

DNA-oprensning

Kenneth Buchwald Johansen

10. september 2008

1 Metoder

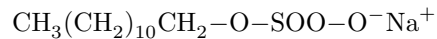
Hurtigmetoder: Søjlekits/spinsøjle (ionbytning eller gelfiltrering, M. s. 295). Hurtige metoder og fenol/chloroform undgå. (forholdsvis dyre, men hurtigheden betyder mere). Der findes også kits til plasmidoprensning, til total DNA osv.

“Håndoprensning”: Forskellige metoder alt efter, om man vil isolere plasmider, total DNA (indeholder både plasmider og kromosomal DNA) eller kromosomal DNA.

Ødelæggelse af

cellevæg: lysozym (ødelægger murein), KOH + SDS (+ muligvis opvarmning)

cellemembran: SDS (sodiumdodecylsulfate = natriumlaurylsulfat,



(findes i sæber).

2 Beregninger

2.1 Renhed

$$\frac{A_{260}}{A_{280}} = \frac{0,75}{0,39} = 1,92 \geq 1,8,$$

dvs. rent DNA mht. protein- og fenol-forurening.

2.2 Grad af denaturering

$$\text{Hyperchromt skift} = \frac{(0,89 - 0,75)}{0,89} \cdot 100\% = 15\%,$$

dvs. delvist denatureret DNA (eller RNA-forurening).

2.3 Koncentration

Her vælges en passende c (dsDNA eller ssDNA).

$$A_{260} = c \cdot k \cdot l \Rightarrow A_{260} = c_{\text{dsDNA}} \cdot 20$$

$$\begin{aligned} A_{260} &= c_{\text{ssDNA}} \cdot 33 \text{ mg/mL} \\ \Rightarrow c &= A \cdot 50 \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$