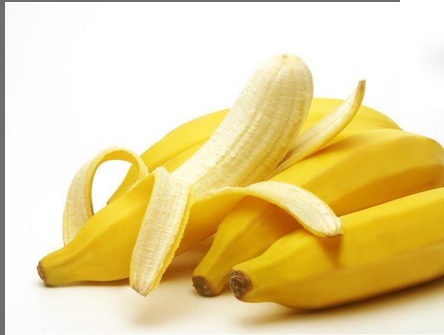
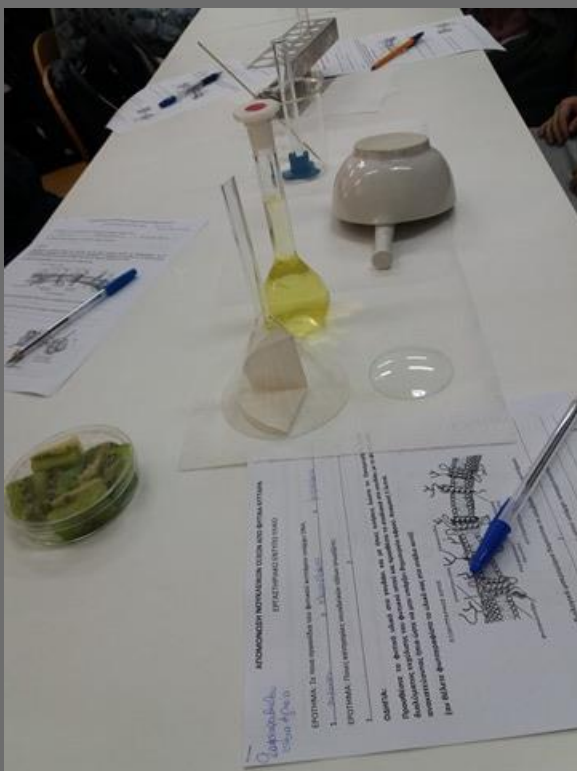


# Απομόνωση DNA από φυτικούς οργανισμούς!





## Υλικά:

- ✓ Μικροσκόπιο και έτοιμο παρασκεύασμα ανθρώπινων μεταφασικών χρωμοσωμάτων.
- ✓ Κεδρέλαιο.
- ✓ Σύστημα προβολής διαφανειών.
- ✓ Φύλλα εργασίας.



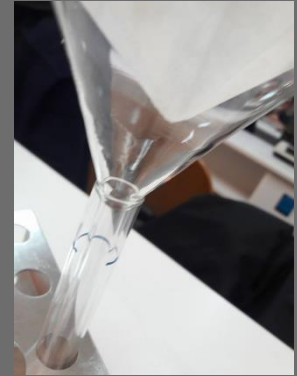
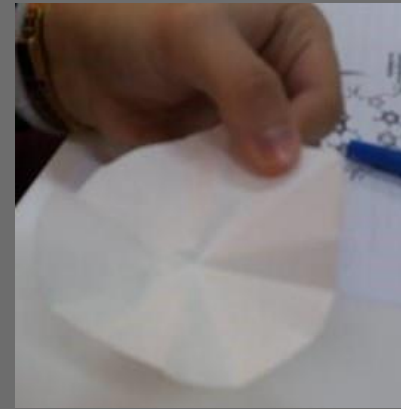
- ✓ ένα κομμάτι από φυτικό οργανισμό περίπου 4g (νωπό βάρος).
- ✓ 15 ml διάλυμα εκχύλισης DNA.
- ✓ Ογκομετρικός σωλήνας των 10 ή 25 ml.



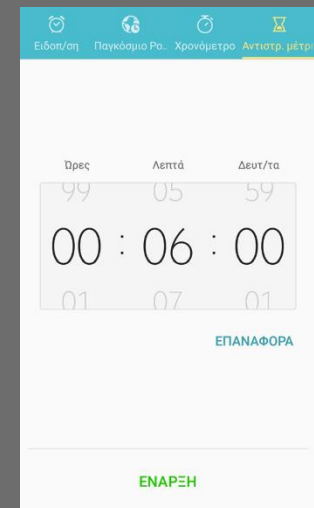
*(Για την παρασκευή 500 ml διαλύματος εκχύλισης DNA, που είναι αρκετό για 50 εκχυλίσεις, χρειαζόμαστε:*

- 25 ml απορρυπαντικού πιάτων,*
- 7,5 gr μαγειρικό αλάτι και*
- 450 ml νερό*
- 1 ml διαλύματος πεψίνης)*

## Υλικά:



- ✓ Ένας δοκιμαστικός σωλήνας σε υποστήριγμα.
- ✓ 1 μεγάλο γυάλινο χωνί + 1 διηθητικό χαρτί κομμένο σε τετράγωνα (5X5 cm περίπου) που θα λειτουργήσει ως φίλτρο.
- ✓ 1 γουδάκι πορσελάνης.
- ✓ Φιάλη με το διάλυμα εκχύλισης.
- ✓ Χρονόμετρο.
- ✓ Οινόπνευμα παγωμένο (φυλάσσεται στην κατάψυξη).
- ✓ Ένας αναδευτήρας (ξύλινο ραβδάκι).
- ✓ Μια γυάλινη κάψα για τη συλλογή των νουκλεϊκών οξέων.





1. Λιώνουμε (πολτοποιούμε) το υλικό μας, με το γουδάκι.



Λάθος θέση  
Μικρότερη  
ανάγνωση



Σωστή θέση



Λάθος θέση  
Μεγαλύτερη  
ανάγνωση

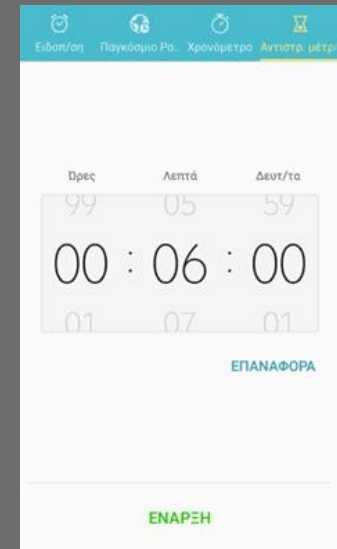
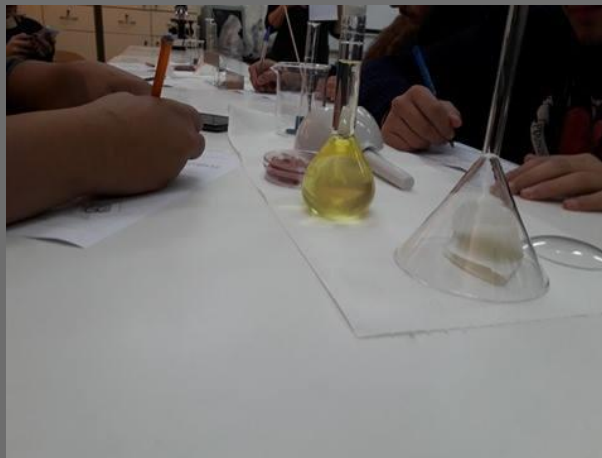


2. Στη συνέχεια ογκομετρούμε  
στον κύλινδρο  
15 ml διαλύματος εκχύλισης DNA.  
Τα προσθέτουμε στο φυτικό υλικό.





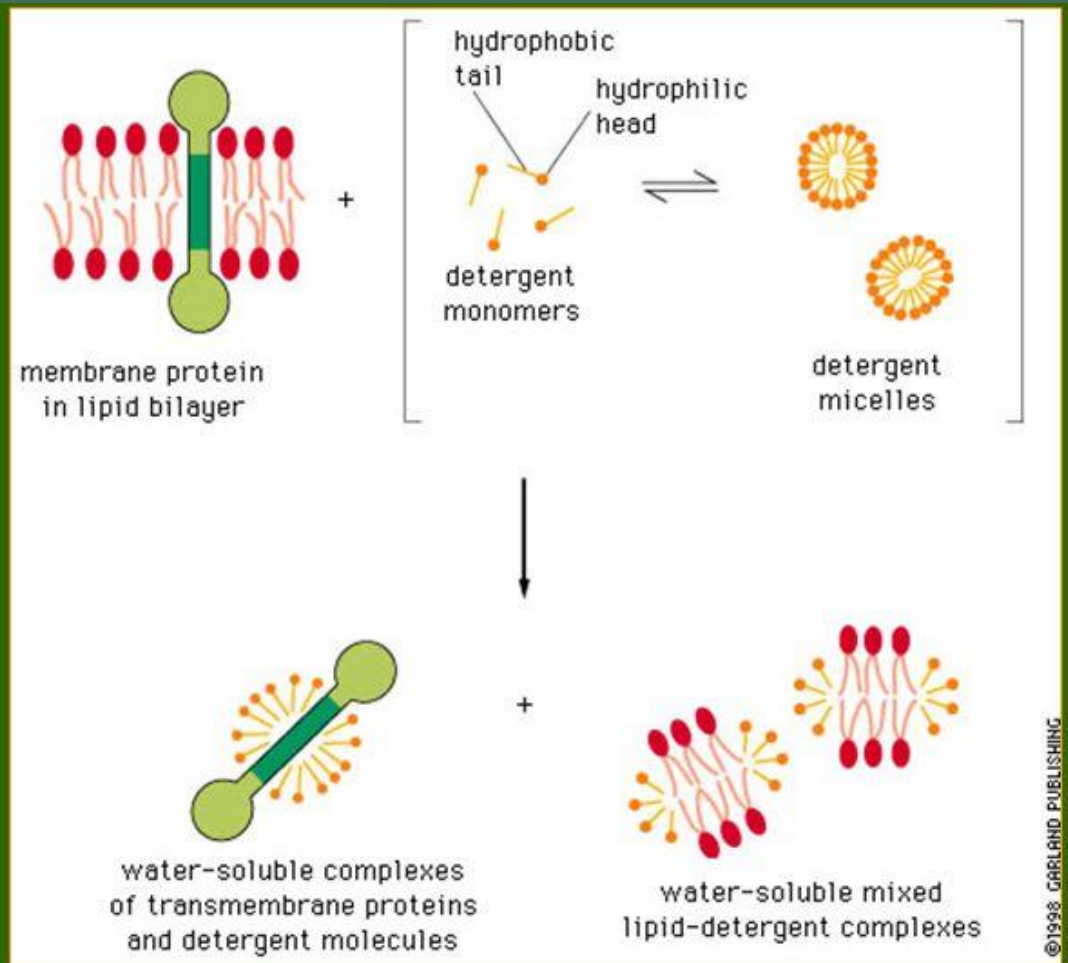
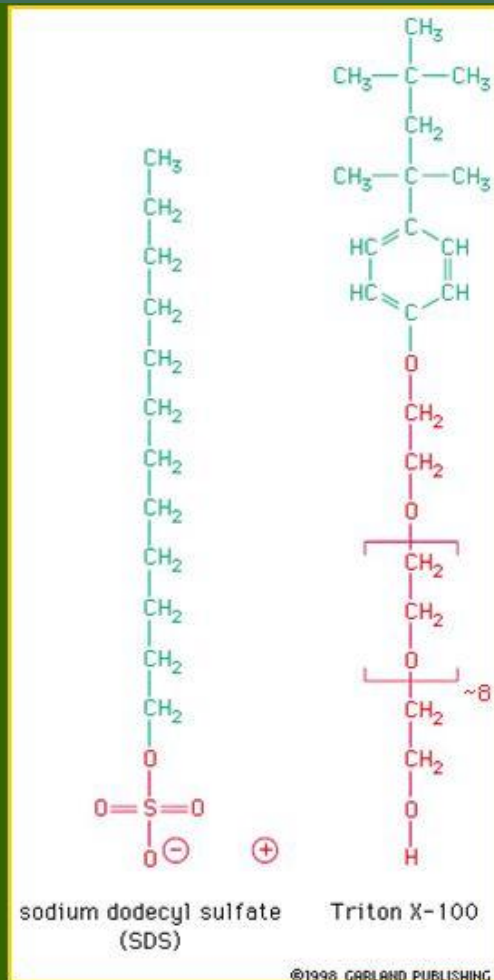
3. Αναδεύουμε ήπια το μίγμα για ένα λεπτό.  
Προσπαθούμε να μη δημιουργηθεί αφρός.  
Αναμονή για 6 λεπτά ...

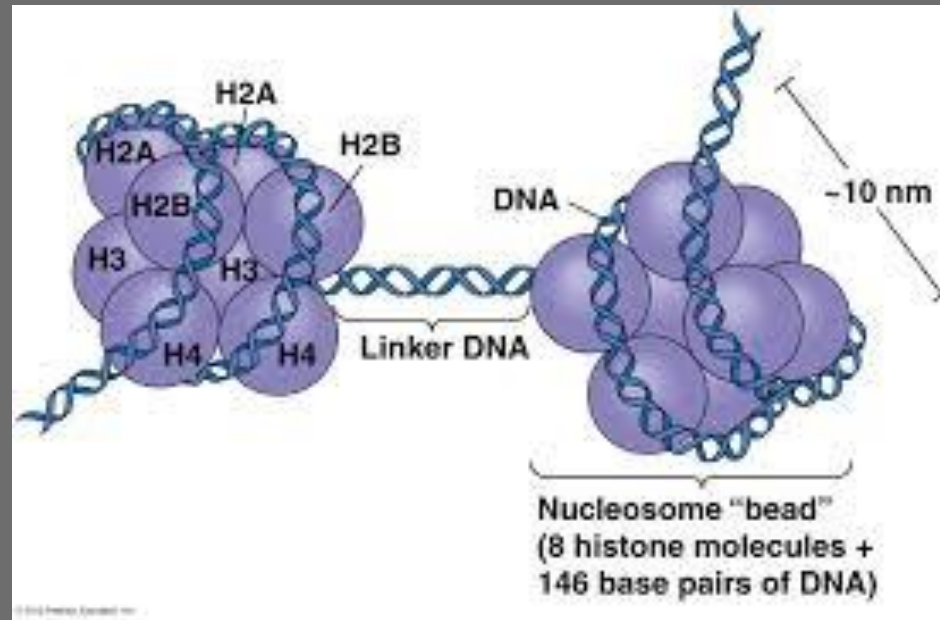


Επιστροφή στα φύλλα εργασίας...

Το απορρυπαντικό δεσμεύει  
τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια  
της κυτταρικής μεμβράνης.

Συνεπώς το DNA απελευθερώνεται στο διάλυμα.





Το DNA μέσα στον πυρήνα του κυττάρου είναι διπλωμένο (πακεταρισμένο) και προστατευμένο από πρωτεΐνες. Η πεψίνη (meat tenderizer) κόβει και απομακρύνει τις πρωτεΐνες από το DNA.

(Η πεψίνη δεν είναι απαραίτητη, αφού παίρνουμε τα ίδια "ορατά" αποτελέσματα και χωρίς τη χρήση της)



4. Τοποθετούμε ένα χωνί σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα.

5. Βάζουμε μία γάζα ή διηθητικό χαρτί μέσα στο χωνί.

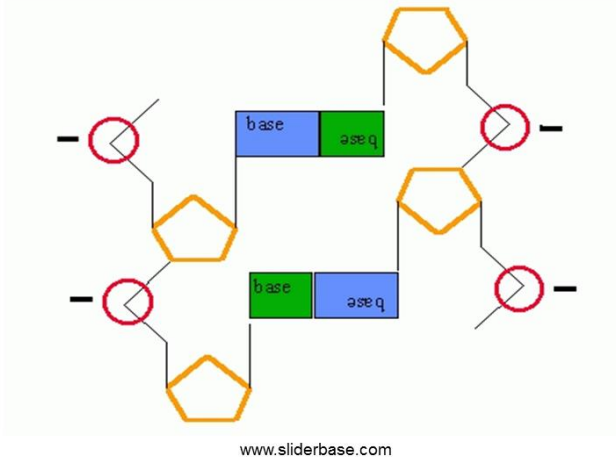
6. Ρίχνουμε το μίγμα του απορρυπαντικού με το πολτοποιημένο υλικό μας, στη γάζα και φιλτράρουμε το μίγμα μέσα στο σωλήνα ή σε ποτήρι ζέσεως.

7. Ξεπλένουμε το γουδάκι με άλλα 10 ml διαλύματος εκχύλισης και φιλτράρουμε και αυτό το τελευταίο υγρό.  
Αναμονή για τη διήθηση του υλικού μας.

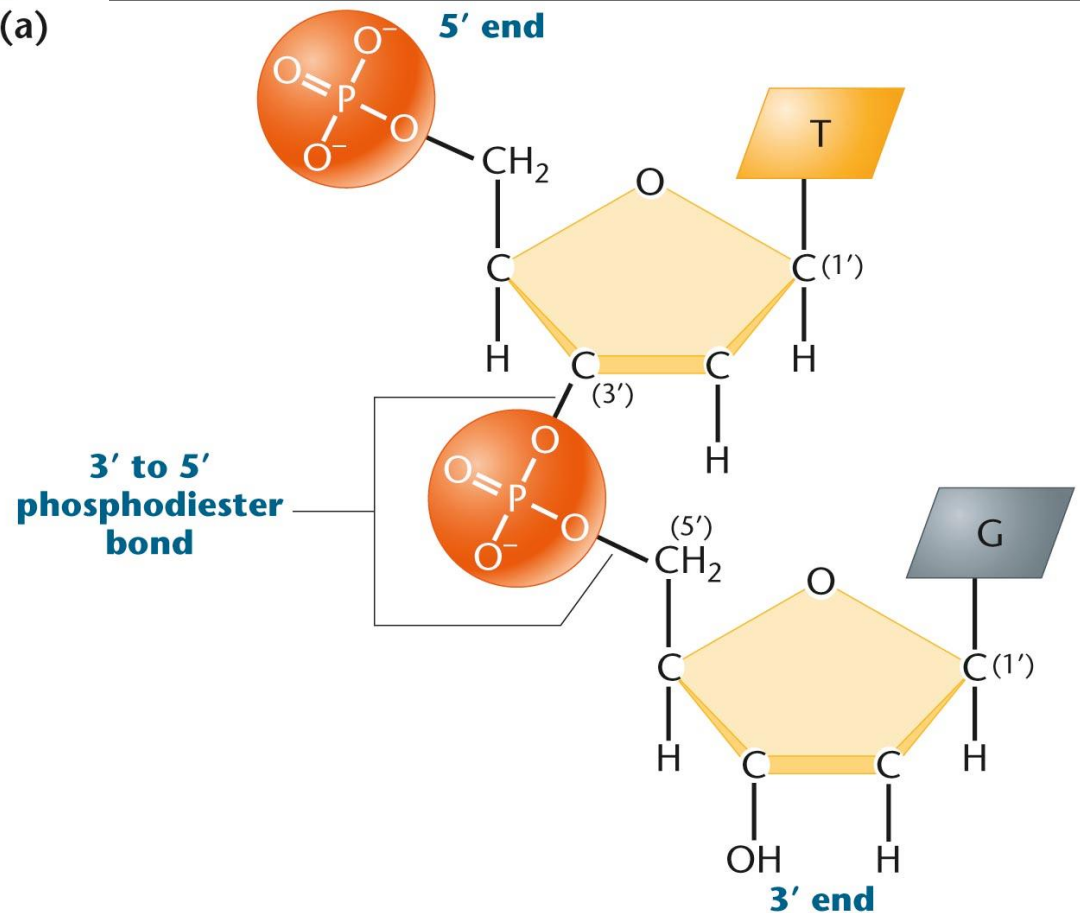
*Επιστροφή στα φύλλα εργασίας...*



# DNA negatively charged



(a)





8. Προσθέτουμε με προσοχή το παγωμένο οινόπνευμα στο σωλήνα μέχρι να γεμίσει περίπου ως τη μέση και να σχηματίσει **μία δεύτερη στοιβάδα** πάνω από το φιλτραρισμένο υλικό, καθώς έχει μικρότερη πυκνότητα από αυτό και επιπλέει σε αυτό.

9. Κρατάμε το δοκιμαστικό σωλήνα ακίνητο, στο ύψος των ματιών μας, χωρίς να τον μετακινούμε και παρατηρούμε τι συμβαίνει.

Τα λιπίδια και οι πρωτεΐνες κινούνται στον πυθμένα της υδάτινης στοιβάδας,

ενώ τα νουκλεϊκά οξέα ανέρχονται από την υποκείμενη στοιβάδα, στη στοιβάδα της αιθανόλης.

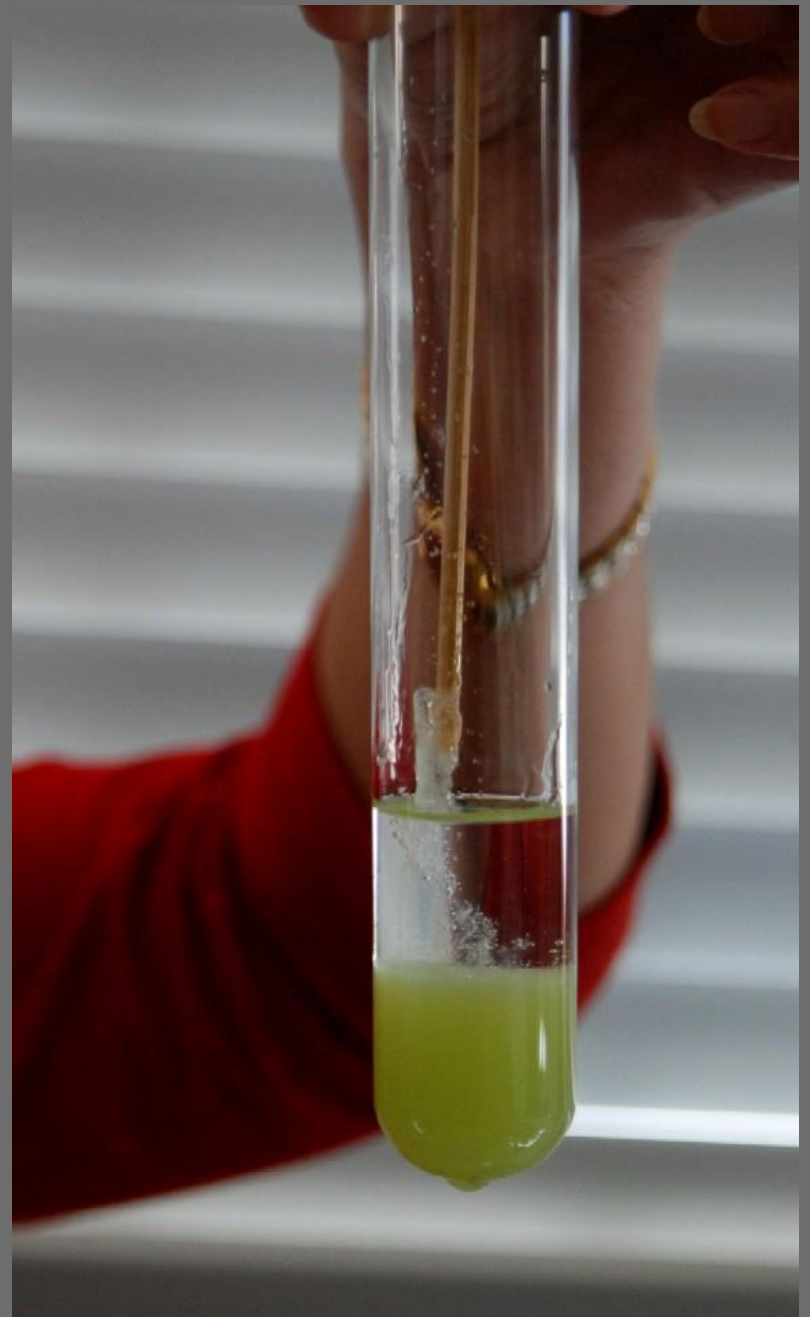
Τα νουκλεϊκά οξέα είναι αδιάλυτα στην αιθανόλη γι' αυτό και τα διακρίνουμε σαν νέφος







Χρησιμοποιώντας μία γυάλινη  
ή ξύλινη ράβδο,  
πλησιάζουμε τα νουκλεϊκά οξέα  
και στρέφοντας αργά τη ράβδο,  
τα τυλίγουμε γύρω της.



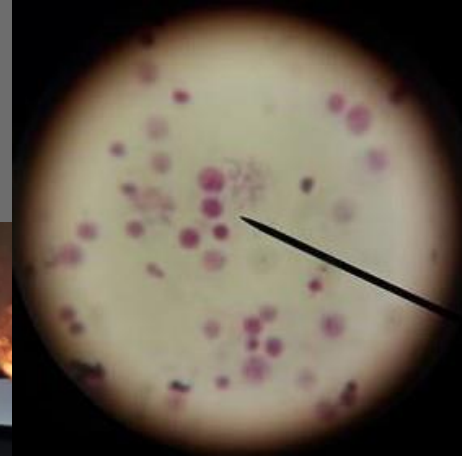
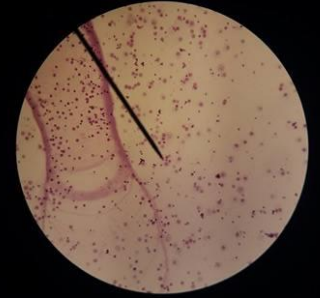


Τέλος απομακρύνουμε  
τη ράβδο από το υγρό  
(αιθανόλη).



Στα μικροσκόπια είναι τοποθετημένα  
έτοιμα παρασκευάσματα  
ανθρώπινου καρυότυπου  
προς παρατήρηση.

Αυξήστε προοδευτικά τη μεγένθυση  
των αντικειμενικών φακών.  
Παρατηρήστε τα χρωμοσώματα.



Προσθέστε κεδρέλαιο  
και παρατηρήστε  
στη μεγένθυση X 100.  
Παρατηρήστε τα χρωμοσώματα.

*Επιστροφή στα φύλλα εργασίας.*



Συλλέξτε το «νέφος»  
που σχηματίστηκε στη στιβάδα της αλκοόλης.

Πως είμαστε σίγουροι ότι πρόκειται ... για νουκλεϊκά οξέα?

Ένας τρόπος να διαπιστώσουμε  
αν η ουσία που απομονώσαμε  
είναι πράγματι DNA  
είναι να τη διαλύσουμε  
σε αντιδραστήριο διφαινουλαμίνης.



Η αντίδραση διφαινουλαμίνης  
δεν είναι ειδική για το DNA  
αλλά για τις δεοξυριβόζες  
και δίνει έντονο μπλέ χρώμα.





## Βιβλιογραφία

1. [http://en.wikipedia.org/wiki/DNA\\_extraction](http://en.wikipedia.org/wiki/DNA_extraction)
2. Εργαστηριακός οδηγός Γ Λυκείου  
([http://ekfe.eyr.sch.gr/erg\\_odhgoi/erg\\_od\\_bio\\_g\\_kat\\_lyk.pdf](http://ekfe.eyr.sch.gr/erg_odhgoi/erg_od_bio_g_kat_lyk.pdf))
3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΜΕΑΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΑΘΗΝΑ 2015  
Βασίλης Δουρής (1996), Λάρα Κραββαρίτη (2010)
4. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΛΥΚΕΙΟΥ. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΚΕΝΤΡΟ  
ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ Ν. ΜΑΓΝΗΣΙΑΣ ( Ε.Κ.Φ.Ε ) ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ  
ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΒΑΤΣΙΟΣ ΞΕΝΟΦΩΝ
5. <https://e-class.teilar.gr/modules/document/file.php/DIET146.pdf>
6. <http://photodentro.edu.gr/aggregator/lo/photodentro-lor-8521-6718>
7. <http://www.jbc.org/content/169/2/367.full.pdf>

## Ευχαριστίες

Ευχαριστούμε τους μαθητές  
των τμημάτων ΓΘΣ1 και ΓΘΣ2  
(σχολική χρονιά 2016-2017) για τη συμμετοχή τους  
και την ευρυματικότητά τους  
στην εκτέλεση και παρουσίαση  
της εργαστηριακής αυτής άσκησης.