

Wichtige VERSUCHSHINWEISE damit sich die gewünschten Ergebnisse einstellen:

DNA ISOLATION und FÄRBUNG von Mundschleimhautzellen

- 1) Den **Spiritus** (ca. 94% und mehr) vor dem Versuch für mindestens 3 Std. ins **GEFRIERFACH (-20°C)** stellen.
- 2) Ganz **wenig Feinwaschmittel** verwenden – nur 3 Körnchen!!! – siehe Skript neues Schülerarbeitsheft
- 3) Die Schüler einen größeren **Schluck Salzwassers in den Mund aufnehmen** lassen. Mit diesem **2 Minuten** lang den Mundraum **sehr kräftig** ausspülen, damit genug Zellen (DNA) abgelöst werden.

GELELEKTROPHORESE mit DNA-PROBEN

- 1) **DNA-Proben:** Bei langfristiger Lagerung (über 2 Wochen) im **Gefrierschrank bei -20°C** einfrieren. **Kurzfristige Lagerung** (bis zu 2 Wochen) im **Kühlschrank bei +4°C**. Die DNA-Proben **nicht ständig auftauen und einfrieren**, da die DNA geschädigt wird.
- 2) Alle **Lösungen** (TAE-Puffer, Azur B-Farbstoff) nach **Anleitung** und mit **richtiger Konzentration** ansetzen (siehe Lehrerskript und/oder Beschriftung auf den Proberöhrchen).
- 3) **NEUE Anleitung zur Gelelektrophorese:** Es wird von jeder Gruppe nur noch **ein Gel mit zwei Kämmen** gegossen (siehe Schülerarbeitsheft! – **Download: www.genie-konzept.de**).
- 4) Die **1%igen Agarose GELE nicht zu dünn oder zu dick gießen!!!** Der **Gelkamm** sollte **ca. 4-5 mm in das Gel eintauchen**, sonst verlängert sich die Färbe- und Entfärbezeit (siehe Schülerarbeitsheft!).
- 5) **Proben vor dem Pipettieren immer auftauen** (in den Händen) und **runterschnippen**, da sich Probenmengen im Deckel absetzen und sonst zu wenig Probe in die Geltaschen pipettiert wird! **Die gesamte Probe in die richtige Geltaschen pipettieren. Vorsicht: Nicht mit der Pipettenspitze durch die Geltaschen stechen**, da ansonsten die Probe durch das Loch im Gel entweicht. **Keine Luft(-blasen) in die Pipettenspitze aufnehmen**, dies führt zu Pipettierproblemen (daher Probe erneut aufnehmen).
- 6) **Gelelektrophorese** mit 5 x 9V Batterien = **45 V** durchführen (Reihenschaltung: Batterien ineinander stecken). Die **Laufzeit** sollte **25-30 Minuten** betragen. Die **Spannung** an den Kohlenfaser-Elektroden **kontrollieren (Voltmeter)**, da gebrochene Kabel oder defekte Batterien das Laufen der Proben im Gel verhindern.
- 7) **Färbezeit in Azur B-Lösung von ca. 30 Minuten** einhalten!! (Möglichst neue Azur B verwenden. Bei älteren Lösungen (1-2 Jahre) Färbezeit auf 35-40 Minuten erhöhen.
- 8) **Entfärbung (ca. 15-30 Min.) in wenig (ca. 10ml) und lauwarmen Wasser vornehmen.** Zu heißes Wasser löst das Gel auf bzw. löst die DNA aus dem Gel. **Entfärbungen NICHT über Nacht** vornehmen. Bei **Zeitproblemen** Gel nach dem Färben ein bis zweimal im lauwarmen Wasser **kurz „waschen“** (abspülen) und mit **ganz wenig Wasser** (ca. 1-2 ml) in einer **Plastiktüte** (oder Frischkäsebox) im **Kühlschrank lagern**. Eine kurze Entfärbung kann bei Bedarf später nachgeholt werden. Eine zu lange Entfärbezeit (in zu viel Wasser) löst den Azur Farbstoff von der DNA oder sogar die DNA aus dem Gel.