

HVEM ER MORDEREN ?

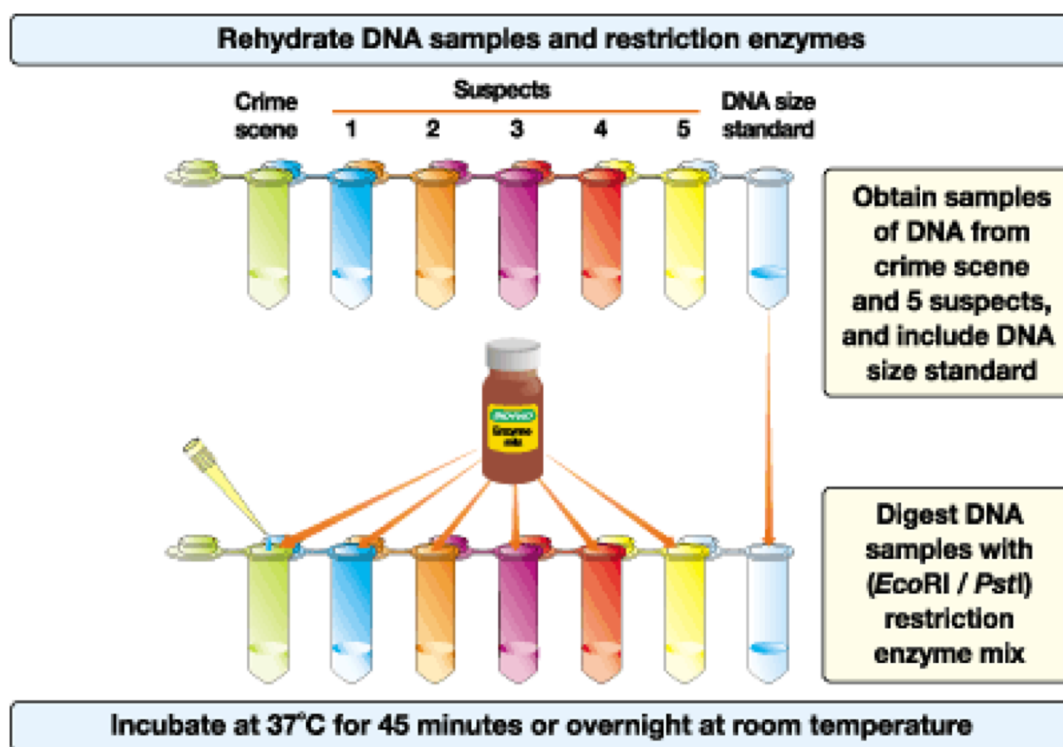
LØS GÅDEN VED HJÆLP AF DNA FINGERPRINTING.

Denne øvelse er baseret på øvelseskittet: *DNA Fingerprinting* fra firmaet Bio-Rad Laboratories. Øvelsen er en meget simplificeret model for en retsgenetisk DNA-metode til at identificere en et individ ud fra en større population.

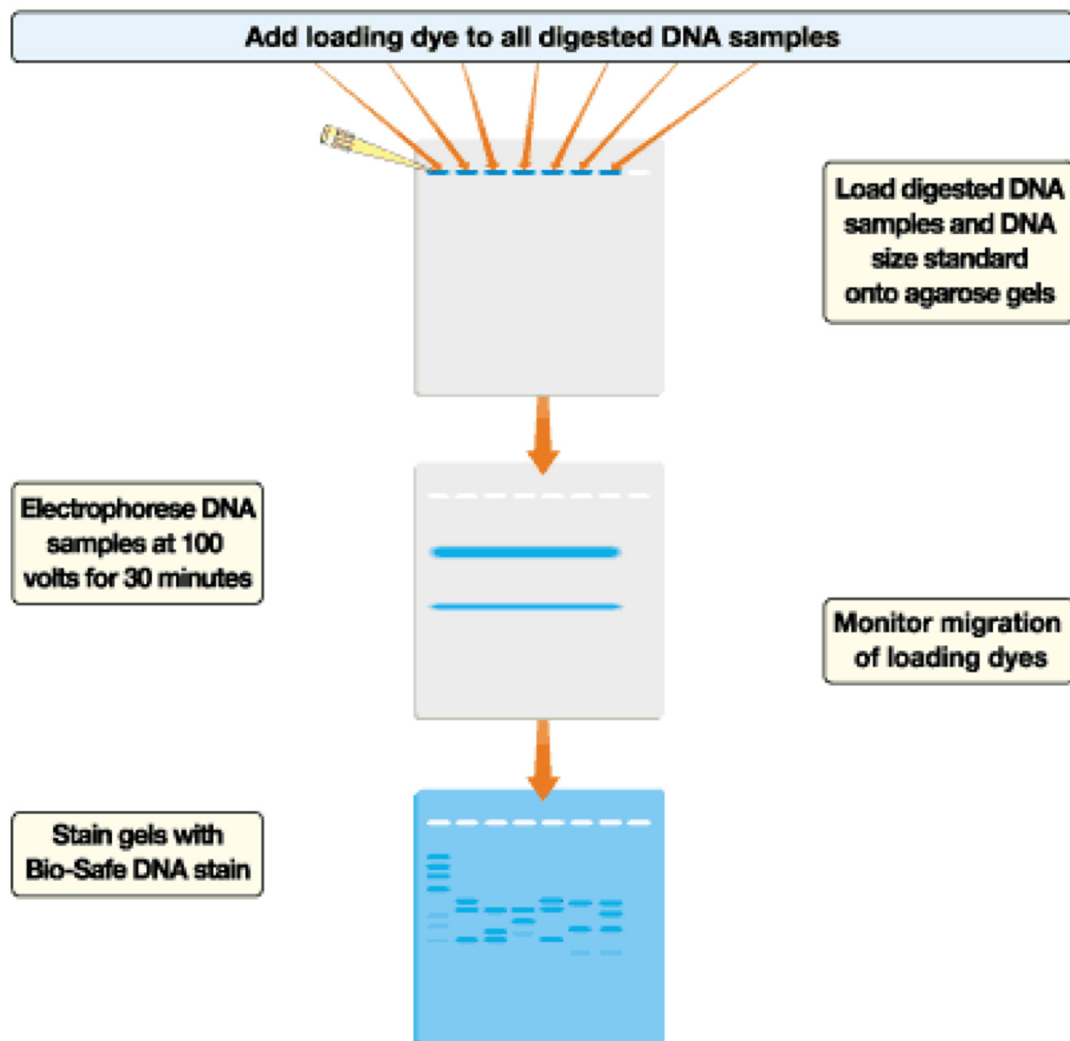
Øvelsen lægger op til en gennemgang af DNAs struktur, kemi, opbygning og funktion. Endvidere er øvelsen relevant i forbindelse med enzymer, separationsmetoder, elektroforese, visualisering og bioteknologiske metoder generelt.

Øvelsen består af 3 trin:

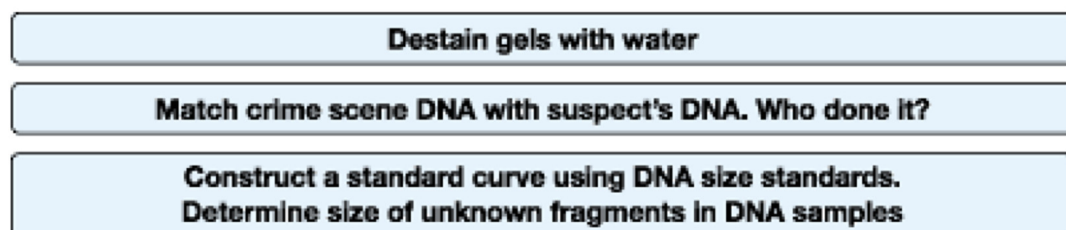
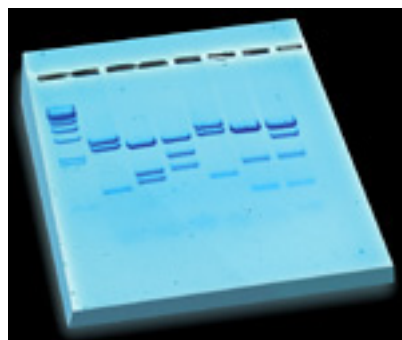
1. Forberedelse af DNA og skæring med restriktionsenzym



2. Støbning af agarosegel, DNA forberedelse og påsætning på gelen, gelelektroforese og farvning



3. Affarvning og analyse af gelen



FORSØGSVEJLEDNING

Materialer:

DNA Fingerprinting Kit, Bio-Rad Laboratories 166-0007EDU
Gelelektroforeseapparat med strømforsyning (100V/100mA)
Micropipetter med spidser

Herudover eventuelt:

Centrifuge til microcentrifugerør
Vandbad
Microbølgeoven

Protocol:

Forberedelse af DNA og skæring med restriktionsenzym

1. Røret med restriktionsenzym anbringes i et isbad
2. Mærk én af hver af de farvede microcentrifugerør (E-rør):

Grøn:	P	=	prøve fra gerningsstedet
Blå:	M1	=	mistænkt nummer 1
Orange:	M2	=	mistænkt nummer 2
Violet:	M3	=	mistænkt nummer 3
Rød:	M4	=	mistænkt nummer 4
Gul:	M5	=	mistænkt nummer 5
3. Mærk endvidere rørene med navn og dato, placer rørene i et skumplast stativ
4. Overfør 10 μ L af hver DNA stamopløsning til de korresponderende farvede E-rør, brug en ny spids hver gang, og placer dråben på bunden af røret.
5. Tilsæt 10 μ L restriktionsenzym til hvert rør, husk en ny spids hver gang.
6. Luk rørene og bland indholdet ved at knipse let til bunden af røret. Blandingen i røret kan nu samles i bunden af røret ved centrifugering eller ved at banke røret let mod bordoverfladen.
7. Placer rørene i i skumplaststativet og inkuber prøverne 45 min. i 37°C varmt vandbad eller natten over ved stuetemperatur
8. Herefter kan prøverne opbevares på is eller i køleskab.

Støbning af agarosegel, DNA forberedelse og påsætning på gelen, gelelektroforese og farvning

1. Efter restriktionsskæring af de 6 DNA-prøver samles rørenes indhold på bunden af rørene ved centrifugering eller ved at banke røret let mod bordoverfladen.

2. Tilsæt 5 μ L farveblanding (LD) til hvert rør, husk ny spids hver gang.
3. Luk rørene, bland og saml prøven på rørets bund som før.
4. Støb en 1% agarosegel og gør elektroforesekarret klar (se [Agarose-gelelektroforese: Adskillelse af DNA-fragmenter](#))
5. Overfør nedenstående volumner af DNA-prøverne til hver sin brønd i gelen, husk en ny spids til hver prøve.

Brønd 1:	M,	DNA størrelsesmarkør,	10 μ L
Brønd 2:	P,	grøn,	20 μ L
Brønd 3:	M1,	blå,	20 μ L
Brønd 4:	M2,	orange,	20 μ L
Brønd 5:	M3,	violet,	20 μ L
Brønd 6:	M4,	rød,	20 μ L
Brønd 7:	M5,	gul,	20 μ L

6. Sæt låget på elektroforesekarret og forbind ledningerne til strømforsyningen.
7. Tænd for strømforsyningen og køр elektroforesen 30 min ved 100 V
8. Når den blå farvestribe er nået enden af gelen sluk for strømforsyningen og tag låget af elektroforeseapparatet. Tag forsigtigt gelbakken med gelen op og overfør gelen til et farve kar.
9. Hæld farve over gelen til gelen er dækket. Læg låg på farvekarret. Gelen skal farve 2 min.

Herefter analyse af resultatet

1. Hæld gelfarven i en flaske, den kan genbruges. Flyt gelen til et større vaskekar, vask med 40 – 55°C vandhanevand i 10 sek. Affarv to gange 5 min med varm vandhanevand under omrystning.
2. Hæld vandet væk og opmål din gel. Gelerne kan fotograferes eller tørres.