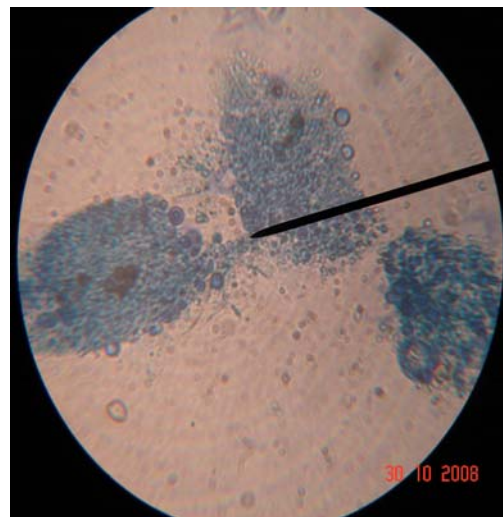
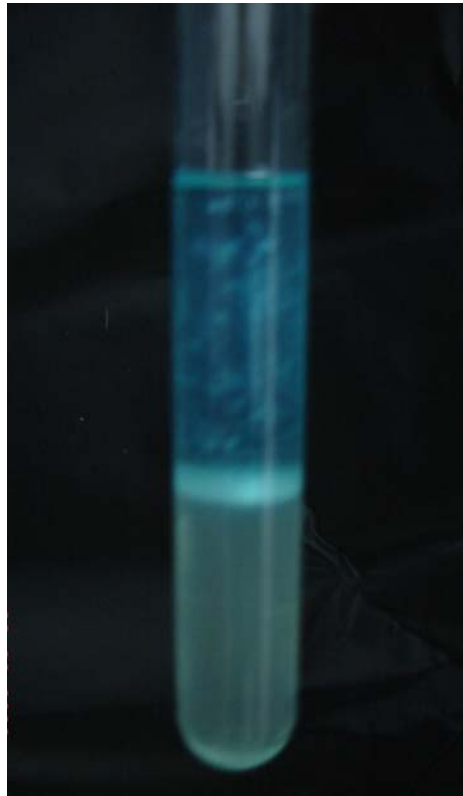




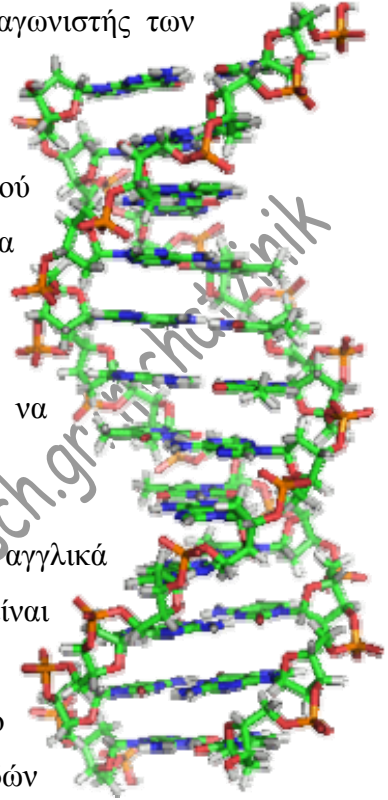
Απομόνωση των νουκλεϊκών οξέων από τα φυτικά κύτταρα



Εισαγωγή

Εδώ και μερικά χρόνια το DNA έχει γίνει ο πρωταγωνιστής των επιστημονικών περιοδικών και συχνά πολλών ειδήσεων που εμφανίζονται σε εφημερίδες και στην τηλεόραση. Αλλά τι είναι το DNA; Το DNA είναι ένα μόριο μεγάλου μοριακού βάρους που περιέχει τις πληροφορίες προκειμένου να λειτουργήσει ένας ζωντανός οργανισμός (φυτικός ή ζωικός ή και μικροοργανισμός). Τα κύτταρα χρησιμοποιούν συγκεκριμένα τμήματα του DNA δηλαδή τα γονίδια για να παράγουν τις πρωτεΐνες που έχουν ανάγκη.

Το DNA (Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ, στα αγγλικά desoxyribonucleic acid) είναι η ουσία, στην οποία είναι αποθηκευμένες όλες οι γενετικές πληροφορίες μας. Σε κάθε κύτταρο του σώματός μας υπάρχει ένα ολοκληρωμένο αντίγραφο του DNA. Αποτελείται, από μια διαδοχή θεμελιωδών στοιχείων τα νουκλεοτίδια. Στην περίπτωση του DNA όμως υπάρχουν μόνο 4: οι βάσεις αδενίνη, θυμίνη, κυτοσίνη και γουανίνη (Adenin, Thymin, Cytosin und Guanin), που εν συντομία ονομάζονται A, T, C και G. Με αυτά τα γράμματα γράφεται ο γενετικός κώδικας. Αυτά τα γράμματα ενώθηκαν σχηματίζοντας τεράστιες αλυσίδες DNA, τα χρωμοσώματα. Τα γράμματά δεν συνδυάζονται τυχαία. Σχηματίζουν μια «σειρά» λέξεων. Η κάθε «λέξη» αποτελείται από 3 γράμματα και αντιπροσωπεύει («κωδικοποιεί») ένα συγκεκριμένο αμινοξύ. Κάθε αμινοξύ κωδικοποιείται από τουλάχιστον μια «λέξη» με 3 γράμματα, άλλα από περισσότερα από ένα. Αυτό ονομάζεται γενετικός κώδικας.



Α₁. Απομόνωση των νουκλεϊκών οξέων από τα φυτικά κύτταρα

Υλικά – Συσκευασίες

Δοκιμαστικοί σωλήνες,
Στήριγμα δοκιμαστικών σωλήνων,
3 μικρά ποτήρια ζέσεως των 100ml,
2 μεγάλα ποτήρια ζέσεως των 1lt,
Τρίποδας με γκαζάκι,
Θερμόμετρο,
Σύριγγα των 5ml,
Γυάλινος αναδευτήρας,
Ευλάκι για σουβλάκια,
Ορθοστάτης,
3 γραμμάρια αλάτι,
Οινόπνευμα χρώματος ροζ ή μπλε,
Απορρυπαντικό για τα πιάτα,
Μπανάνα,
Παγάκια,
Μπλέ του μεθυλενίου,
Περίνη ή χυμό από ανανά ή υγρό φακών επαφής,
Διηθητικό χαρτί.



Προετοιμασία του διαλύματος εκχύλισης

Υλικά – Συσκευασίες

- Ποτήρι ζέσεως,
- Σύριγγα,
- 3gr αλάτι,
- 10ml απορρυπαντικό πιάτων,
- Αναδευτήρα,
- Νερό



Το DNA περιέχεται μέσα στον πυρήνα των φυτικών κυττάρων και στην προκειμένη περίπτωση στα φυτικά κύτταρα της μπανάνας. Για να το απομονώσουμε, είναι αναγκαίο να διασπάσουμε την κυτταρική και πυρηνική μεμβράνη κάθε φυτικού κυττάρου. Αυτές οι μεμβράνες αποτελούνται από φωσφολιπίδια, που είναι μόρια γλυκερόλης συνδεδεμένα με 3 λιπαρά οξέα, τις οποίες θα διαλύσουμε χρησιμοποιώντας απορρυπαντικό για τα πιάτα. Χρησιμοποιούμε και λίγο αλάτι προκειμένου να διευκολύνει τη απομάκρυνση των πρωτεϊνών που είναι τυλιγμένο το DNA (ιστωνών).

- ▶ Σε ένα ποτήρι ζέσεως ρίχνουμε 80ml νερού και 3gr αλάτι και τα αναδεύουμε μέχρι να διαλυθεί τελείως. Στη συνέχεια ρίχνουμε 10ml απορρυπαντικού για τα πιάτα και αναδεύουμε χωρίς να προκαλούμε την δημιουργία σαπουνάδας. Στο τέλος ρίχνουμε 10ml νερού και ανακατεύουμε.





Προετοιμασία του φυτικού υλικού

Υλικά – Συσκευασίες

Ποτήρι ζέσεως,

100gr μπανάνας

Σακουλάκι,

Αυτή η διαδικασία γίνεται ώστε να διαχωριστούν τα φυτικά κύτταρα και να εκτεθούν απευθείας στη δράση του διαλύματος εκχύλισης.

- ▶ Ζυγίζουμε 100gr μπανάνας και τη πολτοποιούμε μέσα σε ένα νάιλον σακουλάκι προκειμένου να διαχωριστούν τα κύτταρα της μπανάνας.



Πειραματική διαδικασία απομόνωσης του DNA

Αυτή η διαδικασία έχει σκοπό να διασπάσει τη κυτταρική και πυρηνική μεμβράνη κάθε φυτικού κυττάρου της μπανάνας για να ελευθερωθεί το DNA. Ο πολτός μπανάνας θα διατηρηθεί στους 60°C για να επιταχυνθεί η διαδικασία αλλά και για να απενεργοποιήσει διάφορα ένζυμα όπως η DNάση που θα μπορούσε να διασπάσει το DNA. Η παραμονή σε αυτή την θερμοκρασία για μεγάλο χρονικό διάστημα θα μπορούσε να προκληθεί το κομμάτιασμα του DNA. Αυτός είναι και ο λόγος για τον οποίο μετά από 15 λεπτά χρειάζεται να τοποθετήσουμε τον πολτό μέσα σε ένα υδρόλουτρο με παγάκια για 5 λεπτά ώστε να μειωθεί δραστικά η θερμοκρασία του πολτού.

- ▶ Σε ένα ποτήρι ζέσεως ρίχνουμε περίπου 500ml νερού και το θερμαίνουμε μέχρι τους 60°C προκειμένου να το χρησιμοποιήσουμε ως υδρόλουτρο.



- ▶ Ρίχνουμε το διάλυμα εκχύλισης μέσα στο ποτήρι ζέσεως που περιέχει τον πολτό της μπανάνας και ανακατεύουμε ώστε το διάλυμα εκχύλισης να διανεμηθεί ομοιόμορφα σε όλο τον πολτό.



- ▶ Το ποτήρι ζέσεως στη συνέχεια το τοποθετούμε μέσα στο υδρόλουτρο και ανακατεύουμε για να μεταδοθεί ομοιόμορφα η θερμότητα σε όλα τα μέρη του πολτού.



- ▶ Μετά από 15 λεπτά τοποθετούμε το ποτήρι ζέσεως για 5 λεπτά σε υδρόλουτρο που περιέχει παγάκια και ανακατεύουμε για να πέσει η θερμοκρασία σε όλα τα μέρη του πολτού.



Φιλτράρισμα

Με αυτή τη διαδικασία συλλέγουμε υγρό πλούσιο σε DNA, διαχωρίζοντας το από τα κυτταρικά κατάλοιπα τα οποία θα απορριφθούν.

- ▶ Σε ένα χωνί τοποθετούμε διηθητικό χαρτί και αρχίζουμε να ρίχνουμε το μίγμα του απορρυπαντικού με το πολτοποιημένο υλικό και φιλτράρουμε το υλικό μέσα σε ένα μικρό ποτήρι ζέσεως.



- ▶ Το υγρό πλούσιο σε DNA το ρίχνουμε σε δοκιμαστικούς σωλήνες.



Αποκάλυψη του DNA

Το DNA είναι ευδιάλυτο στο νερό, άρα και αόρατο ενώ είναι αδιάλυτο στο οινόπνευμα, στο οποίο καθιζάνει και γίνεται ορατό. Προσθέτοντας οινόπνευμα στο διήθημα του δοκιμαστικού σωλήνα καθιστούμε ορατό το DNA.

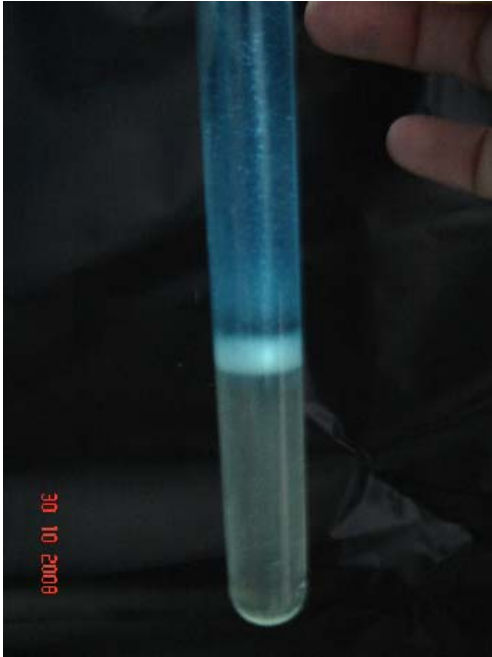
- ▶ Τουλάχιστον 2 ώρες πριν ξεκινήσουμε το πείραμα, βάζουμε στην κατάψυξη ένα πλαστικό μπουκαλάκι χρωματισμένο οινόπνευμα 95%. Το μπουκάλι πρέπει να είναι κλειστό για να αποφύγουμε τον κίνδυνο οι ατμοί του οινοπνεύματος να αναφλεχτούν λόγω πιθανών ηλεκτροστατικών σπιθών. Εναλλακτικά τοποθετήστε ένα δοκιμαστικό σωλήνα γεμάτο με οινόπνευμα σε ένα δοχείο με παγάκια.



- ▶ Γέρνουμε τον δοκιμαστικό σωλήνα και ρίχνουμε αργά – αργά το παγωμένο οινόπνευμα ίσης ποσότητας με την ποσότητα του διηθήματος ώστε να δημιουργήσει ένα στρώμα πάνω από το μείγμα του διηθήματος της μπανάνας. Το αφήνουμε να ηρεμήσει. Το DNA θα συγκεντρωθεί στη φάση του οινοπνεύματος.



- ▶ Στο στρώμα που δημιουργείται μεταξύ του οινοπνεύματος του διηθήματος μπορούμε να παρατηρήσουμε μια άσπρη ουσία, η ποσότητα της οποίας τείνει να αυξηθεί. Πρόκειται για το DNA των φυτικών κυττάρων της μπανάνας.



- ▶ Μαζεύουμε το DNA που σχηματίζεται με ένα ραβδάκι την επόμενη μέρα που θα έχει συμπυκνωθεί αρκετά.

