

Nukleinsäuren

Darstellung hochmolekularer Nukleinsäuren aus Thymus

Als Ausgangsmaterial für die einfachste Art der DNS-Darstellung eignet sich die *Thymusdrüse* des Kalbes [*Kalbsbries*]. Ihre Zellen bestehen fast ausschließlich aus dem Zellkern, sodass man bei der Gewinnung des Kerninhaltes auf die Abtrennung des Zytoplasmas verzichten kann. Um zur DNS im Zellkern zu gelangen, müssen lediglich die Zell- und die Kernmembran geknackt und anschließend die basischen Proteine [*Histone*], die an die DNS im Zellkern gebunden sind, abgespalten werden:

a. Herstellung einer Thymus-Zellsuspension

Man zerschneidet ca. 6g Thymus in einem 100ml-Becherglas in 20ml Wasser mit einer Schere so lange, bis das Wasser von den dabei abgeschabten Thymuszellen kräftig getrübt erscheint. Die Zellsuspension filtriert man. Stellt man von der Suspension einen Ausstrich her und färbt ihn wie einen Blutausstrich mit **Giensa**-Lösung, sieht man im Mikroskop die ganzen Zellen stark blau gefärbt, was bestätigt, dass sie im Wesentlichen nur Kernmaterial enthalten.

b. Freisetzen hochmolekularer DNS

Fügt man zu der Zellsuspension einige Tropfen einer gesättigten **Natriumdodecylsulfat**-Lösung und schüttelt um, klärt sich die Suspension augenblicklich auf und wird zu einer hochviskosen Lösung [*Natriumdodecylsulfat* hat als kräftiges *Detergens* mit seinem *hydrophilen-lipophilen* Charakter die Protein-Lipoid-Doppelmembran von Zell- und Kernwand zerstört und zusätzlich noch die *Histone* von der DNS abgespalten].

Die hohe Viskosität der klaren Lösung kann man zeigen, indem man sie durch kräftiges Saugen in einer 10ml-Pipette aufnimmt und ausfließen läßt: Bei frischem *Bries* und hinreichender Konzentration der ursprünglichen Zellsuspension kommt langsam ein zäher, bis 1m langer Faden aus der Pipette hervor.

[Der visköse Faden besteht im Wesentlichen aus hochmolekularer DNS und nicht etwa aus zähem Eiweiß. Beweis: Man baut nach *Avery* die DNS durch DNase aus *Rinderpankreas* enzymatisch ab, wobei die Viskosität verschwindet. Falkenhahn III, S 321/6]

c. Alkohol-fällung hochmolekularer Nukleinsäuren

[Zur Anreicherung und Reindarstellung von DNS]

Dazu überschiebt man eine Probe Nukleinsäurelösung in einem kleinen Becherglas mit der gleichen Menge **Ethanol** und rührt mit einem Glasstab um. An der Grenzschicht der beiden Flüssigkeiten beginnen die *Nukleinsäuren* als dichte gallertige Fäden auszufallen, die sich um den Glasstab herumwickeln. Indem man den Stab weiterrührend dreht, langsam hochzieht und dabei die beiden Schichten miteinander vermischt, kann man die gesamten Nukleinsäuren fällen und auf den Glasstab gewickelt herausnehmen.

¹ Nach Falkenhahn, Handbuch der praktischen und experimentellen Schulbiologie, Lehrstoff III, S 318

