

**Δραστηριότητα: Απομόνωση νουκλεϊνικών οξέων από
επιθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου του στόματος**

ΜΑΘΗΜΑ: ΒΙΟΛΟΓΙΑ

ΔΙΑΡΚΕΙΑ: 1 ΔΙΔΑΚΤΙΚΗ ΩΡΑ

Διδακτικοί στόχοι

Οι μαθητές:

- Να αναγνωρίσουν ότι κύτταρα βρίσκονται παντού στο σώμα μας και περιέχουν νουκλεϊνικά οξέα
- Να διαπιστώσουν ότι το DNA σχηματίζει συσσωματώματα που μπορούν να παρατηρηθούν με γυμνό μάτι
- Να μνηθούν με απλά μέσα στο σκεπτικό, τους περιορισμούς και τις διαδικασίες ενός πειράματος
- Να εξοικειωθούν στη χρήση οργάνων και υλικών του εργαστηρίου βιολογίας

| |
|------------------------------|
| ΦΥΛΛΟ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΜΑΘΗΤΗ |
|------------------------------|

Τι χρειάζεται κάθε μαθητής/τρια:

- ✓ 1 πλαστικό ποτηράκι
- ✓ 1 μεσαίο δοκιμαστικό σωλήνα
- ✓ Γλωσσοπίεστρα ή μπατονέτες
- ✓ Πουάρ
- ✓ Ξύλινο καλαμάκι
- ✓ Υγρό καθαρισμού φακών
- ✓ Εμφιαλωμένο νερό
- ✓ Αιθυλική αλκοόλη (παγωμένη)
- ✓ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ (ΚΡΥΑ) : απαιτούνται νερό, υγρό άχρωμο απορρυπαντικό πιάτων και μαγειρικό αλάτι
- ✓ **erpedorf – 0,5mL ή άλλο μικρό δοχείο**

Αναγκαία ορολογία: νουκλεάσες, πρωτεάσες, συσσωματώματα

Βήμα 1^ο

Πάρε ένα πλαστικό ποτήρι και γράψε το όνομα σου

Βήμα 2^ο

Ο καθηγητής ρίχνει στο ποτήρι σου 15 ml (περίπου 3 κουταλάκια) εμφιαλωμένο νερό

Βήμα 3^ο

Κράτησε το νερό στο στόμα σου κάνοντας «μπουκώματα» τουλάχιστον για 30 δευτερόλεπτα και μετά επέστρεψε το στο ποτηράκι. Θα ήταν καλό να βοηθήσεις με τη γλώσσα σου ώστε να αποκολληθούν περισσότερα κύτταρα από το επιθήλιο!

Επίσης σύρε το γλωσσοπίεστρο ή την μπατονέτα στις παριές της στοματικής κοιλότητας ή στη γλώσσα σου υπό γωνία και στη συνέχεια απόθεσε το στο διάλυμα.

Βήμα 4^ο

Ο καθηγητής ρίχνει στο ποτήρι σου 5 ml (περίπου 1 κουταλάκι) υγρό καθαρισμού φακών. Ανακίνησε ήπια το ποτήρι.

Βήμα 5^ο

Προσθέτουμε 1mL (20 σταγόνες) διαλύματος χλωριούχου νατρίου

Βήμα 6^ο

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

Βήμα 7^ο

Αφήνουμε το ποτήρι για 5 λεπτά στον εργαστηριακό πάγκο.

Βήμα 8^ο

Μεταφέρουμε προσεχτικά το διάλυμα σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα.

Βήμα 9^ο

Ο καθηγητής σου προσθέτει 5mL παγωμένης αιθανόλης στο δοκιμαστικό σωλήνα (υπό κλίση) με προσοχή, ώστε να δημιουργηθούν δύο στιβάδες.

Βήμα 10^ο

Μικρές φυσαλίδες ενωμένες με άσπρα «νημάτια» θα πάνε προς την κορυφή του σωλήνα περνώντας στη φάση της αλκοόλης. Αυτά είναι το δικό σου DNA!

Βήμα 11^ο

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

Το DNA σου είναι δικό σου. Μπορείς να το κρατήσεις !

Μπορείς με ένα καλαμάκι 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 x 20 και x 40. Είτε να θέσεις λίγο από το DNA σε αντικειμενοφόρο πλάκα, να ρίξεις μία σταγόνα (προσοχή: πολύ μικρή ποσότητα) χρωστικής (βάφει εκλεκτικά τη χρωματίνη) που θα σου δώσει ο καθηγητής σου. Μετά από 2 λεπτά σκέπασέ το με καλυπτρίδα και παρατήρησε στο μικροσκόπιο x10 και x20. Κυρίαρχο συστατικό των «κοκκίων» που βλέπεις είναι το DNA σου!

Προετοιμασία διαλυμάτων εκχύλισης:

Διάλυμα NaCl : Προσθήκη 8g NaCl σε 92 mL αποσταγμένου νερού

Διάλυμα σαπουνιού: Προσθήκη 25 mL υγρό σαπουνι σε 75 mL νερού.

H. Γιασεμής, Βιολόγος, MSc, PhD

ΦΥΛΛΟ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΜΑΘΗΤΗ

Στην εργαστηριακή άσκηση «Απομόνωση νουκλεϊνικών οξέων»

Όνοματεπώνυμο:

Τμήμα:

Ημερομηνία:

Ερωτήσεις στη διαδικασία που ακολουθήθηκε :

1.. Γιατί χρησιμοποιούμε παγωμένη αλκοόλη;

.....
.....

2. Γιατί χρησιμοποιούμε μαγειρικό αλάτι και απορρυπαντικό στο διάλυμα εκχύλισης;

.....
.....

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

.....
.....

Κι άλλες ερωτήσεις:

- Γιατί χρησιμοποιούμε υγρό καθαρισμού φακών ;
- Γιατί το διάλυμα εκχύλισης πρέπει να είναι κρύο;
- Μπορεί το υλικό που πήραμε με την παραπάνω διαδικασία να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση ή διάγνωση:
 - Του συνδρόμου Down
 - Του συνδρόμου Klinefelter
 - Του RNA του ιού HIV
 - Της ομόζυγης β-θαλασαιμίας
 - Της χρωμοσωμικής ανωμαλίας που προκαλεί το σύνδρομο Cri du chat
- Στο κυτταρόπλασμα των ευκαρυωτικών κυττάρων αποδεδειγμένα μπορούν να δράσουν ένζυμα που διασπών το DNA (νουκλεάσες). Τα ένζυμα αυτά διασπών ξένο DNA που μπορεί να εισέλθει στο κύτταρο. Παρόλα αυτά, σε αρκετές περιπτώσεις, το ξένο DNA δεν διασπάται και προλαβαίνει να εισέλθει στον πυρήνα του κυττάρου, όπου και προστατεύεται. Να προτείνεις μια δόκιμη εξήγηση γιατί αυτό συμβαίνει in vivo και όχι in vitro (όπως εδώ), όταν έχουν λυθεί οι κυτταρικές μεμβράνες.
- Τι συνιστά κατά τη γνώμη σου ένα μόριο DNA;