

Extraktion av DNA

DNA från gul lök:

Materiel:

Matberedare, diskmedel, salt, kyld alkohol, en 250 cm³ bägare, vattenbad 60°C, stor skål med snö, två stora provrör, provrörsskak, filterställ, kaffefilter, tratt, en 100 cm³ bägare, en smal 50 cm³ bägare, centrifugerad papayajuce, en blompinne.

Utförande:

1. En gul lök skalas och hackas därefter i en matberedare.
2. Blanda en lösning bestående av:
 - 10 cm³ diskmedel
 - ~~3 g salt~~
 - 100 cm³ vatten i en 250 cm³ bägare.
3. Häll den hackade gula löken i den salta diskmedelslösningen.
4. Ställ bägaren i ett vattenbad med temperaturen 60°C i ca 15 minuter. Rör om.
5. Kyl ned bägaren genom att ställa ner den i en skål med snö eller is i några minuter. Rör om.
6. För över 25 cm³ blandning till ett stort provrör.
7. Skaka provröret på provrörsskaken i några sekunder.
8. Filtrera blandningen ner i en 100 cm³ bägare.
9. Tillsätt några droppar papayajuce till lökextraktet.
10. Häll över extraktet i en smal 50 cm³ bägare.
11. Luta bägaren och häll mycket långsamt och försiktigt ned 20 cm³ iskall alkohol i provröret.
12. DNA fälls då ut i gränsskiktet mellan alkoholen och lökextraktet.
13. Rulla upp DNA:t på en blompinne.
14. Känn på konsistensen.

För alla på slutet:

- a) Jämför med de andra grupperna i klassen.
- b) Vilka egenskaper hos DNA kan man iaktaga i den här laborationen?

Vad "händer" under extraktionen av DNA

När vi mosar vävnaden sprids cellerna ut och det blir lättare att komma åt dem.

Diskmedlet innehåller tensider, ämnen som löser upp lipider (fett).

Cellens alla membran består av sk fosfolipider, med diskmedlets hjälp kan vi därför öppna upp både cellmembranet som omger cellen och kärnans membran. Det är i cellkärnan DNA finns.

När kärnmembranet förstörts måste vi se till att skydda DNA från DNase, ett enzym som bryter ner DNA och som finns i cellens cytoplasma. DNase har till uppgift att skydda cellen från främmande DNA som t ex virus.

Normalt skyddas DNA av kärnmembranet, men eftersom vi förstör det med hjälp av diskmedlet måste vi hålla lösningen kall så att aktiviteten hos DNase blir låg.

Saltet (NaCl) binder till sig "skräp", t ex trasiga membran, proteiner, kolhydrater och andra organeller som annars kan fastna på DNA. När vi sedan filtrerar fastnar "skräpet" i filtrerpappret. Vatten med löst DNA droppar ner i bägaren.

När vi försiktigt tillsätter den iskalla etanolen till lösningen lägger den sig ovanpå vattenlösningen utan att blandas. DNA fälls ut i gränssytan mellan etanolen och vattnet. Detta beror på att etanolen är mindre polär än DNA-molekylen och då kan DNA-molekylen inte vara lika hydratiserad som i vattenlösningen och därmed minskar dess löslighet.

Det finns ju en princip som säger att "lika löser lika". Det betyder att polära ämnen är lösliga i polära lösningsmedel, medan opolära ämnen löser sig bäst i opolära lösningsmedel.