

Ενότητα Ροή γενετικής πληροφορίας	Φύλλο εργασίας 2 <i>Απομόνωση νουκλεϊκών οξέων από φυτικά κύτταρα</i>	Βιολογία Γ΄ Γυμνασίου
--	---	---------------------------------

Όνοματεπώνυμο Τμήμα Ημερομηνία

Τα νουκλεϊκά οξέα, όπως και οι πρωτεΐνες, είναι μακρομοριακές ενώσεις, που δομούνται από άλλες απλούστερες ενώσεις που λέγονται νουκλεοτίδια. Νουκλεϊκά οξέα είναι το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DNA) και το ριβονουκλεϊκό οξύ (RNA).

Εργαστηριακή άσκηση : Απομόνωση νουκλεϊκών οξέων από φυτικά κύτταρα

Χωριστείτε σε ομάδες των 4 μαθητών.

Προσπαθούμε να απομονώσουμε νουκλεϊκά οξέα από φυτικά κύτταρα και συγκεκριμένα από τα κύτταρα της μπανάνας. Για τον σκοπό αυτό θα ακολουθήσουμε το πρωτόκολλο που περιγράφεται παρακάτω.

Τι θα χρειαστούμε :



Ø Εργαλεία & Υλικά		Ø Διαλύματα – Χρωστικές
§ Γουδί	§ 1 μπανάνα	§ Διάλυμα 1g/100 ml πεψίνης
§ Μαχαίρι	§ 1 ποτήρι ζέσεως 500 ml	§ 6 ml παγωμένη αιθανόλη
§ Κουταλάκι του γλυκού	§ 3 ποτήρια ζέσης των 40ml	§ 10 ml υγρό πιάτων(όχι πολύ συμπυκνωμένο)
§ Χάρτινο φίλτρο	§ Πλαστική πιπέτα ή σύριγγα των 10 ml	§ 250 ml απεσταγμένο νερό
	§ Γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα	§ 3 gr μαγειρικό αλάτι
	§ 2 ράβδους ανάδευσης	

Πως πραγματοποιούμε την άσκηση:

1. Κόψτε και ξεφλουδίστε την μισή μπανάνα.



2. Πολτοποιείστε την όσο καλύτερα μπορείτε στο γουδί.



3. Στο ποτήρι των 40 ml προσθέστε 1 κουταλιά του γλυκού υγρό πιάτων.



4. Προσθέστε λίγο μαγειρικό αλάτι στο υγρό πιάτων.



5. Στο μίγμα προσθέστε 4 κουταλιές του γλυκού αποσταγμένο νερό.



6. Ανακατέψτε το μίγμα με την ράβδο ανάδευσης, προσεκτικά, ώστε να μην δημιουργηθεί αφρός.



7. Στο ποτήρι ζέσεως των 500 ml ρίξτε 250 ml αποσταγμένο νερό και προσθέστε την πολτοποιημένη μπανάνα.



8. Ανακατέψτε καλά το μίγμα με την άλλη ράβδο ανάδευσης ώστε να ομογενοποιηθεί.



9. Στο διάλυμα του υγρού πιάτων που έχετε ετοιμάσει, προσθέστε τρεις κουταλιές του γλυκού από το μείγμα της μπανάνας.



10. Αναδέψτε το διάλυμα με την ράβδο ανάδευσης για 5-10 λεπτά, αφού πρώτα την καθαρίσετε καλά.



11. Τοποθετείστε το φίλτρο του καφέ στο δεύτερο γυάλινο ποτήρι των 40 ml, στερεώνοντας το άκρο του στο χείλος του ποτηριού και προσέχοντας, ώστε το φίλτρο να μην ακουμπά στον πυθμένα του ποτηριού. Ρίξτε το διάλυμα που έχετε ετοιμάσει και φιλτράρετε.



12. Μετά από λίγα λεπτά στον πυθμένα του δοχείου θα στραγγίσουν περίπου 10 mL διαλύματος μπανάνας.



13. Στο διάλυμα προσθέστε 2-3 σταγόνες διαλύματος πεψίνης και αναδέψτε το μίγμα.



14. Γεμίστε την πλαστική πιπέτα (ή την σύριγγα) με το διάλυμα της μπανάνας.



15. Προσθέστε το διάλυμα σε δοκιμαστικό σωλήνα.



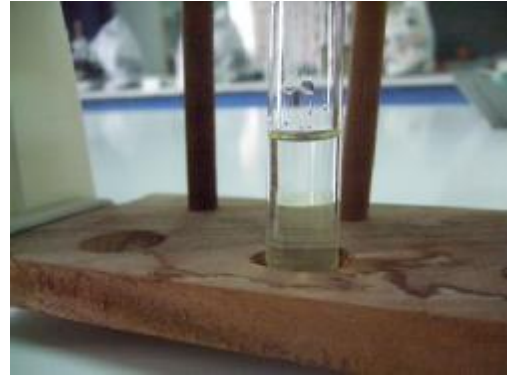
16. Γεμίστε μια άλλη πλαστική πιπέτα με παγωμένο οινόπνευμα.



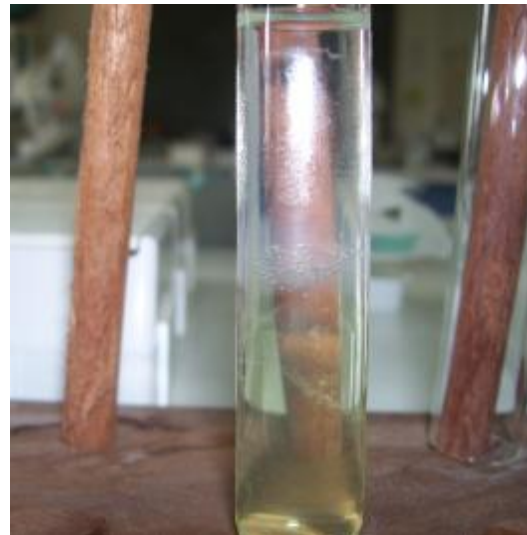
17. Προσθέστε προσεκτικά το οινόπνευμα στον δοκιμαστικό σωλήνα.



18. Αφήστε το μίγμα σε ηρεμία για 2 έως 3 λεπτά. Παρατηρείστε ότι θα δημιουργηθούν δύο φάσεις, με την φάση του οίνοπνεύματος από πάνω. **Προσοχή!** Μην κουνάτε το σωλήνα.



19. Παρατηρείστε την δημιουργία φυσαλίδων μέσα στην φάση του οίνοπνεύματος.



20. Σε λίγα λεπτά μέσα στην φάση του οίνοπνεύματος αναδύονται τα νουκλεϊκά οξέα σαν ένα νεφέλωμα.



Εξήγηση του πρωτοκόλλου:

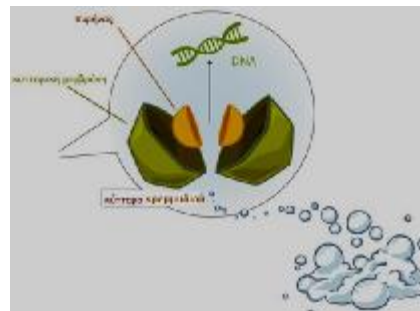
α. Γιατί προσθέσατε απορρυπαντικό;

Για να απομονώσετε το γενετικό υλικό, πρέπει να σπάσετε την κυτταρική και την πυρηνική μεμβράνη...

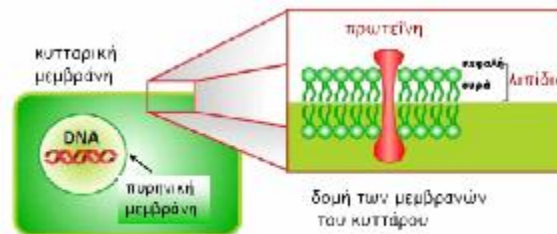
κυτταρική μεμβράνη



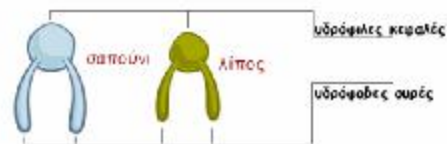
Αυτό το επιτυγχάνετε με την προσθήκη του απορρυπαντικού...



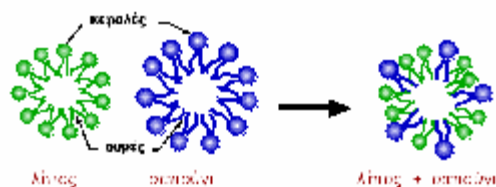
Οι μεμβράνες του κυτάρου είναι λιποπρωτεϊνικής σύστασης...



Τα μόρια του λίπους και του απορρυπαντικού (σαπουνι) έχουν παρόμοια δομή καθώς αποτελούνται από υδρόφιλες κεφαλές και υδρόφοβες ουρές...



Έτσι, όταν ένα απορρυπαντικό αλληλεπιδράσει με λίπος, σχηματίζονται σφαιρίδια απορρυπαντικού-λίπους (λόγω της παρόμοιας δομής τους)...



Στο πείραμά μας, το απορρυπαντικό (σαπούνι) έρχεται σε επαφή με τις μεμβράνες του κυττάρου, συνδέεται με τα λίπη και τις πρωτεΐνες τους ...



Κατά το φιλτράρισμα του διαλύματος κατακρατούνται τα λιπίδια και οι πρωτεΐνες της μεμβράνης στο φίλτρο.



β. Γιατί προσθέσατε πεψίνη;

Τα ένζυμα αυτά διασπούν τις πρωτεΐνες που είναι συνδεδεμένες με το DNA.

γ. Που χρειάζεται η αιθανόλη και το αλάτι;

Η παγωμένη αιθανόλη με το αλάτι επιτρέπει τα νουκλεϊκά οξέα των κυττάρων που βρίσκονται στο διήθημα να αναδυθούν.

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

Δυστυχώς, με το οπτικό μικροσκόπιο δεν μπορείτε να παρατηρήσετε τα νουκλεϊκά οξέα που απομονώσατε. Το μόνο που μπορείτε να διακρίνετε είναι μια συμπαγής μάζα από πάρα πολλά μόρια τους. Αυτό συμβαίνει επειδή το πλάτος της διπλής έλικας, για το DNA, είναι περίπου ένα δισεκατομμυριοστό του μέτρου, έτσι δεν είναι δυνατόν να το δούμε ακόμη και με το πιο ισχυρό μικροσκόπιο.

Υπάρχει πειραματική διαδικασία που μας επιτρέπει τη βαφή των νουκλεϊκών οξέων. Όμως, η διαδικασία είναι περίπλοκη, δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί στο σχολικό εργαστήριο και, επίσης, η χρήση των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιούνται απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή. Έτσι, πρέπει να εμπιστευθείτε ότι τα μόρια που αναδύθηκαν στην αλκοόλη είναι νουκλεϊκά οξέα.

Εργασία : Απαντήστε στις ερωτήσεις

1. Ποια νουκλεϊκά οξέα απομονώσατε από τα κύτταρα της μπανάνας;

.....
.....
.....
.....

2. Ποιες μεμβράνες χρειάστηκε να καταστρέψετε για να ελευθερώσετε τα νουκλεϊκά οξέα;

.....
.....
.....
.....

3. Γιατί η αιθανόλη έπρεπε να είναι παγωμένη;

4. Που βρίσκονται οι πρωτεΐνες που προσπαθείτε να διασπάσετε με την πεψίνη;

5. Πιστεύετε ότι θα μπορούσατε να απομονώσετε νουλεϊκά οξέα από ζωικά κύτταρα με την ίδια διαδικασία; Συζητείστε την απάντησή σας στην τάξη.

