



Πείραμα: Απομόνωση DNA από ακτινίδια



Αθήνα, 2021

Προετοιμασία

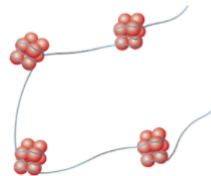
Αντιδραστήρια

2 ακτινίδια
παγωμένο οινόπνευμα
απορρυπαντικό πιάτων
αλάτι
χυμό από ανανά/καθαριστικό φακών
επαφής
νερό

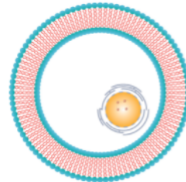
Εξοπλισμός

2 ποτήρια ζέσεως ή κανονικά
σουρωτήρι
Ογκομετρικός κύλινδρος 100 mL
φίλτρο καφέ
πλαστική σακούλα αποθήκευσης
τροφίμων
μαχαιρι και κουτάλι

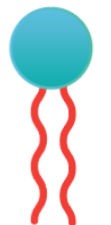
Το (ευκαρυωτικό) κύτταρο συγκρατεί το DNA του μέσα στον πυρήνα. Εκεί είναι πακεταρισμένο με πρωτεΐνες και σχηματίζει ινίδια χρωματίνης.



Ο πυρήνας περιβάλλει το DNA με την πυρηνική μεμβράνη.



Το κύτταρο διαχωρίζεται από το περιβάλλον του με την κυτταροπλασματική μεμβράνη.



Υδρόφιλη: ++

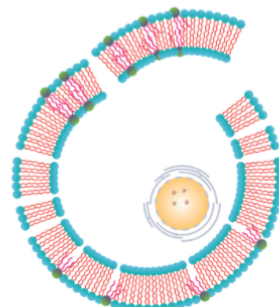
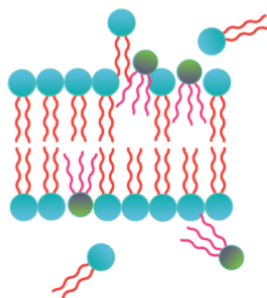
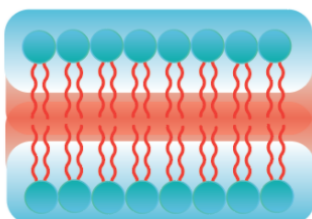
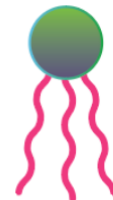
Φωσφολιπίδιο

Υδρόφοβες: ++

Υδρόφιλη: ++++

Απορρυπαντικό

Υδρόφοβες: ++++



Πειραματική Διαδικασία

1. Σε ένα ποτήρι ζέσεως τοποθετούνται 80 mL νερό, μισό κουταλάκι αλάτι και 2 κουταλάκια απορρυπαντικό πιάτων. Το διάλυμα ανδεύεται επαρκώς αλλά σιγά ώστε να μην δημιουργηθούν φούσκες.



2. Αφαιρείται η φλούδα των 2 ακτινιδίων, κόβονται σε μικρά τεμάχια και τοποθετούνται στην πλαστική σακούλα τροφίμων. Ακολουθεί πολτοποίηση των ακτινιδίων μέχρι σύστασης πολύ πηχτό υγρού. Το πολτοποιημένο μείγμα τοποθετείται στο διάλυμα που παρασκευάστηκε προηγουμένως.

3. Μετά από 20 λεπτά, το διάλυμα διηθείται με την χρήση του σουρουτηριού και του φίλτρου. Το διηθημένο υγρό τοποθετείται σε ογκομετρικό σωλήνα μαζί με χυμό από ανανά ή καθαριστικό φακών επαφής σε αναλογία 5 mL διαλύματος: 1 mL χυμού/καθαριστικού.



4. Μετά από 5 λεπτά, προστίθεται προσεκτικά στα τοιχώματα του ογκομετρικού σωλήνα ποσότητα παγωμένου οινόπνευματος σε αναλογία 1 mL οινόπνευμα: 1 mL διάλυμα.

5. Το διάλυμα αφήνεται για 10 λεπτά και παρατηρείται η εκχύλιση του DNA στην φάση του οινόπνευματος. Το στερεό DNA συλλέγεται και αποθηκεύεται.



Ερωτήσεις

Γιατί αφαιρούμε την φλούδα των ακτινιδίων;

Η φλούδα πολλών φρούτων είναι νεκρή ύλη και πιθανοτατα δεν έχει διατηρήσει το DNA της. Επομένως την αφαιρούμε για να έχουμε πρόσβαση στα ζωντανά κύτταρα του φρούτου που έχουν ακόμη DNA.

Γιατί προσθέτουμε απορρυπαντικό πιάτων και αλάτι στο αρχικό διάλυμα εκχύλισης;

Όταν προσθέτουμε το διάλυμα εκχύλισης στα σπασμένα ακτινίδια, το απορρυπαντικό πιάτων βοηθά στη διάσπαση των μεμβρανών των κυττάρων του ακτινιδίου, έτσι ώστε να απελευθερωθεί το DNA. Το αλάτι εξουδετερώνει τα αρνητικά φορτία στο DNA ώστε οι διαφορετικές αλυσίδες του DNA να μπορούν να δημιουργήσουν συσσωματώματα, για να είναι ευκολότερο να δούμε τους κλώνους DNA. Επίσης προκαλεί καθίζηση πρωτεϊνών και υδατανθράκων.

Γιατί χρησιμοποιούμε χυμό ανανά / καθαριστικό υγρό φακών επαφής;

Για την μεγαλύτερη καθαρότητα του τελικού προϊόντος μας, χρειαζόμαστε να αφαιρεθούν όσες περισσότερες πρωτεΐνες γίνεται. Ο χυμός ανανά καθώς και το καθαριστικό υγρό φακών επαφής έχει μέσα την πρωτεΐνη πρωτεάση, μια πρωτεΐνη η οποία καταλύει την αποδόμηση (καταστροφή) των πρωτεϊνών.

Γιατί πρέπει το οινόπνευμα να είναι παγωμένο;

Δύο είναι οι λόγοι που το οινόπνευμα πρέπει να είναι παγωμένο. Ο πρώτος είναι ότι επιτρέπεται η απομόνωση μεγαλύτερης ποσότητας DNA από το αν το οινόπνευμα ήταν σε θερμοκρασία δωματίου. Ο δεύτερος λόγος είναι ότι σε μεγάλες θερμοκρασίες, το DNA αποσυντίθεται καταστρεφοντας έτσι το δείγμα μας. Η χαμηλή θερμοκρασία επιβεβαιώνει την αποφυγή αυτού του φαινομένου.

Γιατί το DNA εντοπίζεται στη φάση του οινόπνευματος;

Το DNA είναι υδρόφιλο και έτσι παραμένει διαλυτό στο νερό, χωρίς όμως να είναι διαλυτό στο οινόπνευμα. Επομένως, η προσθήκη οινόπνευματος θα κάνει το DNA του ακτινιδίου να καθιζάνει, δηλαδή να μην διαλυθεί και να φαίνεται σαν μια στερεή μάζα, γεγονός που το καθιστά ορατό στα μάτια!

Γιατί χρειάζεται να απομονώσουμε DNA; Που χρησιμοποιείται;

Το DNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό ατόμων που εμπλέκονται σε εγκλήματα, για να βοηθήσει στον προσδιορισμό του γενεαλογικού δέντρου και της συγγένειας των ανθρώπων, των φυτών και των ζώων, αλλά και για τον έλεγχο γενετικών ανωμαλιών και ασθενειών. Για παράδειγμα, το DNA του ακτινιδίου μπορεί να συγκριθεί με το DNA από άλλα δείγματα, για να διαπιστωθεί εάν κάποιο από αυτά έχει αλλοιωθεί κατά κάποιο τρόπο. Έτσι ο γεωργός μπορεί να αποφασίσει ποιες αλλαγές θα κάνει ώστε η καλλιέργειά του να γίνει πιο θρεπτική. Επίσης μπορούμε να απομονώσουμε από το DNA ενός οργανισμού που φέρει ένα γονίδιο, το οποίο κωδικοποιεί ένα συγκεκριμένο χαρακτηριστικό, για να το εισάγουμε σε έναν άλλο οργανισμό με μετασχηματισμό, έτσι ώστε ο τροποποιημένος οργανισμός να έχει τώρα ένα χαρακτηριστικό που δεν είχε προηγουμένως.

Η απομόνωση DNA στο εργαστήριο γίνεται με τον ίδιο τρόπο;

Ενώ οι επιστήμονες χρησιμοποιούν λίγο πιο περίπλοκες διαδικασίες και όργανα για την απομόνωση του DNA. Με τον τρόπο αυτό πετυχαίνουν μεγαλύτερη ακρίβεια και καθαρότητα στο τελικό DNA που απομονώνουν. Ωστόσο, οι βασικές αρχές που χρησιμοποιούνται είναι ίδιες με αυτές που ακολουθήθηκαν σε αυτό το πείραμα. Επομένως χρησιμοποιήσαμε μία παρόμοια μέθοδο με αυτή που χρησιμοποιούν κάθε μεγάλοι γιατροί και επιστήμονες σε όλο τον κόσμο!

Από που αλλού μπορούμε να απομονώσουμε DNA;

Στη πραγματικότητα μπορούμε να απομονώσουμε DNA από οποιονδήποτε ζωντανό οργανισμό, είτε είναι ένα φρούτο, η γάτα μας, ένα βακτήριο ή και από εμάς! Ωστόσο, αναλόγως τον οργανισμό από τον οποίο επιλέγουμε να απομονώσουμε DNA, αλλάζει σημαντικά τόσο η ποσότητα κυττάρων που μπορούμε να πάρουμε για να σπάσουμε και να ανακτήσουμε το DNA τους, όσο και το DNA που περιέχεται σε κάθε κύτταρο. Για παράδειγμα ένα ανθρώπινο κύτταρο περιέχει περίπου 3 δισεκατομμύρια ζεύγη βάσεων, ενώ ένα κύτταρο του βακτηρίου *Escherichia coli* μόλις 4,6 εκατομμύρια ζεύγη βάσεων. Είναι λοιπόν περίπου χίλιες φορές μικρότερο και άρα δεν θα έχουμε τόσο εμφανή ποσότητα μετά την απομόνωση. Ενδεικτικά, το κάθε κύτταρο ενός ακτινιδίου περιέχει περίπου 620 εκατομμύρια ζεύγη βάσεων, περίπου 10 φορές λιγότερες από ένα ανθρώπινο. Ωστόσο σε αυτό το πείραμα χρησιμοποιήσαμε μεγάλη ποσότητα κυττάρων (μερικά εκατομμύρια) και επομένως μπορέσαμε να δούμε καθαρά σημαντική ποσότητα DNA.