

DNA-oprensning fra planteceller

Mange teknikker inden for bioteknologi starter med at DNA isoleres. Denne øvelse er en generel metode der kan anvendes på mange celletyper, der indeholder DNA. Læs om DNA's opbygning i DNA og DNA-teknikker side 52-54.

Metoden går ud på at plantematerialet, her kiwifrugt, nedbrydes mekanisk til mindre dele. Derefter nedbrydes cellevægge og membraner med et detergent (opvaskemiddel) og NaCl. Filtrering adskiller celledele fra DNA og de proteiner der er opløst i væskefasen. Ved at tilsætte en protease opnås enzymatisk fjernelse af proteinerne og til sidst udfældes DNA i -18° kold ethanol.

Materialer til fælles opløsning






100 g skrællet kiwifrugt
 Skarp kniv
 Skærebræt
 250 mL bægerglas
 Glasspatel
 10 mL opvaskemiddel – ikke koncentreret
 3 g NaCl
 Ca. 100 mL destilleret vand
 Vandbad 60°
 Isbad 0° (kar med koldt vand og isterninger)
 Blender
 Tragt med filterpapir
 500 mL konisk kolbe

Materialer til hver gruppe

Bananfluerør eller stort reagensglas med stativ
 10 mL måleglas
 Engangspipette
 6 mL kiwi-opløsning
 3 dråber protease, fx Neutrase fra Novozymes
 9 mL iskold 96 % ethanol direkte fra fryseren
 Glasspatel eller anden tynd stav

Fremgangsmåde

			
Skær 100 g skrællet kiwi i små stykker på ca. $0,5 \times 0,5$ cm.	Bland 10 mL opvaskemiddel med 3 g NaCl og fyld op til 100 mL med destilleret vand i et 250 mL bægerglas. Tilsæt kiwistykkerne og bland med en glasspatel.	Sæt blandingen i 60° vandbad i præcis 15 minutter. Check vandbadets temperatur og omrør blanding undervejs.	Sæt blandingen i 0° isbad i 3 minutter.

				
Hæld blandingen i en blender og blend ved høj hastighed i 5 sekunder.	Hæld blandingen i en tragt med et filter, og lad væsken med opløst kiwi DNA dryppe ned i kolben.	Hæld 6 mL filtreret kiwi DNA væske i et stort reagensglas/bananfluerør og tilsæt 3 dråber protease, omrør med en glasspatel. Hold reagensglasset skråt og hæld forsigtigt 9 mL iskold 96 % ethanol ned langs reagensglas-undersiden, så ethanolen lægger sig oven på kiwi-væsken.	Lad reagensglasset stå lodret og helt stille i 2 minutter. Iagttag hvordan DNA stiger op i ethanolaget som en hvid frugget sky.	Brug en glasspatel eller anden stav til forsigtigt at vikle de ultratynde DNA-strengene op på.

Bearbejdning

1. Forklar omhyggeligt hvad der sker i de enkelte trin i metoden.
2. Hvad kan man udlede om DNA på baggrund af de behandlinger det udsættes for i denne øvelse?
3. Diskuter de etiske perspektiver i nogle af de DNA-teknikker der forklares i 'DNA og DNA-teknikker' på siderne 62-73.

Vejledningen er en bearbejdning af: Dean Madden og John Scollar, 1993: "DNA your onions?", Practical Biotechnology, p. 30-31, NCBE. Vejledningen er oversat til dansk i Biofag nr. 7 1994, Særnummer.