw. abpipettiert. Achtung, nicht die DNA! Bis zur 10-ml-Marke 70 %igen Alkohol zugeben, 5 min. stehen lassen.
5. (Optional:) Mit Schritt 13 der Kurzanleitung fortfahren und die gefärbte DNA entweder in ein Microteströhrchen überführen oder mit dem Necklace Modul (Halskette) weiterarbeiten.

Antworten auf die Kernfragen (Anleitung für Anfänger)

- 1. Wie können Sie testen, ob Sie gerade Zellen von Ihren Wangen sammeln? Welches Laborgerät könnten Sie dazu verwenden?**

Sie könnten eine Bürste nach dem Sammeln der Zellen auf den Glasträger eines Mikroskops drücken und sie unter dem Mikroskop betrachten.

- 2. Was wirkt besser beim Geschirrspülen, warmes oder kaltes Wasser? Werden dann warme oder kalte Temperaturen dem Detergens das Aufbrechen der Zellen erleichtern?**

Warmes Wasser wirkt beim Geschirrspülen besser, da es hilft, die Fette und Proteine im Spülmittel zu lösen. Eine warme Temperatur hilft dem Detergens im Lyse-Puffer, die Zellen aufzubrechen.

- 3. Meinen Sie, die DNA wird nach dem Aufbrechen der Zellen sichtbar sein? Begründen Sie Ihre Antwort.**

Ihre DNA wird nach dem Aufbrechen der Zellen nicht sichtbar sein. Sie wird im Lyse-Puffer gelöst sein.

- 4. Wo meinen Sie, können Sie Proteasen in Ihrem Körper finden? Hinweis: Wo werden die Proteine, die Sie essen, aufgebrochen?**

Proteasen findet man im Magen, wo die Proteine, die man gegessen hat, verdaut werden.

- 5. Haben Sie je versucht, Zucker zu Eistee zu geben? Löst sich der Zucker leicht auf? Wie ist das im Vergleich zu der Vorstellung, daß die gleiche Menge Zucker in der gleichen Menge heißem Tee gelöst werden soll?**

Zucker löst sich viel schlechter in Eistee als in einem heißen Tee. Die kalte Temperatur des Eistees vermindert die Löslichkeit des Zuckers oder die Fähigkeit sich zu lösen. Allgemein verbessert Hitze die Löslichkeit von Substanzen, die in Flüssigkeiten gelöst sind.

Antworten auf Kernfragen (Anleitung für Fortgeschrittene)

1. **Stellen Sie sich vor, Sie versuchen Ihrem/Ihrer zwei Jahre jüngeren/jüngeren Bruder / Schwester den Unterschied zwischen Chromosomen, Genen und DNA zu erklären. Wie lautet Ihre Erklärung in einfachen Worten, so daß sie es verstehen können?**

DNA ist chemisch in allen Lebewesen nachweisbar und wird von den Eltern an die Kinder weitergegeben. Sie trägt alle Informationen, um jemanden zu dem zu machen, der er ist.

Chromosomen sind lange Stränge von aufgewickelter DNA. DNA in den Zellen ist in Strukturen organisiert, den sogenannten Chromosomen, die es erleichtern, sie in der Zelle zu speichern und bei der Zellteilung zu kopieren.

Gene sind Abschnitte auf der DNA, die die nötigen Informationen zur Herstellung von Proteinen besitzen, die in lebenden Zellen entscheidende Aufgaben haben.

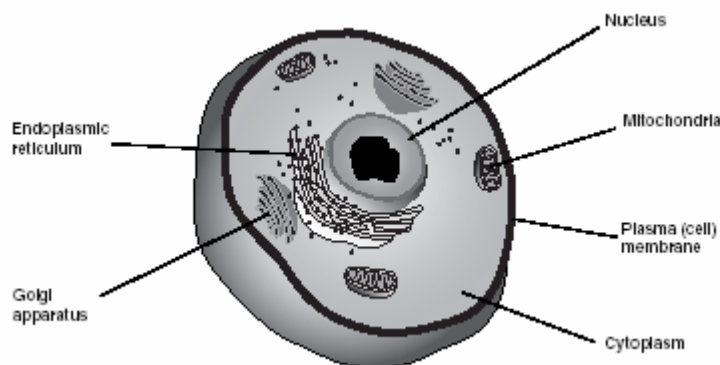
2. **Enthält eine Leberzelle die gleichen Chromosomen wie eine Wangenzelle?**

Ja. Die genomische DNA in allen nicht reproduktiven Zellen ist identisch, ganz gleich von welchem Gewebe die Zelle stammt.

3. **Wenn Sie eine Kopie eines Gens, das ein Protein kodiert, das im Magen vorkommt, isolieren wollen, könnte dieses Gen in Wangenzellen vorkommen? Erläutern Sie Ihre Erklärung.**

Das Gen, das das Protein des Magens kodiert, ist in der genomischen DNA von Wangenzellen zu finden. Jedoch wird die Wangenzelle nie mRNA oder Kopien des Gens für das Magen Protein herstellen. Gene für das Magenprotein werden nur im Magen aktiviert.

Unten sehen sie eine schematische Abbildung einer Wangenzelle.



4. **Beschriften Sie die Kompartimente der Zelle, inklusive Zellmembran, Cytoplasma und Nukleus.**

5. **In welchem Zellkompartiment erwarten Sie die genomische DNA?**

Genomische DNA befindet sich im Nukleus.

6. Warum braucht man eine Zwischenstufe, wie die mRNA, um die Information der genomischen DNA zu kopieren, damit sie in Proteine übersetzt werden kann?

Genomische DNA befindet sich im Nukleus und bleibt immer dort (wie ein archiviertes Buch, das nie die Bibliothek verlassen kann), aber die Protein bildenden Ribosomen befinden sich im Cytoplasma. Es ist ein mobiler Vermittler nötig, um die genetische Information vom Nukleus ins Cytoplasma zu bringen.

7. Was glauben Sie, ist der erste Schritt zur Isolierung von DNA aus Ihren Zellen?

Die Zell- und Kernmembranen müssen aufgebrochen werden, um die DNA freizusetzen.

8. Sobald die Membranen aufgelöst sind, wird die Membran in Lösung freigesetzt, aber auch andere Arten von zellulären Molekülen. Zählen Sie einige Arten von Molekülen neben der DNA auf, die Sie in einer Zelle erwarten.

Proteine, Lipide, Zucker und Minerale (Salze) kommen in allen Zellkomponenten vor.

9. Welche Methode, oder welches Reagenz könnte verwendet werden, um diese unerwünschten Moleküle zu entfernen?

Es gibt Enzyme, die darauf spezialisiert sind, alle Arten biologischer Moleküle zu verdauen. Proteasen bauen Proteine ab, Detergenzien lösen Lipide, und Enzyme wie Beta-Galaktosidase bauen Zucker ab. Hitze und Rühren können diese Verdauungsprozesse beschleunigen.

10. Welche Proteine kommen zusammen mit DNA in der Zelle vor?

Chromosomale DNA ist an Histone gebunden. Andere damit zusammenhängende Kernproteine können DNA Polymerase oder Transkriptions Faktoren sein.

11. Die Protease in diesem Versuch arbeitet am besten bei 50°C. Halten Sie es für möglich, daß diese Protease aus dem *E. coli* Bakterium isoliert wurde? Erläutern Sie Ihre Antwort. Hinweis: Wo lebt *E. coli*?

Nein. *E. coli* lebt in unserem Darm und gedeiht bei unserer Körpertemperatur von 37°C. Ein Enzym, für das 50°C die optimale Temperatur ist, wurde wahrscheinlich aus einem Organismus isoliert, der bei einer sehr ähnlichen Temperatur gedeiht.

12. Weichmacher im Fleisch werden oft eingesetzt, um zähe Fleischstücke, wie Steak weich zu machen. Steak besteht aus Protein reichem Muskelgewebe der Kühe; können Sie sich erklären, wie Weichmacher im Fleisch funktionieren?

Viele Weichmacher im Fleisch enthalten Papain, eine Protease. Die Protease baut Proteinmoleküle ab. Durch den teilweisen Abbau einiger dieser Proteine, wird der/das zähe Muskel/Fleisch weicher und zarter.

13. Setzen Sie die Ergebnisse links mit den Arbeitsschritten rechts zusammen.

- | | |
|--|---|
| <u>A</u> Ernte der Zellen | A. Die Innenseite der Wange kauen und mit Wasser spülen |
| <u>C</u> Auflösen der Zellmembranen | B. Zugabe von Protease, Inkubation bei 50°C |
| <u>E</u> Präzipitieren der DNA | C. Mischen mit einer Detergens Lösung |
| <u>B</u> Zerstören von Proteinen | D. Kalter Alkohol wird über den Zellextrakt geschichtet |
| <u>D</u> Erniedrigen der DNA Löslichkeit in Wasser | E. Zugabe von Salz |