

Elisabeth Strömberg  
Zoologiska Institutionen, Göteborgs universitet

## DNA ur kaviar

### Enkel extraktion av DNA ur kaviar

#### Syfte

Denna enkla laboration visar hur man kan rena fram DNA från kaviar, dvs från fiskägg. Det är ett mycket förenklat recept på DNA-extraktion och ger inte heller något rent DNA, utan det är förorenat med bl a fett, kolhydrater och proteiner. Man får ett resultat som är klumpformat, men har trådstruktur. En del av denna trådstruktur utgörs av DNA.

#### Utrustning och material

##### Behov per grupp eller person

- 20–30 g kaviar t. ex., rom från lodda (*Mallotus villosus*) eller sjurygg (*Cyclopterus lumpus*): Sådan rom säljs under varunamnet *Abba*®. Den gula eller 'naturliga' fungerar bäst.
- 15 ml diskmedel t. ex., *YES*, spädd 1:10 med avjoniserat vatten
- 1 tesked (ca 6 g) salt
- 2 ml T-sprit (eller minst 80% etanol). Denna måste vara iskall och förvaras därför i en frys innan användningen. *Se säkerhetsföreskrifter nedan.*
- 3–4 droppar proteinas, t. ex., *Novozymes Neutrase*®
- Glasstav
- Kaffefilter
- Tratt
- Provrör
- Pasteurpipett med böjd spets
- Eppendorfrör (1.5 ml), till att förvara DNA

KORRESPONDANS TILL  
Elisabeth Strömberg  
Zoologiska Institutionen,  
Göteborgs universitet, Box 463,  
405 30 Göteborg  
Sverige.  
[elisabeth.stromberg@zool.gu.se](mailto:elisabeth.stromberg@zool.gu.se)



### Tillvägagångssätt

- 1 Mosa kaviar och salt i en mortel med hjälp av en mortelstöt. *Romkornens väggar skall göras sönder. Salt fäller ut proteiner.*
- 2 Tillsätt därefter diskmedlet. Diskmedlet skall täcka kaviaren. *Diskmedlet löser ut fett ur romkornens väggar.*
- 3 Tillsätt 3–4 droppar proteinas och rör om ordentligt. *Enzymet bryter delvis ner lösliga proteiner.*

Fig. 1

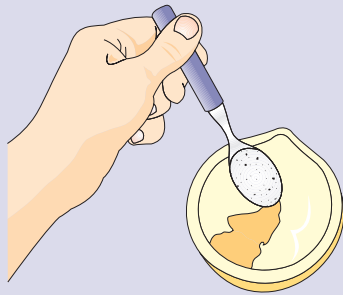
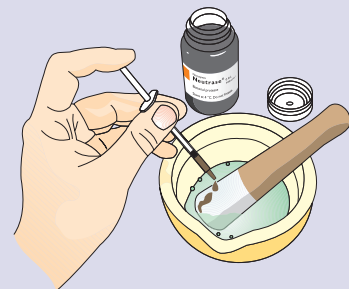


Fig. 2



Fig. 3



- 4 Filtrera blandningen genom ett kaffefilter och samla upp filtratet (= det som runnit genom kaffefiltret) i ett väl rengjort provrör.
- 5 Tillsätt försiktigt iskall T-sprit längst rörets vägg eller till botten av röret, med hjälp av en pipett. *DNA faller ut i kall T-sprit, som långa trådar. Dessa lägger sig då i gränsskiktet mellan diskmedel-lösningen och T-spriten.*
- 6 DNA nystas upp med en glasstav, en böjd pipettspets, en virknål eller en träpinne. *DNA kan föras över till provrör eller Eppendorf-rör och frysas för senare användning (t. ex., att sätta på en gel för att utföra gelelektrofores och färgning av DNA).*

Fig. 4

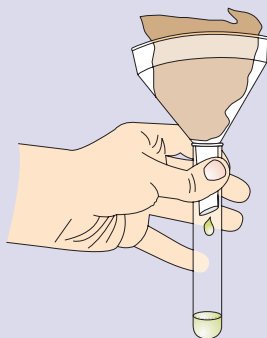
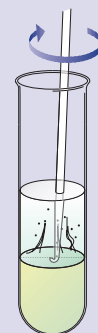


Fig. 5



Fig. 6



## Säkerhet

### Etanol i frys

De flesta frysar är inte flamsäkra. Av denna anledning *måste* man försäkra sig om att etanol eller T-sprit, som förvaras i frys är ordentligt tillsluten. Ett alternativ till att förvara etanolen i en frys, är att låta den tillslutna flaskan stå på is i flera timmar innan användandet.

## Preparation

T-spriten eller etanolen måste vara ordentligt kyld innan användningen.

## Tidsåtgång

Ca 1 timme.

## Felsökning

Många handdiskmedel fungerar inte. De löser ut fett ur cellmembraner alltför dåligt, så att DNA inte friläggs. Vi har funnit att YES är ett diskmedel som fungerar.

Utan proteinas blir också resultatet sämre, eftersom mycket protein är kvar som förorening.

Typ av kaviar har betydelse; den gula ('naturliga') typen fungerar bra. Kaviar som köps i tub, fungerar inte, eftersom rommen (=fiskäggen) är blandade med andra ingredienser och dessutom för små för att malas sönder ordentligt. Det är viktigt att mala sönder rommen ordentligt så att äggmembranerna slits itu.

## Förslag på ytterligare undersökningar

För att göra elektrofores på DNA-extraktet, löses lite av det i ca 0,5 ml bromfenolblått som används som 'loading dye'. Tillsätt ca 20 µl av lösningen i en brunn i en 1% agarosgel. Färgning med Azur A lösning efter elektroforesen visar att nukleinsyror finns med i extraktet. (RNA ger en ljusare skär färg än DNA) [1].

Receptet kan användas med andra livsmedel, t. ex. mjölke från fisk, bräss från kalv eller frukter och grönsaker, som ärter och lök [2]. Mjölke och bräss är det som lättast ger goda resultat, men det kan vara svårt att få tag på. Vill man göra en renare extraktion fordras andra lösningsmedel och centrifugering. Det har förekommit recept på extraktion av DNA från en del frukter som jordgubbar och kiwi. Det har visat sig att det är pektin som har extraherats och inte DNA.



### VIKTIGT!

Efter utbrotten av BSE och vCJD i England har man rekommenderat att inte använda kalvtymus vid skollaborationer i England, eftersom man är rädd för att det finns en minimal smittorisk, när extraktet prepareras fram.

## Inköpsställen

Det mesta material som behövs för denna laboration kan köpas i en vanlig livsmedelaffär.

*Novozymes Neutrase®* kan köpas från *National Centre for Biotechnology Education, UK* (<http://www.ncbe.reading.ac.uk>).

En krok på en pasteurpipett får man genom att värma spetsen i en gaslåga och böja den.

## Referenser

- 1 *Illuminating DNA* by Dean Madden (2000) Reading: National Centre for Biotechnology Education. ISBN: 0 7049 1370 4.  
*Denna praktiska handledning kan laddas ned från:*  
<http://www.ncbe.reading.ac.uk>
- 2 *Investigating plant DNA* by Dean Madden [Ed.] (1995) Reading: National Centre for Biotechnology Education.  
*Detta är en handledning från ett NCBE-kit, som förklarar hur man kan extrahera DNA från många olika växtvävnader och hur man sedan kan köra det på en elektrofores gel. Denna kan nedladdas från: <http://www.ncbe.reading.ac.uk>*

## Ytterligare läsning

Millar, R. (1996) DNA from bacterial cells *SSERC Bulletin* 189, 6–8.  
*Denna artikel beskriver extraktion av DNA från bakterier i mikroskala, som ett alternativ till Gram test.*

