

**Organisch-chemisches Praktikum für das Lehramt (LA)**

Torsten Lasse

Leitung: Dr. P. Reiß

WS 2008/09

Assistent: Tobias Gerhardt

**Schulversuch (Gruppe 10/Assistentenversuch):  
Isolierung von DNA aus Zwiebeln**

Aus herkömmlichen Zwiebeln wird in einer schulorientierten Durchführung DNA isoliert. Ergänzend wurde zusätzlich eine Anfärbung der DNA durchgeführt.

**Zeitbedarf**

Vorbereitung: 3 Minuten

Durchführung: 25 Minuten

Nachbereitung: 3 Minuten

**Chemikalien und eingesetzte Substanzen**

Eingesetzte Stoffe	Summenformel	Menge	R-Sätze	S-Sätze	Gefahrenkennzeichnung	Schuleinsatz
Küchenzwiebel ( <i>Allium cepa</i> )	-	1/2	-	-	-	- (unbedenklich)
Spülmittel	-	10 mL	-	-	-	- (unbedenklich)
Ethanol (eisgekühlt)	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	70 mL	11	7-16	F	SI
Kochsalz	NaCl	etwa 1 Esslöffel	-	-	-	SI
Methylenblau-Lösung	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> N <sub>3</sub> SCI	wenige Tropfen	10-36/37/38	26-38	Xi	SI
Wasser (entionisiert)	H <sub>2</sub> O	nach Bedarf	-	-	-	- (unbedenklich)

\* = nach HessGiss 2006/07

**Geräte und Materialien**

Küchenmaschine bzw. Küchenreibe, Messer

Glasstab

Bechergläser 500 mL 2x

Messzylinder

Magnetrührer mit Wasserbad und Thermofühler

Eisbad

Glas- oder Pulvertrichter

Kaffeefilter

Holzstab

Petrischale

## Versuchsaufbau

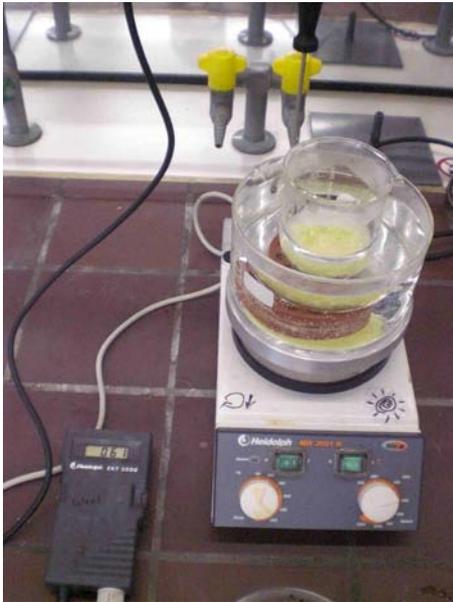


Abb. 1: Wasserbad auf Magnetrührer, etwa 60 °C (Abb. mit Ansatz).

## Durchführung

Eine halbe geschälte Zwiebel wurde in einer Küchenmaschine zerkleinert und in ein Becherglas gegeben. Nun wurden etwa 100 mL Wasser, ein Esslöffel Kochsalz (NaCl) sowie 10 mL handelsübliches Spülmittel („Lyselösung“) zugesetzt und gut mit einem Glasstab umgerührt (s. Abb. 2).



Abb. 2 Zerriebene Zwiebeln mit Lyselösung

Nachfolgend wurde der Ansatz für etwa 15 Minuten in ein Wasserbad auf einem Magnetrührer bei etwa 60 °C gestellt (s. Abb. 1) sowie im Anschluss im Eisbad auf Raumtemperatur abgekühlt (s. Abb. 3)



Abb. 3: Ansatz im Eisbad

Das abgekühlte Gemisch konnte nun durch ein Kaffeesieb in ein Becherglas filtriert werden (s. Abb. 4).



Abb. 5: Filtration

Das gelbliche Filtrat wurde nun mit etwa doppeltem Volumen an eisgekühltem Ethanol vorsichtig überschüttet (etwa 70 mL). In den folgenden 2 Minuten fällte sich in der entstandenen oberen, farblosen Phase eine weißliche, fädige Substanz aus (s. Abb. 6).

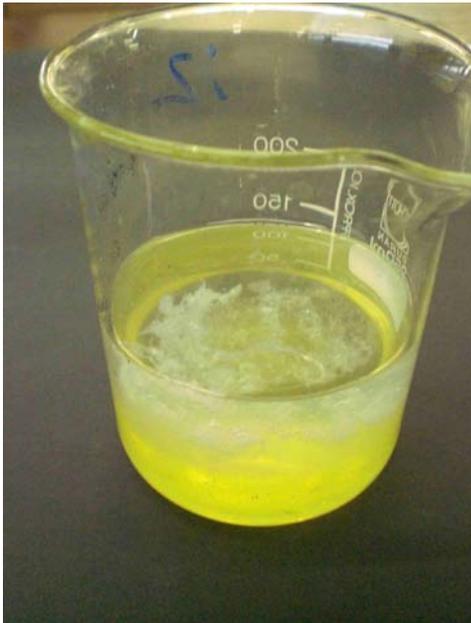


Abb. 6: Ausgefallene weißliche Fäden

### Beobachtung

Bei den Ausfällungen handelt es sich um isolierte DNA, die im Folgenden mit einem Holzstab aufgewickelt wurde (s. Abb. 7; Abb. 8).



Abb. 7: Fädige Ausfällungen in der oberen Phase: DNA

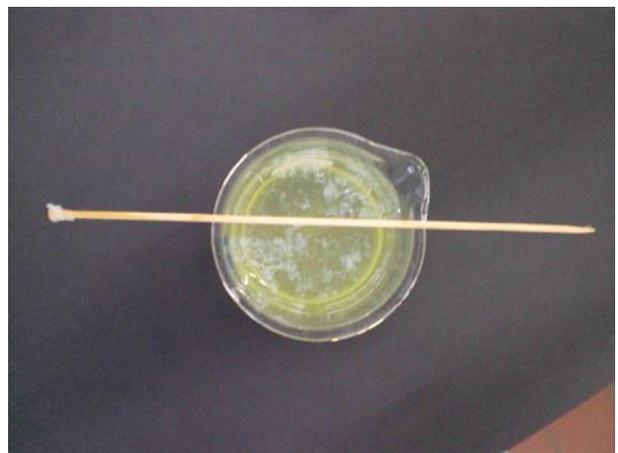


Abb. 8: Die DNA wird mit einem Holzstab aufgewickelt.

### *Ergänzung: DNA-Färbung*

Zusätzlich wurde die DNA noch auf eine Petrischale übertragen und mit Methyleneblau-Lösung übergossen. Auch mehrmaliges Waschen mit Wasser (entionisiert) vermochte nicht, die blaue DNA wieder zu entfärben.

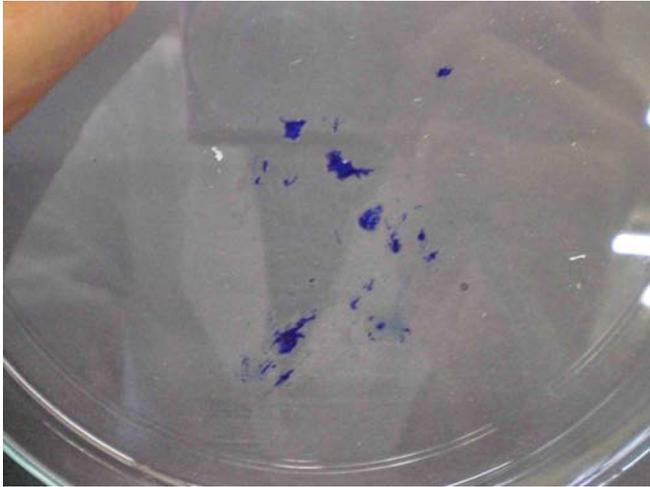


Abb. 8: Gefärbte DNA

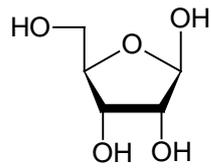
### **Entsorgung**

Der Ansatz konnte nach vorhergehender Neutralisation im Lösungsmittelabfall entsorgt werden. Die trockene DNA sowie der Holzstab wurden im Feststoffmüll entsorgt.

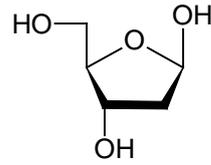
### **Fachliche Analyse**

Nucleinsäuren stellen hochmolekulare Polynucleotide dar. Die zugrunde liegenden Nucleotide sind aus drei Bausteinen aufgebaut: einer Pentose, einer (stickstoffhaltigen) Nucleinbase sowie einem Phosphorsäurerest.

Die jeweilige Benennung richtet sich nach der vorhandenen Pentose. Nucleinsäuren mit Ribofuranose bezeichnet man als Ribonucleinsäuren (RNS bzw. RNA), Nucleinsäuren mit 2-Desoxyribofuranose als Desoxyribonucleinsäuren (DNS bzw. DNA).

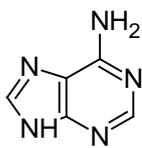


Ribofuranose

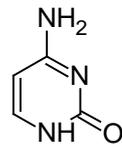


2-Desoxyribofuranose

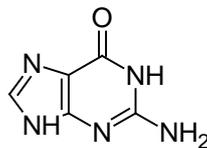
Die DNA verfügt über die vier Nucleinbasen Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin. Die RNA besitzt ebenfalls Adenin, Cytosin und Guanin. An Stelle des Thymins liegt hier jedoch Uracil vor.



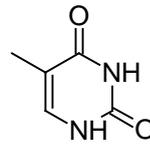
Adenin



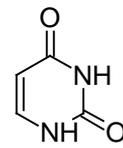
Cytosin



Guanin

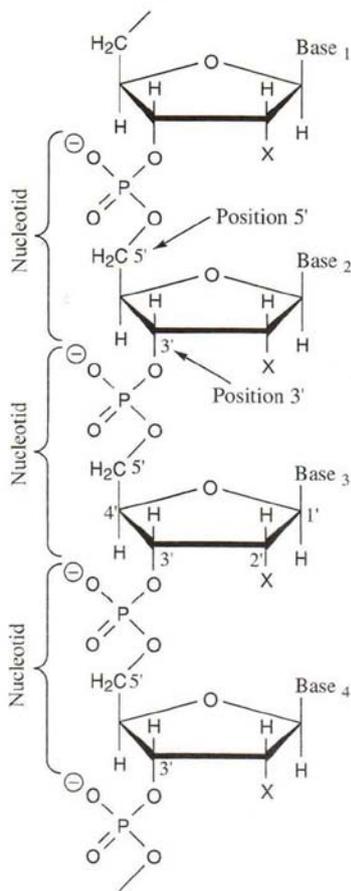


Thymin



Uracil

Im Folgenden ist ein Abschnitt aus einem Nucleinsäurestrang dargestellt:

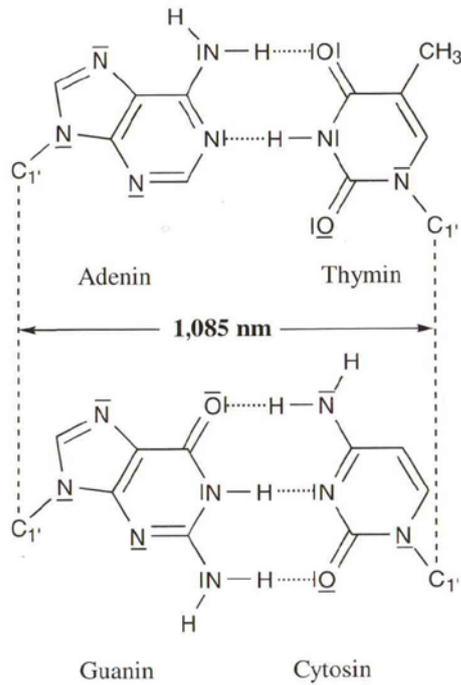


Abschnitt aus einem  
Nucleinsäurestrang:

X=H=Desoxyribonukleinsäure

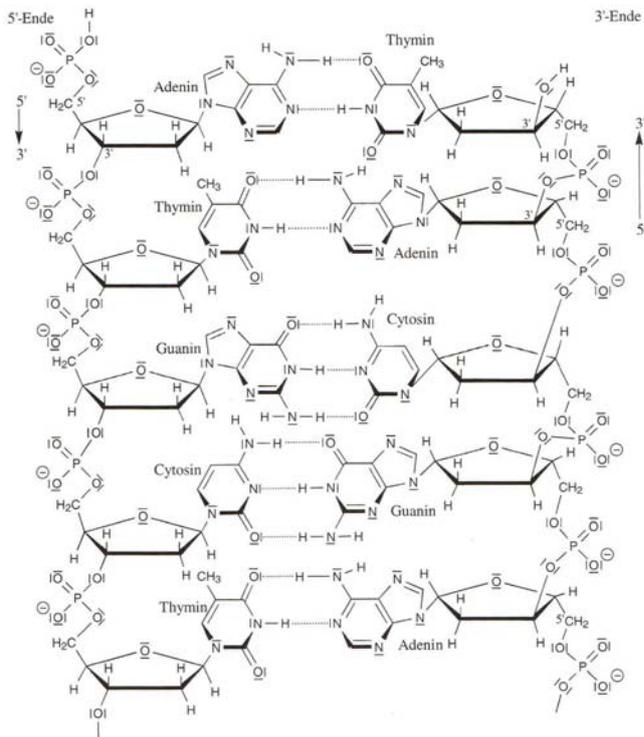
X=OH=Ribonukleinsäure

Entlang der DNA-Ketten variiert die Reihenfolge der Basen. Die Ketten liegen jedoch (bis auf wenige Ausnahmen) als parallele Doppelstränge vor, so dass charakteristische Komplementärbasen beobachtet werden können, d.h., liegt in der einen Kette die Base Adenin vor, befindet sich am komplementären Strang die Base Thymin (und umgekehrt). Die komplementäre Base zum Guanin ist das Cytosin (und umgekehrt). Die Basen sind im Doppelstrang durch Wasserstoffbrückenbindungen verbunden.



Wasserstoffbrückenbindungen  
zwischen den Basen

Die Einzelstränge verlaufen dabei antiparallel zueinander, d.h. sie verlaufen in entgegengesetzter Richtung.



Doppelstrang eines DNA-Abschnitts

Die Doppelstränge verlaufen wiederum in einer Doppelspirale, der so genannten Doppelhelix. Die Wasserstoffbrücken sind in dieser Konformation der beiden Stränge maximal ausgebildet. Die hydrophoben Anziehungskräfte sind hier ebenfalls am stärksten ausgebildet.

Die DNA kann durch wichtige Funktionen charakterisiert werden. Durch den genetischen Vorgang der Replikation kann eine identische Verdopplung erfolgen und sie beinhaltet Informationen zur Synthese von Ribonucleinsäuren und Proteinen. Generell gesagt, ist sie der Träger der genetischen Information, d.h. des Erbgutes, aller Organismen. Dabei wird diese Information nur durch die Reihenfolge der genannten Nucleinbasen im (komplementären) Doppelstrang bestimmt<sup>1</sup>.

Die Zwiebel eignet sich in diesem Versuch sehr gut zur Isolierung der DNA. Aufgrund ihrer langgestreckten, saftigen und farblosen Zellen eignet sie sich für viele genetische Experimente und hat als Standardorganismus in der Pflanzenzellforschung eine wichtige Bedeutung.

<sup>1</sup> Für detailliertere Informationen sei an dieser Stelle auf entsprechende biologische Fachliteratur verwiesen.

Zunächst wird in dem hier durchgeführten Versuch durch die Zerkleinerung mit der Küchenmaschine oder der Küchenreibe eine mechanische Zerstörung der Zellen erreicht. Im folgenden Schritt wird dem Ansatz Kochsalz und Spülmittel zugesetzt. Dabei bewirkt zunächst das Spülmittel, dass die Zell- und Organellmembranen aufgebrochen werden und die DNA (aus dem Zellkern) freigesetzt wird. Die im Spülmittel enthaltenen Detergentien können aufgrund ihres chemischen Aufbaus Lipide (hier: Membranlipide) in Lösung bringen (Lyse). Das Kochsalz erhöht die Löslichkeit der DNA und verstärkt zusätzlich den Effekt der Lyse. Das 15minütige Wärmebad beschleunigt den Prozess. Dabei werden zusätzlich störende DNAsen (Enzyme, die DNA abbauen können) zerstört (bzw. denaturiert). Darauf folgt ein Kältebad, damit die DNA möglichst nicht zu lange den heißen Bedingungen ausgesetzt ist. Eine zu lange andauernde Wärmebehandlung würde auch die DNA schädigen. Weiterhin könnte dem Ansatz Feinwaschmittel zugesetzt werden, da die darin enthaltenen Enzyme DNAsen sowie andere Proteine denaturieren können. Dieser nicht besonders wichtige Schritt wurde in dieser Versuchsdurchführung ausgelassen.

Nach der Filtration wird der Ansatz mit (eiskaltem) Ethanol überschüttet. Die DNA fällt in der Folge in schlierenartigen, weißen Fäden in der alkoholischen Phase aus. Bei den vorliegenden niedrigen Temperaturen des Ansatzes während des Eisbades und dem gleichzeitig hohen Salzgehalt der Lösung wird die Hydrathülle der DNA teilweise aufgelöst. Bei Zugabe des eiskalten Alkohols findet auch die Zerstörung der restlichen Hydrathülle statt – die Löslichkeit wird vermindert –, woraufhin die DNA in der beobachteten Form ausfallen kann<sup>2</sup>. Die DNA wird also in Ethanol unlöslich.

Das Endprodukt lässt sich isolieren, indem man diese Schlieren vorsichtig mit einem Holzstab aufwickelt.

Der Versuch verdeutlicht die häufige Vorgehensweise zur Isolation von DNA – auch im molekularbiologischen Labor. Nach der mechanischen Zerstörung erfolgt die Lyse der Membranen, die nachfolgende Aufreinigung von Verunreinigungen (etwa Proteine) sowie schließlich das Auffangen der DNA.

Die Färbung der DNA wird in molekularbiologischen Labors häufig mit dem hochtoxischen, interkalierenden Ethidiumbromid durchgeführt. In diesem Versuch gelang eine Anfärbung mit

---

<sup>2</sup> Ebenfalls findet hier eine Erniedrigung der Dielektrizitätskonstante in dem Ansatz statt, was die Löslichkeit weiter verringert.

der zwar nicht sehr sensitiven, aber hierfür ausreichenden Methylenblau-Lösung. Der Nachweis gilt dann als spezifisch, wenn sich die DNA auch nach mehrmaligem Auswaschen mit Wasser nicht mehr entfärbt.

### **Methodisch-didaktische Analyse**

Der Versuch ist ein Standardversuch zur DNA-Isolierung an Schulen. Neben der Durchführung im Rahmen des Biologieunterrichtes (Genetik) bietet sich eine Behandlung des Themas mit Schwerpunkt auf dem chemischen Aufbau der Nukleinsäuren in der Jahrgangsstufe 11 als fakultativer Unterrichtsinhalt für Grund- und Leistungskurse an. Wichtige Grundlagen des Aufbaus komplexer organischer Moleküle (Kohlenhydrate, Heterocyklen) sollten ggf. vorher angesprochen werden. Weiterführende Informationen, wie z.B. die helicale Ausrichtung der DNA (Doppelhelix) werden zwar im Lehrplan als fakultativer Unterrichtsinhalt angedeutet, sollten jedoch m.E. eher dem Biologieunterricht vorenthalten bleiben.

Generell bietet sich der Versuch auch als Einstieg in genetische Sachverhalte für jüngere Jahrgangsstufen an. Den Schülern dürfte die Isolierung des Erbgutes einer einfachen Küchenzwiebel faszinierend erscheinen. Die abschließende Färbung kann das Ergebnis sinnvoll optisch aufwerten. Dabei kann ein Schwerpunkt auf der methodischen Vorgehensweise liegen und Verweise auf das Arbeiten in molekularbiologischen Labors eingearbeitet werden. Ohne die Thematisierung des chemischen Aufbaus der Nukleinsäuren erscheint mir der Versuch jedoch im Rahmen des Chemieunterrichtes als nicht sinnvoll.

Die Vor- und die Nachbereitung erfordern jeweils 3 Minuten, die Durchführung etwa 25 Minuten. Somit stellt sich eine Durchführung innerhalb einer Unterrichtsstunde als problemlos dar. Die ungefährlichen Chemikalien bzw. Substanzen legen die Durchführung im Schülerversuch nahe. Eine Durchführung im Rahmen eines Stationenlernens ist ebenfalls denkbar. Beim Umgang mit Methylenblau-Lösung sollte die starke Färbewirkung – auch auf Textilien und Haut – beachtet werden.

Es erwies sich in diesem Versuch als vorteilhaft, die Zwiebel mit einer Küchenmaschine zu zerkleinern. Ein Indikator für die erfolgreiche mechanische Zerstörung der Zellmembranen (und der Zellwände) ist die Menge des austretenden, augenreizenden Zellsaftes. Die ebenfalls durchgeführte Zerkleinerung mit einer Küchenreibe lieferte nur relativ wenig Zellsaft.

Der Versuch ist meiner Meinung nach optisch sehr eindrucksvoll und sollte daher in der Schule auf jeden Fall durchgeführt werden, entweder im Rahmen des chemischen oder des biologischen Unterrichtes.

### ***Literatur***

Peter K , Vollhardt C, Schore NE: Organische Chemie, 4. Auflage, 1. korrigierter Nachdruck 2007, Wiley-VCH, Weinheim

Taiz L, Zeiger E: Physiologie der Pflanzen; 2000, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin

Wollrab A: Organische Chemie; 2. Auflage 2002, Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York

#### *Idee aus:*

„DNA-Isolierung aus Zwiebeln“, in: Naturwissenschaften im Unterricht - Chemie, 18 (2007), Nr. 99, S. 42

<http://www.muenster.de/~gentech/grundlagen/isolierung/isolierung.html>; Zugriff am 25.02.09

#### *Weitere Quellen:*

Hessisches Gefahrstoffinformationssystem Schule; <http://www.hessgiss.de/>; Version 2006/07

Hessischer Lehrplan Chemie G8; unter <http://www.kultusministerium.hessen.de/>; Zugriff am 25.02.09

[http://www.uni-frankfurt.de/fb/fb15/institute/didaktik-biowiss/\\_dokumente/Molekularbiologie.pdf](http://www.uni-frankfurt.de/fb/fb15/institute/didaktik-biowiss/_dokumente/Molekularbiologie.pdf); Zugriff am 25.02.09