
Biotechnology Explorer™

Genes in a Bottle Kit DNA Extraction Module Lav et halssmykke med dit eget DNA

Katalognr.: 166-2000EDU

Dertil kan man købe ekstradele, hvis der skal laves halskæder til eleverne. (Katalognr.: 166-2200EDU)

explorer.bio-rad.com

Se opbevaringstemperatur på de enkelte dele

Kopiering af enhver del af dette dokument er kun tilladt til undervisningsbrug

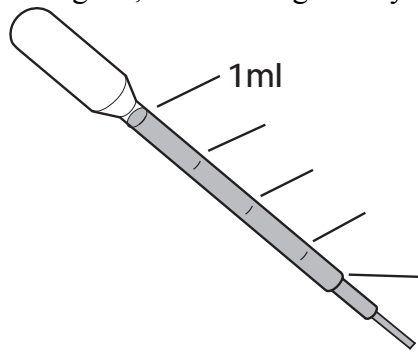


DNA ekstraktion og udfældning

Lærerens forberedelse

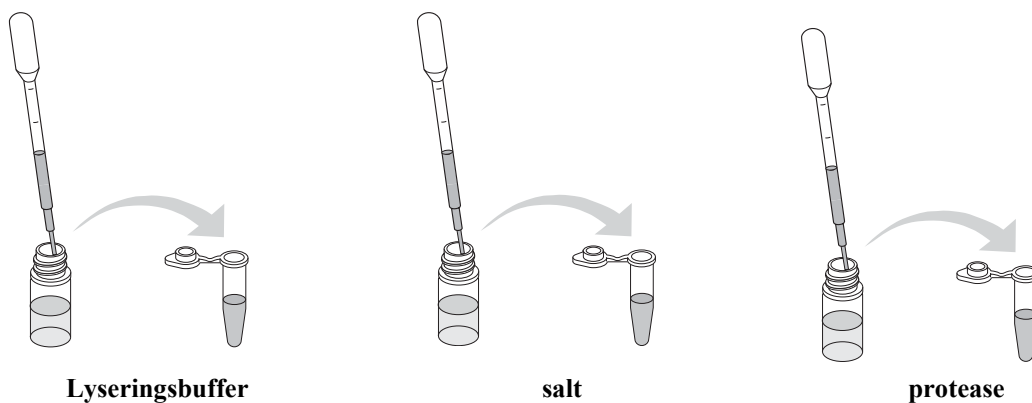
Pipetterne

Kittet indeholder plastikpipetter med inddelinger. På tegningen nedenfor ses, hvor inddelingerne er. Hvis man har mikropipetter til rådighed, kan disse også benyttes.



Før forsøget.

- Stil isopropanolen eller ethanolen i fryseren senest 1 time før timens start.
- Tilsæt 1,25mL sterilt vand til den lille flaske med protease for at fortynde proteasen. Vend flasken 5 gange for at blande vandet og proteasen.
- Når proteasen er fortyndet, kan den opbevares i køleskab (ved 4°C) i op til 2 måneder
Afpipetter de forskellige opløsninger og fortyndinger:
 - Afpipetter 1mL lyseringsbuffer i det antal klare eppendorfrør, som der er elever i klassen.
 - Afpipetter 500µL 5 M NaCl i 8 pink eppendorfrør og mærk disse rør "salt".
 - Afpipetter 250µL af den fortyndede protease i 8 blå eppendorfrør og mærk røret "prot"
 - Fordel 4 klare eppendorfrør med lyseringsbuffer, 1 pink eppendorfrør mærket "salt" samt 1 blå eppendorfrør mærket "prot" til hver gruppe.
 - Klip et lille stykke parafilm ud til hver elev.



Materialer

Fælles:

Vandbad 50°C

Iskold 90 % isopropanol eller 95 % ethanol

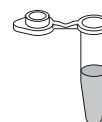
Pr. gruppe (her med 4 elever i hver):

Klare eppendorfrør med lyseringsbuffer	4
Blåt eppendorfrør med protease	1
Pink eppendorfrør med salt	1
Gennemsigtigt skruelågseppendorfrør	4
Forskellige farvede skruelåg til ovenstående	4
Cellebørste	8
5 mL rundbundet reagensglas	4
Parafilm (et stykke pr. elev)	4
Engangsplastikpipetter	4
Skumplastholder e.l. til eppendorfrørene	1
Tusch	1
Bøtte til affald	1

Bemærk: Det er vigtigt, at der skrubes rigeligt med materiale fra kinden, så der er celler nok.

Fremgangsmåde:

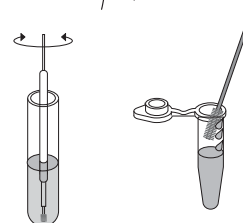
1. Tag dit eget klare eppendorfrør med 1 mL lysisbuffer i og mærk det med dit navn



2. Skrab forsigtigt, men grundigt i 1 minut med børsten på indersiden af din ene kind. Prøv at få fat i så meget cellemateriale som muligt



3. Før børsten ned i eppendorfrøret med lyseringsbuffer. Sno rundt så cellerne kommer ud i bufferen. Skrab til sidst børsten af på rørets kant, så du er sikker på, at alt er kommet af.



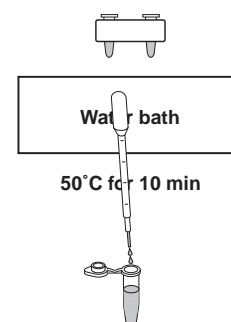
4. Gentag punkt 2 og 3, men nu på indersiden af den anden kind.

5. Luk eppendorfrøret og vend det roligt op og ned 5 gange for at blande

6. Med en plastpipette overføres 1 dråbe fra det blå eppendorfrør mærket "prot". Luk røret og vend det i roligt tempo op og ned 5 gange for at blande.

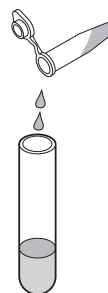


7. Stil gruppens eppendorfrør med kindskrabsceller i en skumplastholder og stil det i vandbadet i 10 minutter. Tag holderen med rørene op af vandbadet.

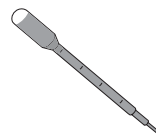


8. Tag en ny plastikpipette og overfør 2 dråber saltopløsning fra det pink rør til røret. Vend røret op og ned 5 gange for at blande.

9. Tag et 5mL rundbundet reagensglas og mærk det med dit navn. Hæld indholdet af dit eppendorfrør over i det rundbundede reagensglas.



10. Tag en ny plastikpipette og fyld den med kold alkohol



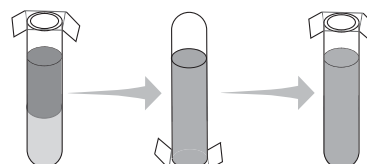
11. Hold det rundbundede reagensglas skævt, mens du forsigtigt tilsætter alkoholen ved lade den glide ned langs indersiden af røret.



12. Rejs røret op til lodret og lad det stå helt stille i 5 minutter

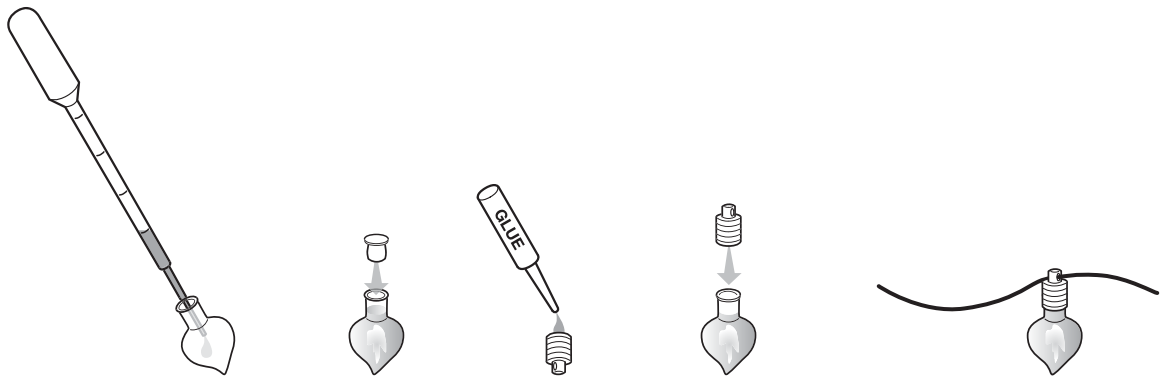


13. Forsegl reagensglasset med parafilm og vend det langsomt op og ned 5 gange, for at få DNA'et, som nu er begyndt at udfælde, til at klumpe sig sammen.



Lav dit eget halssmykke:

14. Overfør forsigtigt det udfældede DNA sammen med ca 750 μ L af alkoholen til den lille hjerteformede glasampul. Luk ampullen, lim sølvtoppen på, sæt lædersnøren i og dit eget DNA-smykke er nu færdigt!



Hvis der ikke laves halssmykker gemmes kan hver elev få et skruelågseppendorfrør og gemmes deres DNA heri.