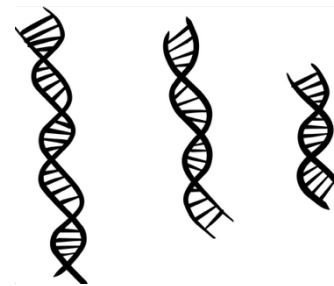


Isolering af DNA fra løg

Du skal nu isolere DNA fra alle de andre komponenter i en løgcelle. Princippet i metoden er, at du mekanisk nedbryder cellevæggene med en kniv og nedbryder cellemembraner og kernemembraner med sæbe. Cellerester fjerner du med filtrering. DNA og opløste proteiner forbliver i den frafiltrerede væske. Proteiner nedbrydes med enzymer, og endelig kan DNA udfældes med iskold alkohol.



Materialer

Kniv og skærebræt	NaCl(s)
100 mL konisk kolbe	Opvaskemiddel (ikke konc.)
Vandbad, 60 °C	H ₂ O(s)
(Stav)blender	Protease
Filter og tragt	96 % ethanol, -18 °C
10 mL måleglas	Stort løg
Reagensglas	

Fremgangsmåde

- | | |
|--------------|--|
| Lav ekstrakt | 1. Bland 1,5 g natriumchlorid, 5 mL opvaskemiddel og 45 mL demineraliseret vand i en konisk kolbe. |
| | 2. Hak et kvart løg (ca. 50 g) i stykker af højst 5 mm. Kom løgstykkerne i kolben. |
| Nedbryd 1 | 3. Stil kolben i et 60 °C vandbad med omrøring i 15 minutter. |
| | 4. Lav et isbad klar. |
| Køl | 5. Køl blandingen af i et isbad i 5 minutter. Rør jævnligt i blandingen. |
| Nedbryd 2 | 6. Tilsæt 3 dråber proteaseopløsning. Hæld blandingen i en blender og blend i netop 4 sekunder. |
| Filtrer | 7. Filtrer blandingen. Du skal kun bruge 6 mL, så det gør ikke noget, hvis filteret hurtigt stopper til. |
| Isolér DNA | 8. Hæld ca. 6 mL filtrat i et reagensglas. |
| | 9. Hæld 9 mL iskold ethanol oven på filtratet ved forsigtigt at lade ethanolen løbe ned langs reagensglassets sider, så de to væsker ikke blandes. Lad opløsningen stå uforstyrret i 2 - 3 minutter. Hvad ser du? Tag et foto. |
| | 10. Vikl DNA op om en glasspatel. |

Efterbehandling

- | | |
|------------|--|
| Diskussion | 1. Hvad ville der ske, hvis vandbadet var 40 °C eller 80 °C? |
| | 2. Hvad ville der ske, hvis du blendede for længe eller for kort? |
| | 3. Hvad nedbryder du i 1. omgang og hvad nedbryder du i 2. omgang? |
| | 4. Hvorfor hælder du først protease i efter isbadet? |