

DNA-Isolation aus Kalbsthymus

Bei der DNA-Isolation wird die DNA aus dem Thymus des Kalbes gewonnen. Der Thymus ist ein Organ des Lymphsystems, in dem die T-Helferzellen gebildet werden. Beim Menschen liegt der Thymus oberhalb des Herzens, bei Paarhufern wie den Kühen erstreckt er sich über den kompletten Hals. Der Thymus wird verwendet, weil bei diesem Organ die Zelldichte und damit die DNA-Menge besonders groß sind.

Materialien:

Stabmixer
 Pipetten (1000er)
 Pipettenspitzen blau
 15 mL Falcons (mit Deckel)
 2x Becherglas (1L, schmale Ausführung)
 Siebfilter (Teesieb)
 Papierfilter (Kaffeefilter)
 Messzylinder
 Trichter
 Spatel

Chemikalien:

20 g Kalbsthymus
 96% Ethanol
 Phosphatpuffer
 Lysepuffer (für Thymus)
 Kochsalz-Lösung

Durchführung:

- ▶ 200 mL Phosphatpuffer werden in einem 1L-Becherglas zu 20 g Kalbsthymus gegeben und dieser mit einem Stabmixer zu Püree zerkleinert.
- ▶ Zu dem zerkleinerten Thymus werden weitere 300 mL Phosphatpuffer gegeben und das Gemisch wird mit dem Stabmixer zu einer homogenen Lösung gemixt.
- ▶ Die Lösung wird zuerst durch einen Siebfilter und dann durch einen Papierfilter filtriert, um größere Gewebestücke zu entfernen.
- ▶ 2 mL des Filtrats werden in ein 15 mL Falcon gegeben, 1 mL Lysepuffer (für Thymus) hinzu gegeben und gut gemischt.
- ▶ Dann 250 µL Kochsalz-Lösung zugeben und die Lösung wieder gut mischen. Bei den nächsten Schritten nicht mehr mischen!
- ▶ Die Lösung wird mit 10 mL eiskaltem Ethanol überschichtet. Die DNA fällt als weiße, fädige Substanz aus.



Lösungen:

Phosphatpuffer (pH 8,7)

2 mM Na₂HPO₄

15 mM KH₂PO₄

Lyse-Puffer (für Thymus):

25 g SDS

Ad 250 mL dest. H₂O

Kochsalz-Lösung:

29,2 g NaCl

Ad 250 mL dest. H₂O

Science Bridge 2008, Benjamin Boesler



NaT-Working

Naturwissenschaften und Technik:
Schüler, Lehrer und
Wissenschaftler vernetzen sich