

DNA-Extraktion

LehrerIn Protokoll

1 Einführung in das Experiment

Heute soll es darum gehen, dass wir selbst DNA aus einer Erdbeere extrahieren und sie für uns sichtbar machen! (Überleitung zu Fragen)

- Woran denkt ihr, wenn ihr den Begriff "DNA" hört?
- Wo kommt DNA überall vor/Was besitzt alles DNA?
- Welche Eigenschaften beeinflusst die DNA?
- Wo findet man die DNA in uns Menschen oder generell in Lebewesen?
- Wenn wir die DNA aus Zellen für uns sichtbar machen wollen, was müssen wir dann mit den Zellen tun?
- Wie wird die DNA für uns aussehen, wenn wir sie sichtbar gemacht haben? (beschreiben, oder z.B. zeichnen)

2 LehrerIn Demonstration

Besonders für jüngere SchülerInnen kann es gut sein, den Ablauf einmal vorzuführen. Vor Allem beim Eingießen des Alkohols ist es wichtig, dass die Reagenzgläser geneigt gehalten werden und der Alkohol langsam am Rand des Reagenzglases eingeschüttet wird und nicht direkt auf den Erdbeermix. Bevor die SchülerInnen mit dem Experiment beginnen können, bitte noch einmal auf die Sicherheitshinweise aufmerksam machen.

Wenn alles richtig abläuft, sollten die SchülerInnen in etwa folgendes Ergebnis erhalten.



Abbildung 1: Eingießen des Alkohols



Abbildung 2: sichtbare DNA in alkoholischer Phase

DNA-Extraktion

Sicherheitshinweise

- Wenn möglich Schutzbrillen tragen
- Isopropanol ist leicht entzündlich und reizend für die Augen. Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen und anderen Zündquellen fernhalten
- Zu keinem Zeitpunkt sollten Gegenstände des Experiments in den Mund genommen werden, auch wenn es sich dabei um Lebensmittel handelt!

3 Klassenzimmer Aktivität

Die SchülerInnen können nun dem beigelegten Protokoll folgen. (Skript wird als Beilage geliefert. Das Set enthält i.d.R. 15 Versuchsansätze und sollte entsprechend auf die Klasse aufgeteilt werden)

Verständnisfragen während der Durchführung

- Warum müssen wir die Erdbeeren zerquetschen?
A: Um die DNA freizusetzen. Das Zerdrücken macht die Zellwände kaputt und setzt die DNA frei
- Hat jemand eine Idee wofür wir Seife und Fleischzartmacher brauchen?
A: Die Seife löst die Zellmembranen auf, die die DNA beschützen. Fleischzartmacher und Salz helfen Enzyme aus den Zellen zu kontrollieren, welche die DNA ansonsten kaputt machen können
- Nun haben wir Seifenlösung und Fleischzartmacher mit Salz hinzugefügt, warum können wir die DNA noch nicht sehen?
A: Da sie sich noch in Lösung im Wasser befindet

4 Anschließende Diskussion

Was ist passiert, als ihr den Alkohol hinzugefügt habt?

A: Es sollten Schlieren oder eine weiße klumpige Masse entstanden sein

Wenn so die DNA von Erdbeeren aussieht, ist es das was ihr erwartet habt?

A: Verschiedenste Antworten möglich

Was denkt ihr warum Wissenschaftler DNA von Zellen extrahieren?

A: Um sie zu verändern, zu analysieren oder zu identifizieren

Könnte man die DNA, die wir heute extrahiert haben, identifizieren und analysieren?

A: Leider nein, da DNA sehr fragil ist und wir sie in diesem Experiment sehr wahrscheinlich an Stellen schon kaputt gemacht haben. Deswegen nutzen Wissenschaftler spezielle Methoden und Geräte, um die DNA zu schützen und sie zum Beispiel an ganz bestimmten Stellen zu

DNA-Extraktion

schneiden, um dann nur einzelne Abschnitte zu untersuchen. Diese Experimente dauern dann allerdings Tage bis Wochen

Aus welchen anderen Dingen/Lebewesen kann DNA noch alles extrahiert werden?

A: Prinzipiell aus allen Lebewesen und Viren

5 Erklärung und Hintergrundinformationen

Primär für die Lehrkraft. Kann nach Bedarf mit in die Diskussion eingebunden werden.

Hintergrundinformationen für alle Jahrgänge

Alle Lebewesen bestehen aus Zellen und jede dieser Zellen enthält DNA. Sie trägt die genetischen Informationen wie unser Aussehen, unser Immunsystem und sonst alles was uns ausmacht. Auch wenn Zellen für das bloße Auge nicht sichtbar sind, trägt jede Zelle DNA von bis zu 2 m (im ausgefalteten Zustand).

DNA zugänglich machen

Pflanzen- und Tierzellen lagern ihre DNA im Nukleus, einem kleinen Kompartiment, welches in jeder Zelle vorkommt und von der nuklearen Membran geschützt wird (Abbildung 3). Membranen sind flexible, dünne Schichten, die nur Wasser und wenige kleine Moleküle passieren lassen. Die Zellmembran umhüllt die gesamte Zelle und schützt diese vor äußeren Einflüssen. Die Membranen lassen sich durch die Zugabe von Detergenzien (hier Spülmittel) zerstören und erlauben so die Freilegung der DNA.

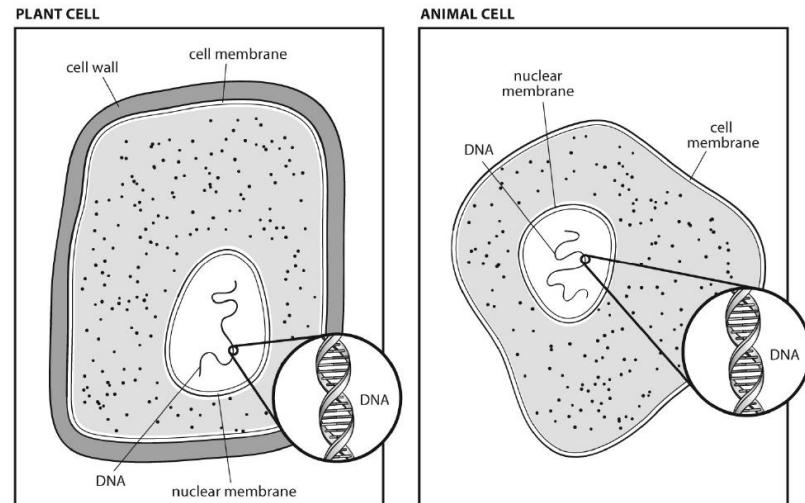


Abbildung 3: Vergleich Pflanzen- und Tierzelle

Um eine Pflanzenzelle spannt sich zusätzlich eine rigide Zellwand, die der Zelle zusätzliche mechanische Stabilität gibt. Deswegen muss die Erdbeere zerdrückt werden, um so die Zellwand aufzubrechen und die Membranen freizulegen, sodass das Waschmittel wirken kann.

Sobald die DNA freigesetzt ist, helfen die Enzyme im Fleischzartmacher die DNA von den anderen Zellbestandteilen zu entwirren und zu stabilisieren.

DNA-Extraktion

Beschützen der DNA

Durch das Zerbrechen der Membranen wird die DNA reaktiven und potenziell gefährlichen Chemikalien der Zelle ausgesetzt, die die DNA schädigen oder zerschneiden können. Um diese Reaktionen zu verlangsamen, wird mit kalten Zutaten und kaltem Alkohol gearbeitet.

Abtrennen der DNA

Obwohl die DNA zugänglich gemacht wurde, ist sie immer noch in Wasser gelöst. Durch das hinzugeben von Alkohol wird die DNA quasi aus dem Wasser „gehoben“ und vom Rest der Zellbestandteile abgetrennt. Da DNA aber in Alkohol nicht löslich ist, fällt sie in der Alkoholschicht aus (wird fest) und wird als weißer Schleim sichtbar.

Zusätzliche Hintergrundinformationen

Lipid Struktur von Zellwänden und Zellmembranen

In diesem Experiment wird Spülmittel benutzt, um die Membranen aufzulösen. Spülmittel löst die Membranen der Zelle auf, da die Membranen im Prinzip Schichten aus Öl sind, die die Zellen umgeben. Statt wie üblich dreckige Teller und Besteck von Öl zu säubern, benutzen wir in diesem Experiment das Spülmittel, um die öligen Membranen der Zellen aufzureinigen.

Zellmembranen und Öl bestehen aus Molekülen namens Lipide. Dies sind große Moleküle mit zwei Bestandteilen: einen kleinen, kompakten hydrophilen (wasserliebenden) Kopf und einen langen hydrophoben (wassermeidenden) Schwanz.

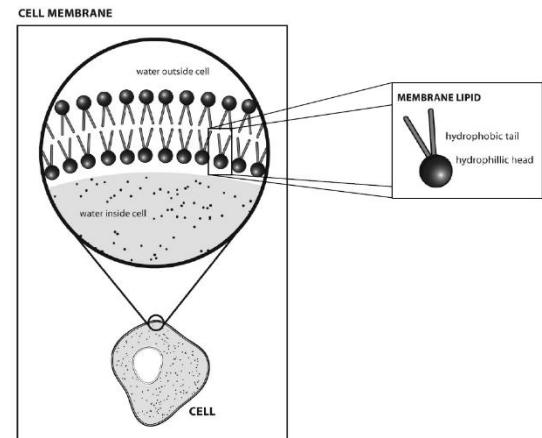


Abbildung 4 Doppelschicht aus Lipiden, die die Zellmembranen formen

LIPIDS

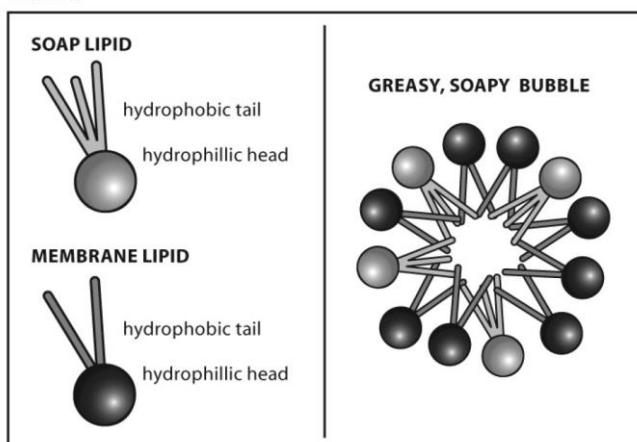


Abbildung 5 Bestandteile der Lipide (links); fettige, seifige Bläschen die aus der Mischung von Zellmembran Lipiden und Spülmittel Lipiden entstehen (rechts)

Durch diese Eigenschaft lagern sich die Lipide zu einer Doppelschicht an, wenn sie in Wasser sind. In dieser Doppelschicht zeigen die hydrophilen Köpfe nach außen, während sich die hydrophoben Schwänze im Inneren anlagern und so vor dem Wasser abgeschirmt sind. Diese Doppelschicht bildet die Membranen der Zellen (Abbildung 4).

Die Moleküle im Waschmittel sind ebenfalls Lipide, aber mit einem Unterschied: ihr hydrophiler Kopf ist in Wasser stärker löslich – sie haben aber

DNA-Extraktion

trotzdem noch einen Teil des wassermeidenden Schwanzes. Dadurch sind sie noch „genug“ Lipid, um sich mit den Lipiden der Zellmembran zu mischen, sind aber auch „genug“ wasserliebend, um sich mit dem Wasser um die Zellmembranen zu mischen. Da sie sich also mit beidem mischen können, bringen die die Struktur der Membran durcheinander und zerstören sie, sodass kleine, fettige, seifige Bläschen entstehen (Abbildung 5).

Beschützen der DNA

Um Viren und Bakterien am Eindringen in die Zellen mit deren DNA zu hindern, haben Zellen Enzyme (DNase Enzyme) die jegliche DNA zerschneiden, die sich außerhalb des Nukleus befindet. Sobald die Erdbeer-DNA aus dem Nukleus gelangt, wird auch diese anfällig für die Enzyme. Aus diesem Grund wird mit kalten Bestandteilen gearbeitet, um so die Reaktionen zu verlangsamen und die DNA zu beschützen, da die Reaktionen bei kalten Temperaturen langsamer ablaufen.

Der Fleischzartmacher hilft zusätzlich die DNA zu beschützen, da er zwei weitere Enzyme enthält, Bromelain und Papain. Die DNA ist im Nukleus um Proteine gewunden, um sie so dicht zusammenzupacken. Die beiden Enzyme zerstören nun diese Proteine und setzen die DNA frei, ohne diese zu schädigen.

Abtrennen der DNA

DNA ist in Wasser löslich, nicht aber in salzigem Wasser. Allerdings sind alle anderen Zellbestandteile sowohl in Wasser als auch in salzigem Wasser löslich. Dieser Unterschied in der Löslichkeit erlaubt die Abtrennung der DNA von den restlichen Zellbestandteilen. Aus diesem Grund wird in dem Experiment Salz zu der Mixtur gegeben.

Zusätzlich ist DNA nicht löslich in Alkohol. Wenn die DNA aus der salzigen Lösung in Kontakt mit dem Alkohol kommt, entwindet sie sich und fällt aus (wird ein Feststoff in einer flüssigen Lösung), während alle anderen Zellbestandteile in der salzigen Lösung bleiben.

Erdbeeren enthalten eine Menge DNA

Erdbeeren sind oktagloid, was bedeutet, dass sie acht Kopien ihres genetischen Materials besitzen (im Vergleich: Menschen sind diploid, sie besitzen zwei Kopien ihres genetischen Materials). Dadurch kann immer noch eine Menge DNA extrahiert werden, auch wenn die Methode ungenau und fehleranfällig ist.

6 Referenzen

1. “DNA Extraction” Protokoll, OMSI Educator Resources, <https://omsi.edu> (02.05.2021)