

Απομόνωση DNA από ζωικά 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 εξαγάγετε DNA από τα επιθηλιακά σας κύτταρα. 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

- ✓ πλαστικά ποτήρια
- ✓ νερό
- ✓ μαγειρικό αλάτι
- ✓ απορρυπαντικό πιάτων
- ✓ χυμός ανανά ή διάλυμα καθαρισμού φακών επαφής
- ✓ παγωμένη αιθανόλη
- ✓ κουταλάκι
- ✓ ξύλινο καλαμάκι



Γ. ΜΕΘΟΔΟΣ

1. Βάλτε στο στόμα σας μια γουλιά νερό, κρατήστε το κάνοντας «μπουκώματα» για 1 λεπτό περίπου και μετά φτύστε το σε ένα καθαρό ποτήρι. Θα ήταν καλό να βοηθήσετε με τη γλώσσα, πιέζοντας σε διάφορα σημεία της στοματικής κοιλότητας, ώστε να αποκολληθούν περισσότερα κύτταρα από το επιθήλιο. Μέσα στο νερό υπάρχουν αρκετά επιθηλιακά κύτταρα από την στοματική σας κοιλότητα.
2. Σε ένα άλλο ποτήρι προσθέστε διαδοχικά $\frac{1}{4}$ κουταλιά αλάτι, $\frac{1}{4}$ της κούπας νερό, $\frac{1}{2}$ κουταλιά απορρυπαντικό πιάτων και ανακατέψτε το μίγμα με το καλαμάκι ήπια, για να μην δημιουργηθεί αφρός.
3. Αδειάστε το ποτήρι με το νερό και τα επιθηλιακά κύτταρα μέσα στο διάλυμα απορρυπαντικού, ανακατέψτε ήπια και περιμένετε για 2 λεπτά.
4. Προσθέστε μερικές σταγόνες χυμό ανανά, αναδέψτε και περιμένετε για 2 λεπτά.
5. Γείρετε το ποτήρι και προσθέστε αργά κρύα αλκοόλη φροντίζοντας η ροή να είναι στα τοιχώματα του κυπέλλου. Θέλετε η αιθανόλη να σχηματίσει ένα στρώμα πάνω από το διάλυμα των κυττάρων σας, παραμένοντας ξεχωριστά, οπότε προσέξτε να μην τη ρίξετε πολύ γρήγορα και αναμιχθούν τα δύο υγρά. Φτιάξτε ένα στρώμα αιθανόλης πάχους 2,5 - 5cm.
6. 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.
7. 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!

ΤΙ ΑΚΡΙΒΩΣ ΣΥΜΒΑΙΝΕΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ;

Ας δούμε όμως ποιος είναι ο ρόλος των τεσσάρων συστατικών που χρησιμοποιήσαμε για να εισέλθουμε μέσα στα κύτταρα και να «κολλήσουμε» όλο το DNA:

1. **Αλάτι** – 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 (σκεφτείτε λίπη και 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. Πιστεύετε ότι κάποιο από τα συστατικά που χρησιμοποιούμε είναι πιο σημαντικό από τα άλλα; Γιατί;

3. Μπορείτε να παρατηρήσετε με το μικροσκόπιο τα νουκλεϊκά οξέα που απομονώσατε;

4. Ονομάστε πέντε υλικά που δεν έχουν DNA.

**Ηλεκτρονικές πηγές:**

<https://www.bento.bio/protocol/biotechnology-101/dna-extraction-from-saliva/>

https://www.ox.ac.uk/sites/files/oxford/field/field_document/Biochemistry%20workshop%20presentation.pdf

<https://www.scitech.org.au/experiment/human-dna-extraction/>

<https://www.popsci.com/how-to-extract-your-own-dna/>