**ΕΚΦΕ ΑΛΙΜΟΥ**

**Απομόνωση νουκλεϊκών οξέων από επιθηλιακά κύτταρα**

**του βλεννογόνου του στόματος (παρειάς)**

**Διδακτικοί στόχοι**

Οι μαθητές:

* Να κατανοήσουν ότι τα ζωντανά κύτταρα περιέχουν νουκλεϊκά οξέα. Το DNA και δευτερευόντως το RNA σχηματίζουν συσσωματώματα που παρατηρούνται με γυμνό μάτι.
* Να ετοιμάσουν διάλυμα με το δικό τους DNA και να προκαλέσουν συσσωμάτωση ώστε να γίνει ορατό.
* Να κατανοήσουν τους περιορισμούς και τις διαδικασίες ενός πειράματος
* Να εξοικειωθούν στη χρήση οργάνων και υλικών του εργαστηρίου

**ΦΥΛΛΟ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

**Αναλώσιμα υλικά και διαλύματα:**

* 1 πλαστικό ποτηράκι
* 1 μεσαίο γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα
* Αποστειρωμένα γλωσσοπίεστρα ή μπατονέτες
* Πουάρ
* Ξύλινο καλαμάκι
* Υγρό καθαρισμού φακών ή χυμό από φρέσκο ανανά
* Εμφιαλωμένο νερό ή αναψυκτικό τύπου Powerade ή Lucozade
* Αιθυλική αλκοόλη (παγωμένη )
* Eppendorf 0,5 ml
* ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ:

**Διάλυμα NaCl** : 8g μαγειρικού αλατιού σε 92 ml νερού

**Διάλυμα σαπουνιού**: 25 mL υγρό απορρυπαντικό πιάτων σε 75 mL νερού

**ΒΗΜΑΤΑ ΕΚΤΕΛΕΣΗΣ**

**1ο**

Πάρε ένα πλαστικό ποτήρι και γράψε το όνομά σου

**2ο**

Ρίξε στο ποτήρι σου 15 ml (περίπου 3 κουταλάκια) εμφιαλωμένο νερό ή αναψυκτικό τύπου Powerade (μπλε χρώματος) ή Lucozade (κίτρινου χρώματος).

**3ο**

Σύρε το γλωσσοπίεστρο ή την μπατονέτα στις παρειές της στοματικής κοιλότητας και στη γλώσσα σου υπό γωνία.

Κράτησε το νερό στο στόμα σου κάνοντας «μπουκώματα» τουλάχιστον για 30 δευτερόλεπτα και μετά επέστρεψέ το στο ποτηράκι. Τοποθέτησε το γλωσσοπίεστρο ή τη μπατονέτα στο ποτήρι και ανάδευσε ήπια.

**4ο**

Ρίξε στο ποτήρι σου 5 ml (περίπου 1 κουταλάκι) υγρό καθαρισμού φακών ή 3 ml χυμού ανανά. Ανακίνησε ήπια το ποτήρι.

**5ο**

Πρόσθεσε 1mL διαλύματος υγρού σαπουνιού. Ανακίνησε το ποτήρι ήπια, ώστε να ομογενοποιηθούν τα συστατικά του.

**6ο**

Πρόσθεσε 1mL διαλύματος χλωριούχου νατρίου.

**7ο**

Άφησε το ποτήρι για τουλάχιστον 5 λεπτά στον πάγκο.

**8ο**

Μετέφερε προσεκτικά το διάλυμα σε ένα γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα.

**9ο**

Πρόσθεσε ίσο περίπου όγκο παγωμένης αιθανόλης στο δοκιμαστικό σωλήνα (υπό κλίση) με προσοχή, ώστε να δημιουργηθούν δύο στιβάδες.

**10ο**

Παρατήρησε τις φυσαλίδες που είναι συνδεδεμένες με τις άσπρες ίνες που κινούνται προς την κορυφή του σωλήνα περνώντας στη φάση της αλκοόλης.

**11ο**

Χρησιμοποιώντας το ξύλινο καλαμάκι, με κυκλικές αργές κινήσεις, μπορείς να συγκεντρώσεις το DNA από τη φάση της αλκοόλης και να το τοποθετήσεις στον μικρό σωλήνα (eppendorf – 0,5mL).

Μπορείς με ένα καλαμάκι ή ένα γυάλινο ραβδί (πιπέττα Pasteur) να συλλέξεις το DNA, να το τοποθετήσεις σε μαύρο χαρτόνι, να περιμένεις να απορροφηθούν τα υγρά και στη συνέχεια να παρατηρήσεις τα συσσωματώματα σε στερεοσκόπιο σε μεγέθυνση Χ20 και Χ40.

**ΦΥΛΛΟ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ**

Ονοματεπώνυμο: ………………………………………………………………………….

Τμήμα: ……………

Ημερομηνία: ………………………

**1.** Περιγράψτε την εµφάνιση του DNA που αποµονώσατε.

…………………………………………………………………………………………

…………………………………………………………………………………………

…………………………………………………………………………………………

**2.** Σε τι νοµίζετε ότι συνεισφέρει η χρήση αλατιού και απορρυπαντικών στη διαδικασία απελευθέρωσης των νουκλεϊκών οξέων στο διάλυµα;

……………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………

…………………………………………………………………………………………

**3.** Γιατί χρησιμοποιούμε παγωμένη αλκοόλη;

……………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………

…………………………………………………………………………………………

**4.** Πιστεύεις ότι στην επιφάνεια επαφής διαλύματος – αιθανόλης, συγκεντρώνεται μόνο το DNA. Γιατί;

…………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………

**5.** Ποιος µπορεί να είναι ο ρόλος του ενζύµου που προσθέτουµε;

…………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………

**6.** Η λευκή ινώδης ουσία είναι μόνο DNA;

…………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………

**7.** Πως μπορεί να ελεγχθεί η καθαρότητα του DNA;

…………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………

**8.** Αν επιθυµούσατε να αποµονώσετε βακτηριακό DNA θα χρησιµοποιούσατε την ίδια µέθοδο; Αν όχι τι αλλαγές θα προτείνατε;

…………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………

**9.** Μπορείτε να παρατηρήσετε στο μικροσκόπιο το DNA που απομονώσατε;

…………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………

**Βιβλιογραφία**

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bmb.20351/full>

<https://repository.kallipos.gr/handle/11419/645>

[http://eclass.sch.gr/modules/document/file.php/G436106/Εργαστήριο/Πείραμα\_Απομόνωση\_DNA.pdf](http://eclass.sch.gr/modules/document/file.php/G436106/%CE%95%CF%81%CE%B3%CE%B1%CF%83%CF%84%CE%AE%CF%81%CE%B9%CE%BF/%CE%A0%CE%B5%CE%AF%CF%81%CE%B1%CE%BC%CE%B1_%CE%91%CF%80%CE%BF%CE%BC%CF%8C%CE%BD%CF%89%CF%83%CE%B7_DNA.pdf)

http://www.funsci.com/fun3\_en/dna/dnaen.htm

<http://mde-didaktiki.biol.uoa.gr/mde9/boulgari/dna-extraction.html>

[https://csitheplaaexperience.wikispaces.com/Απομόνωση+DNA+μαθητών](https://csitheplaaexperience.wikispaces.com/%CE%91%CF%80%CE%BF%CE%BC%CF%8C%CE%BD%CF%89%CF%83%CE%B7%2BDNA%2B%CE%BC%CE%B1%CE%B8%CE%B7%CF%84%CF%8E%CE%BD)

http://slideplayer.gr/slide/3108331/