

DNA från levande organismer

DNA kan extraheras från en mängd olika vävnader och celltyper hämtade från växter, djur och mikroorganismer. I den här laborationen ges exempel på extraktion av DNA från dels vetegroddar, dels munceller från människa. DNA-materialet som tas fram är inte rent utan innehåller även en del proteiner. Extraktion från vissa frukter som t.ex. kiwi, banan och jordgubbe ger som resultat huvudsakligen pektin och inte DNA. Det är svårt att skilja DNA från pektin. Enklast är att göra en spektrofotometrisk bestämning av DNA-innehållet. DNA absorberar UV-ljus, vilket inte pektin gör.

I den här laborationen används enkla kemikalier som finns hemma i hushållet. Principen för metoden är följande:

- Koksalt fäller ut proteiner.
- Diskmedel löser ut fett från cellernas membran, vilket innebär att cellerna öppnas.
- *Proteinas* bryter delvis ned lösliga proteiner.
- Iskall etanol (T-sprit) fäller ut DNA.

Tidsåtgång En extraktion tar ca en halvtimme.

Säkerhet Till försöket används enbart kemikalier som finns i hushållet.

I laborationen används saliv med munceller. Risken för att sprida smitta är liten och den kan minimeras ytterligare genom att var och en endast arbetar med sitt eget prov och genom att prov och plastmateriel kastas efter experimentet. Jodopax kan användas för desinfektion.

Materiel

- vetegroddar (köps i livsmedelsaffär),
- natriumklorid (koksalt),
- diskmedel (diskmedlet YES fungerar bäst i denna laboration),
- (*proteinas*),
- etanol eller T-sprit (iskall),
- dropppipetter,
- bägare,
- provrör (10 cm³).

44.1 DNA från vetegroddar

Utförande

- 1 Lägg 1 g (ca en tesked) vetegroddar i en liten bägare.
- 2 Tillsätt 20 cm³ (ca en matsked) varmt kranvatten (50–60 °C) och rör om i tre minuter.

- 3 Tillsätt 1 cm³ (ett kryddmått) diskmedel. Blanda om försiktigt en kort stund en gång i minuten under fem minuters tid. Försök undvika att det bildas lödder.
- 4 Överför blandningen till ett provrör. (En del av vetegroddsmassan kan lämnas kvar i bägaren.)
- 5 Använd en pipett för att ta bort eventuellt lödder från ytan av blandningen.
- 6 Luta provröret och håll långsamt ca 10 cm³ iskall etanol (T-sprit) längs rörets vägg så att spriten skiktar sig ovanför vetegroddsblandningen. (Tillsätt ungefär lika stor volym etanol i provröret som vetegroddsblandningen.) Se till att de två lagren inte blandar sig. DNA faller ut i skiktet mellan vetegroddsblandningen och etanolen.

Resultat och utvärdering

Låt blandningen stå några minuter. Använd t.ex. en böjd ståltråd eller och fånga upp DNA-trådar från gränssytan mellan vetegroddsblandningen och spriten. DNA-materialet kan förvaras i 50–70 % etanol eller lufttorkas.

44.2 DNA från egna munceller

Utförande

- 1 Skölj munnen en minut med ca 5 cm³ vatten eller isoton sportdryck. Se till att få med så mycket celler som möjligt genom att skrapa med tänderna mot kindens insida. Spotta ut vätskan i en liten bägare.
- 2 Håll vätskan från bägaren i ett 10 cm³ provrör. Fyll ca halva provröret.
- 3 Tillsätt 15 droppar (1 cm³) natriumklorid (10 %).
- 4 Tillsätt fem droppar diskmedel (YES).
- 5 Skikta mycket försiktigt iskall etanol (T-sprit) över vätskan i provröret. (Tillsätt ungefär lika stor volym etanol som provets volym.)

Resultat och utvärdering

DNA faller ut i gränsskiktet mellan vattenlösningen och etanolen som ett vitaktigt skikt. Håll provröret mot en mörk bakgrund för att se utfällningen.

Försök fånga upp det utfällda DNA-materialet med en böjd ståltråd.

44.3 DNA från annat material

Nedan följer några andra förslag. Principen är densamma som tidigare.

- 1 DNA kan extraheras från konserverad fiskrom, inköpt i livsmedelsaffärer (se www.bioscience-explained.org, Vol1:1).
- 2 DNA kan extraheras från färsk lök (se *Illuminating DNA*, www.ncbe.reading.ac.uk).
- 3 Plasmider kan extraheras från bakterier (se *Illuminating DNA*, www.ncbe.reading.ac.uk).

Fördjupningsuppgift

DNA-halten kan mätas spektrofotometriskt vid 660 nm (se *Illuminating DNA*, www.ncbe.reading.ac.uk).