

Απομόνωση DNA από φυτικά κύτταρα με απλά υλικά

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Όλα τα έμβια όντα διαβιβάζουν πληροφορίες από τη μία γενιά στην άλλη χρησιμοποιώντας το ίδιο βασικό υλικό, το DNA, που βρίσκεται μέσα σε κάθε κύτταρό τους. Οι πληροφορίες του DNA καθορίζουν την ανάπτυξη και τις λειτουργίες των οργανισμών και ελέγχουν πολλά από τα χαρακτηριστικά που κάνουν τον κάθε οργανισμό μοναδικό. Αυτές οι πληροφορίες βρίσκονται σε τμήματα του DNA που ονομάζονται γονίδια. Συνήθως, όταν τα γονίδια εκφράζονται οδηγούν στην παραγωγή πρωτεϊνών, που πραγματοποιούν όλες τις λειτουργίες του οργανισμού, ενώ άλλα τμήματα του DNA (που δεν είναι γονίδια) ελέγχουν πότε θα ενεργοποιηθούν ή θα απενεργοποιηθούν τα γονίδια.

Τα μόρια του DNA βρίσκονται πακεταρισμένα μέσα σε κάθε κύτταρο του οργανισμού, οπότε είναι αδύνατο να τα δει κανείς ή να τα αγγίξει, σωστά; Λοιπόν, αυτό δεν ισχύει εξ ολοκλήρου. Επειδή το DNA βρίσκεται σε κάθε κύτταρο, υπάρχει μεγάλη ποσότητα από αυτό συνολικά σε έναν οργανισμό. Εάν πάρετε όλο το DNA από ορισμένους οργανισμούς (ή από ένα μέρος ενός οργανισμού, όπως ένα κομμάτι φρούτου), θα μπορέσετε να δείτε, ακόμη και να αγγίξετε το DNA!

Σε αυτή την εργαστηριακή άσκηση θα χρησιμοποιήσετε κοινά οικιακά προϊόντα για να διαλύσετε τα κύτταρα σε μια μπανάνα και να εξάγετε το DNA. Παρόλο που μπορεί να γνωρίζετε ότι το DNA έχει τη δομή της διπλής έλικας, ασφαλώς δεν μπορείτε να δείτε αυτή τη δομή με γυμνό μάτι. Ας δούμε λοιπόν πώς μοιάζει το DNA, όταν το βλέπει κανείς χωρίς μικροσκόπιο υψηλής ισχύος...



ΜΑΘΗΣΙΑΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Μετά το τέλος της άσκησης θα μπορείτε να διαπιστώσετε ότι:

- Τα βασικά χημικά συστατικά οικιακής χρήσης (άλατα και απορρυπαντικά) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάσπαση των κυττάρων και των κυτταρικών μερών και την προσκόλληση συστατικών μεταξύ τους.
- Τα μικρά μόρια, όπως το DNA, μπορούν να γίνουν ορατά μακροσκοπικά μέσω της συσσωμάτωσής τους.

B. ΥΛΙΚΑ & ΣΚΕΥΗ

- ✓ μπανάνα
- ✓ ζεστό νερό
- ✓ μαγειρικό αλάτι
- ✓ απορρυπαντικό πιάτων
- ✓ χυμός ανανά ή διάλυμα καθαρισμού φακών επαφής
- ✓ παγωμένη αιθανόλη (προτιμήστε μπλε φωτιστικό οινόπνευμα για καλύτερο οπτικό αποτέλεσμα)
- ✓ κουταλάκι
- ✓ 2 διάφανα ποτήρια,
- ✓ 1 χάρτινο φίλτρο του καφέ
- ✓ κουταλάκι
- ✓ ξύλινο καλαμάκι
- ✓ πλαστική σακούλα με αεροστεγές κλείσιμο



Γ. ΜΕΘΟΔΟΣ

1. Βάλτε στη σακούλα $\frac{1}{2}$ μπανάνα (ξεφλουδισμένη) και πιέστε την μέχρι να τη λιώσετε για περίπου 1 λεπτό.
2. Σε $\frac{1}{2}$ φλιτζάνι με ζεστό νερό προσθέστε $\frac{1}{2}$ κουταλάκι αλάτι και ανακατέψτε καλά μέχρι να διαλυθεί.
3. Ρίξτε το αλατόνερο στη σακούλα με τη μπανάνα, κλείστε την και πιέστε απαλά για 30 έως 45 δευτερόλεπτα, μέχρι να αναμιχθούν καλά τα συστατικά.
4. Προσθέστε $\frac{1}{2}$ κουταλάκι απορρυπαντικό πιάτων και ανακατέψτε ήπια το περιεχόμενο, ώστε να αποφύγετε την παραγωγή υπερβολικού αφρού. Περιμένετε για 2 λεπτά.
5. Στερεώστε ένα χωνί πάνω σε ένα διαφανές ποτήρι, τοποθετήστε το φίλτρο του καφέ μέσα στο χωνί και αδειάστε προσεκτικά το περιεχόμενο της σακούλας. Περιμένετε να διηθηθεί όλο το υγρό μέσα στο κύπελλο.

! Αν δεν έχετε χωνί, μπορείτε να στερεώσετε το πάνω μέρος του φίλτρου γύρω από το χείλος του κυπέλλου και να ρίχνετε το μείγμα στο φίλτρο λίγο κάθε φορά, για να αποφύγετε την καταστροφή του φίλτρου.

6. Αφαιρέστε το χωνί, προσθέστε μερικές σταγόνες χυμό ανανά (ή διάλυμα φακών επαφής) και αναδεύστε.
7. Γείρετε το ποτήρι και προσθέστε αργά κρύα αλκοόλη φροντίζοντας η ροή να είναι στα τοιχώματα του κυπέλλου. Η αιθανόλη πρέπει να σχηματίζει ένα στρώμα πάχους 2,5 - 5cm πάνω από το μείγμα της μπανάνας, παραμένοντας ξεχωριστά, οπότε προσέξτε να μην τη ρίξετε πολύ γρήγορα και αναμιχθούν τα δύο υγρά.

8. Αφήστε το μίγμα σε ηρεμία για μερικά λεπτά. Στο στρώμα της αιθανόλης θα παρατηρήσετε αρχικά τη δημιουργία φυσαλίδων. Σε λίγα λεπτά μέσα στην αιθανόλη αναδύονται τα νουκλεϊκά οξέα, τα οποία γίνονται ορατά σαν ένα νεφέλωμα ή ακόμη και με τη μορφή λευκών ινών.
9. Χρησιμοποιείτε το καλαμάκι για να σπρώξετε τα «θολά υλικά» που βλέπετε στο στρώμα της αιθανόλης και με περιστροφικές κινήσεις προσπαθήστε να τα μαζέψετε. Όταν τελειώσετε, ρίξτε μια πιο προσεκτική ματιά στο υλικό που συλλέξατε. Αυτό που βλέπετε είναι το DNA!
10. Τώρα που τα καταφέρατε μπορείτε να επαναλάβετε το πείραμα και με άλλα υλικά που περιέχουν DNA, όπως φράουλες, ακτινίδια, φάβα κλπ.



ΤΙ ΑΚΡΙΒΩΣ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ;

Το λιώσιμο της μπανάνας μπορεί να διαχωρίζει τα κύτταρα μεταξύ τους και να βοηθάει στην καταστροφή των κυτταρικών τοιχωμάτων, αλλά γιατί προσθέσαμε όλα τα υπόλοιπα υλικά; Και πώς μπήκαμε μέσα στα κύτταρα και «κολλήσαμε» όλο το DNA, ώστε να γίνει ορατό με γυμνό μάτι;

Ας δούμε το ρόλο των τεσσάρων συστατικών που χρησιμοποιήσαμε:

1. **Αλάτι** - Οι μπανάνες πολτοποιήθηκαν με αλατόνερο πριν προστεθεί οτιδήποτε άλλο. Αυτό το βήμα εφαρμόζεται πριν την προσθήκη του απορρυπαντικού πιάτων. Όταν το απορρυπαντικό προστεθεί στη συνέχεια θα απελευθερώσει το DNA και αυτό το αλάτι θα βοηθήσει να κολλήσουν μεταξύ τους τα τμήματα του DNA δημιουργώντας συσσωματώματα, αρκετά μεγάλα ώστε να μπορείτε να τα δείτε μακροσκοπικά.
2. **Απορρυπαντικό πιάτων** - Το απορρυπαντικό πιάτων μπορεί να διαλύσει έναν τύπο μορίων που ονομάζονται λιπίδια (θυμηθείτε τα λίπη και τα έλαια). Τα μόρια που δημιουργούν τις μεμβράνες γύρω από τα κύτταρα και τον πυρήνα (μέσα στον οποίο περιέχεται το DNA) είναι λιπίδια. Έτσι, όταν προστίθεται απορρυπαντικό, η κυτταρική μεμβράνη και οι πυρήνες διασπώνται, απελευθερώνοντας το DNA.
3. **Χυμός ανανά** – Ο χυμός ανανά, όπως και το διάλυμα φακών επαφής, περιέχουν πρωτεάσες, δηλαδή ειδικά ένζυμα που διασπούν πρωτεΐνες. Το DNA στον πυρήνα τυλίγεται γύρω από πρωτεΐνες και συμπυκνώνεται σχηματίζοντας τα ινίδια χρωματίνης. Η πρωτεάση στον χυμό του ανανά (βρομελαΐνη) καταστρέφει τις πρωτεΐνες του DNA και διευκολύνει την απομόνωσή του.
4. **Αιθανόλη** – Τα μόρια του DNA είναι διαλυτά σε ορισμένα υγρά, αλλά όχι σε αλκοόλες. Η προσθήκη αιθανόλης βοηθά στη δημιουργία συσσωματωμάτων DNA και έτσι είναι πιο εύκολο να γίνει ορατό και να το απομονώσουμε.



Δ. ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Σε ποιο σημείο του κυττάρου βρίσκεται το DNA και πως θα το φτάσουμε;

2. Γιατί φιλτράρουμε το μίγμα;

3. Πιστεύετε ότι κάποιο από τα συστατικά που χρησιμοποιούμε είναι πιο σημαντικό από τα άλλα; Γιατί;

4. Μπορούμε να παρατηρήσουμε με το μικροσκόπιο τα νουκλεϊκά οξέα που απομονώσαμε;

5. Ονομάστε πέντε υλικά που δεν έχουν DNA.

Ηλεκτρονικές πηγές:

https://askbiologist.asu.edu/sites/default/files/resources/activities/banana_dna/Extracting-DNA-from-Banana.pdf

file:///C:/Users/eleni/AppData/Local/Temp/02_chapter_05-2.pdf