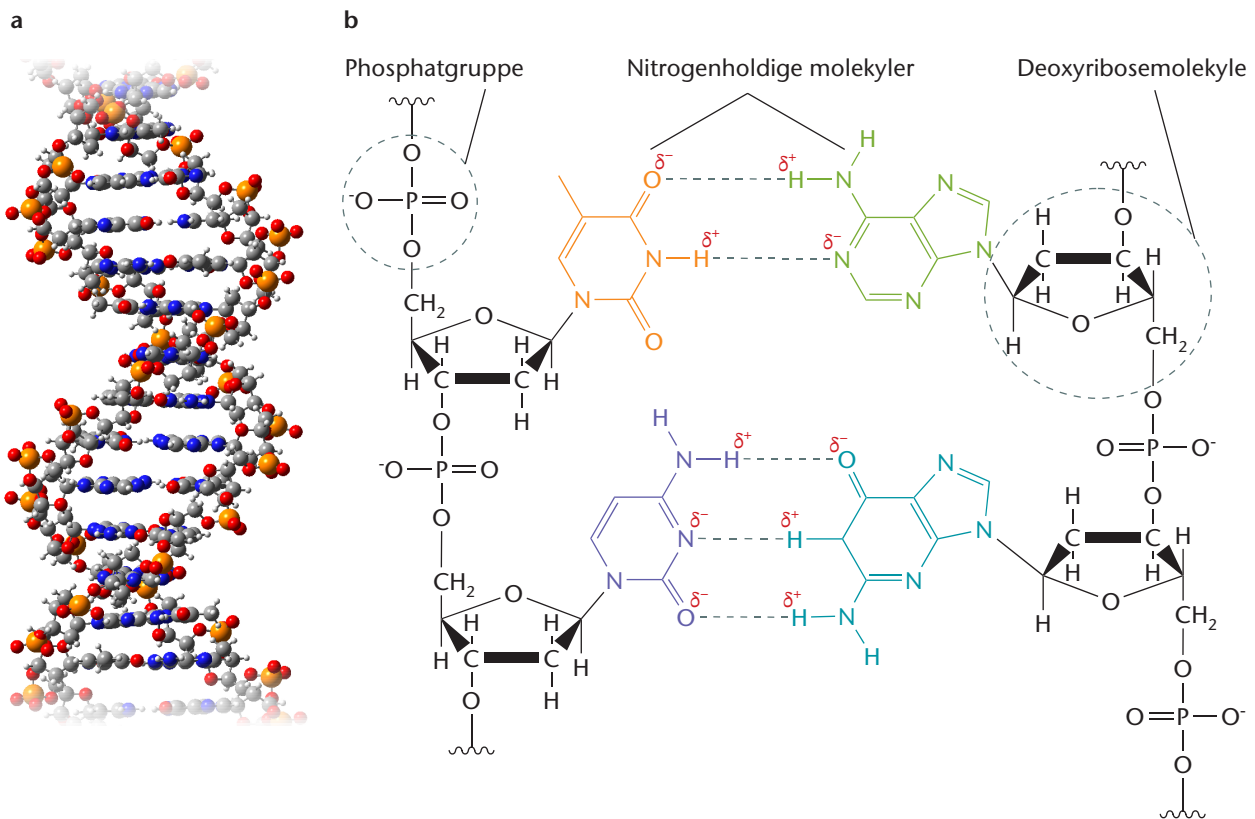




Oprensning af DNA

DNA er store makromolekyler der befinder sig i cellekernen af levende organismers celler, hvor der er et hydrofilt miljø. Her fungerer molekylerne som arvemateriale. Figur 1 viser strukturen af DNA.



Figur 1. a. Molekylmodel af et udsnit af DNA. b. Detaljer af DNA's opbygning.

Som det fremgår af figur 1.b så indeholder DNA-molekyler hydrofile phosphatgrupper på deres yderside, hvilket forklarer DNA's opløselighed i vand. Denne opløselighed kan udnyttes i forbindelse med oprensning af molekylet.

I eksperimentet er formålet at oprense DNA fra kiwifrugter. Det sker gennem forskellige trin der frasorterer andre stoffer og strukturer i kiwien. Her udnyttes at stoffer har forskellig opløselighed i forskellige opløsningsmidler, og at opløseligheden og strukturen af et stof også afhænger af temperaturen.

Eksperimentet fotograferes undervejs for at dokumentere de forskellige oprensningstrin.

Forarbejde

Formuler med egne ord formålet med forsøget.



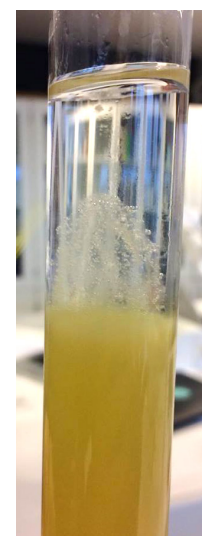
Materialer

- Kiwifrugter, ca. 100 g pr. gruppe
- Opvaskemiddel (ikke koncentreret, ellers må der fortyndes så mængderne svarer til et ukoncentreret produkt)
- NaCl (s) (husholdningsudgave er tilstrækkelig)
- Protease, fx neutrase fra Novozymes
- Iskold ethanol (93 % eller 96 %) direkte fra fryseren
- Demineraliseret vand
- Urteknive
- Skærebrætter
- 10 mL måleglas
- 250 mL bægerglas
- Glasspatler
- Engangspipetter
- 100 mL reagensglas + stativ
- Tragte
- Ostelærred + sakse
- Blender(e)
- Vandbad eller ovn 60 °C (temperaturen skal passe ved forsøgets start)
- Isbad (isterninger i koldt vand)



Fremgangsmåde

1. Gør et isbad klar.
2. Skær 100 g skrælet kiwifrugt i små stykker, ca. 0,5-1 cm på hvert led.
3. Opløs 3 g NaCl i 100 mL demineraliseret vand i et 250 mL bægerglas.
4. Tilsæt 10 mL opvaskemiddel.
5. Tilsæt kiwistykkerne og bland med ske eller spatel.
6. Sæt kiwi-blandingen i vandbad eller ovn ved 60 °C i præcis 15 minutter. Rør evt. i blandingen et par gange undervejs. Det er smart at klassen koordinerer brug af vandbad/ovn, da der senere skal deles om blendere.
7. Sæt kiwi-blandingen i isbad i 3 minutter.
8. Flere (evt. alle) grupper hælder nu deres kiwi-blanding i blenderen, og blender ved høj hastighed i 5 sekunder.
9. Det blendede materiale fordeles igen mellem grupperne i deres bægerglas.
10. Hver gruppe fører en tragt med 1-2 lag ostelærred, og filtrerer deres kiwiblend ved at lade det dryppe ned i et stort reagensglas.
11. Der filtreres indtil der er opnået mindst 20 mL kiwifiltrat.
12. Tilsæt derefter 1 dråbe protease pr. 2 mL filtrat og omrør med spatel/ske.
13. NU KOMMER DET SVÆRESTE PUNKT. Hold reagensglasset skråt og lad iskold ethanol løbe langsomt, uafbrudt men forsigtigt ned langs reagensglassets inderside så ethanolen lægger sig som en fase oven på kiwifiltratet. Brug maks. det samme volumen ethanol som der er kiwifiltrat.
14. Vend forsigtigt reagensglasset lodret, og lad det stå helt stille i 2 minutter. DNA skulle gerne stige op i ethanollaget som en luftig hvid sky, se figur 2.



Figur 2. DNA der stiger op som en luftholdig sky i ethanolfasen.



Efterbehandling

1. Forklar hvorfor kiwien skæres i mindre stykker.
2. Er NaCl et hydrofilt eller et hydrofobt stof, når det kan opløses i vand, som det sker i trin 3? Begrund dit svar.
3. Forklar hvilken funktion opvaskemidlet der tilsættes i punkt 4 har. (Tænk på hvilke stoffer cellemembraner består af.)
4. Opvarmning og hurtig afkøling i punkt 6 og 7 har til formål at ødelægge stoffer (enzymer) der nedbryder DNA, samt gøre membraner i cellen utætte ved at forstyrre London-kræfter mellem de hydrofobe phospholipider. Forklar hvorfor det kan medvirke til at frigøre DNA fra cellen.
5. Forklar hvad der opnås ved at blende og filtrere kiwisaften. Hvor forventes DNA fx at befinde sig?
6. I punkt 12 tilsættes en protease, som er et stof der har til formål at ødelægge varmestabile enzymer. Dernæst tilsættes iskoldt ethanol. Forklar hvorfor det er muligt at holde vand og ethanol adskilt i to faser.
7. Forklar hvordan det ses, at DNA er mere opløseligt i vand end i iskoldt ethanol.
8. Hvad fortæller denne observation om betydningen af temperatur og polaritet for et stofs opløselighed?
9. Lav en konklusion, hvor der tages stilling til om eksperimentets formål er opfyldt.