

Ε.Ο.Ε.Σ. 2024

ΕΚΦΕ ΗΛΙΟΥΠΟΛΗΣ

Ευρωπαϊκός Μαθητικός Διαγωνισμός Πειραμάτων – Ε.Ο.Ε.Σ. 2024

Τοπικός διαγωνισμός στη Βιολογία

Ημερομηνία 9/12/2023

Ομάδα:

ΣΧΟΛΕΙΟ:

Μαθητές: α).....

β).....

γ).....

Επιστημονική επιτροπή: Κατερίνα Κασσελά

Κωνσταντίνα Πανουτσοπούλου

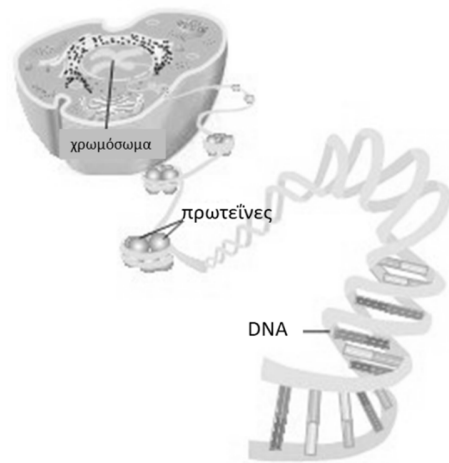
Απομόνωση DNA από φυτικά κύτταρα μπανάνας

Στόχοι:

- Απομόνωση και παρατήρηση DNA
- Εξοικείωση με εργαστηριακές διαδικασίες
- Διαπίστωση ύπαρξης DNA σε φρούτα

Θεωρητικό υπόβαθρο:

Τα νουκλεϊκά οξέα είναι βιολογικά μακρομόρια που αποτελούνται από δομικά στοιχεία που ονομάζονται νουκλεοτίδια. Υπάρχουν δύο κύρια είδη νουκλεϊκών οξέων: το RNA (ριβονουκλεϊκό οξύ) και το DNA (δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ). Το DNA στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς είναι γραμμικό μόριο. Επειδή το μήκος του είναι πολύ μεγάλο (2 m μέσα σε κάθε ανθρώπινο σωματικό κύτταρο) πακετάρεται με την βοήθεια πρωτεϊνών, τις ιστόνες, δίνοντας χαρακτηριστικές δομές, τα ινίδια χρωματίνης ή τα χρωμοσώματα (ανάλογα με τη φάση του κυτταρικού κύκλου στην οποία απαντούν). Η παρατήρηση της δομής του DNA είναι εφικτή σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, έπειτα από ειδική χρώση.



Δομή DNA

Η μακροσκοπική παρατήρηση του DNA απαιτεί, μεταξύ άλλων χρήση υγρού απορρυπαντικού πιάτων (καταστρέφει λίπη), αλατιού (NaCl), υγρού φακών (περιέχει ένζυμα που διασπούν πρωτεΐνες) και παγωμένης αιθανόλης. Τα θετικά ιόντα του αλατιού εξουδετερώνουν τις αρνητικές φωσφορικές ομάδες του DNA, με αποτέλεσμα τα μόρια του DNA να εμφανίζουν την τάση να συσσωματώνονται. Η χρήση αιθανόλης συμβάλλει στο διαχωρισμό του DNA από τα υπόλοιπα συστατικά του κυτταρικού εκχυλίσματος, ενώ η χαμηλή θερμοκρασία αυτής εμποδίζει την επαναδιάλυση του DNA. Το DNA μπορεί να σχηματίσει ίνες στην αιθανόλη, καθώς οι υδρόφοβες αζωτούχες βάσεις των νουκλεϊκών οξέων έλκονται από το υδρόφοβο τμήμα της αιθανόλης. Το DNA στην αιθανόλη γίνεται ορατό ως άσπρο νεφέλωμα και μπορεί να απομακρυνθεί με μια πιπέτα παστέρ ή μια οδοντογλυφίδα.

Όργανα και υλικά

1. Ύαλος ωρολογίου
2. Τρυβλίο Πετρί
3. Μαχαίρι
4. Χωνί
5. Υδατόλουτρο
6. Ποτήρια ζέσεως
7. Δηθητικό χαρτί
8. Υγρό απορρυπαντικό πιάτων
9. Ηλεκτρονικός ζυγός
10. Μαγειρικό αλάτι
11. Απιονισμένο νερό
12. Ογκομετρικοί κύλινδροι
13. Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες
14. Γυάλινη ράβδος ανάδευσης
15. Διάλυμα υγρού φακών
16. Παγωμένη αιθανόλη
17. Αντικειμενοφόρος πλάκα
18. Καλυπτρίδα
19. Ξύλινα καλαμάκια
20. Μικροσκόπιο
21. Μπανάνα

Πειραματική διαδικασία:

Βήμα 1:

- Να κόψετε τη μπανάνα σε μικρά κομμάτια και να την τοποθετήσετε σε ένα τρυβλίο Πετρί.
- Να πολτοποιήσετε τη μπανάνα με τη βοήθεια ενός κουταλιού.
- Να προσθέσετε σε ποτήρι ζέσεως 100 mL απιονισμένου νερού.
- Να ζυγίσετε 3 g αλάτι με τον ηλεκτρονικό ζυγό.

✓ Να ενημερώσετε τον επιτηρητή να ελέγξει τη χρήση ηλεκτρονικού ζυγού

- Να προσθέσετε το αλάτι στο ποτήρι ζέσεως με το απιονισμένο νερό, αναδεύοντας μέχρι να διαλυθεί πλήρως.
- Να προσθέσετε 10 mL υγρό απορρυπαντικό πιάτων στο ποτήρι ζέσεως με το αλατόνερο για να φτιάξετε το διάλυμα εκχύλισης και να αναδεύσετε με γυάλινη ράβδο, προσεκτικά να μην δημιουργηθεί αφρός.
- Να προσθέσετε στο διάλυμα εκχύλισης την πολτοποιημένη μπανάνα.
- Να ομογενοποιήσετε το μίγμα με τη βοήθεια ενός κουταλιού, προσεκτικά να μην δημιουργηθεί αφρός.

✓ Αφού ολοκληρωθεί το βήμα 1, να ενημερώσετε τον επιτηρητή να αξιολογήσει τη διαδικασία.

Βήμα 2:

- Να διηθήσετε το ομογενοποιημένο υλικό με τη βοήθεια διηθητικού χαρτιού και χωνιού.

✓ Να ενημερώσετε τον επιτηρητή να αξιολογήσει τη διαδικασία.

- Να τοποθετήσετε ένα ποτήρι ζέσεως με το διήθημα σε υδατόλουτρο (60 °C) για 10 λεπτά. (Ενώ περιμένετε, να απαντήσετε τις ερωτήσεις 1 και 2.)
 - Να μεταφέρετε μέρος του διηθήματος σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα ώστε να γεμίσει κατά το 1/3. Να προσθέσετε 2-3 σταγόνες υγρού φακών σε κάθε σωλήνα και να αναδεύσετε με μια γυάλινη ράβδο με προσοχή.
 - Κρατώντας υπό κλίση τον δοκιμαστικό σωλήνα αφήστε να κυλίσει αργά και προσεκτικά στο τοίχωμα του σωλήνα παγωμένη αιθανόλη, ώστε να σχηματισθεί ένα στρώμα αιθανόλης πάνω από το διήθημα και ο σωλήνας να γεμίσει κατά τα 2/3. Να τοποθετήσετε τον δοκιμαστικό σωλήνα στο στήριγμα και να περιμένετε 2-3 λεπτά.
- ✓ Να ενημερώσετε τον επιτηρητή να αξιολογήσει τη διαδικασία.

Βήμα 3:

- Με ένα ξύλινο καλαμάκι, να συλλέξετε τμήμα από το DNA που απομονώθηκε.
 - Να τοποθετήσετε το δείγμα σε αντικεμενοφόρο πλάκα και να ετοιμάσετε ένα νωπό παρασκεύασμα με το απομονωμένο DNA.
 - Να παρατηρήσετε το παρασκεύασμα στο μικροσκόπιο (μεγεθύνσεις 4X, 10X και 40X).
- ✓ Να ενημερώσετε τον επιτηρητή να αξιολογήσει τη διαδικασία.

Βήμα 4:

- Να καθαρίσετε τους πάγκους εργασίας σας.
- Να απαντήσετε στις ερωτήσεις.

Ερώτηση 1. Σε τι χρησιμεύει η προσθήκη του υγρού απορρυπαντικού πιάτων στη διαδικασία απομόνωσης του DNA;

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

Ερώτηση 2. Για ποιο λόγο διηθούμε το ομογενοποίημα;

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

Ερώτηση 3. Σε τι χρησιμεύει η προσθήκη υγρού φακών;

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

Ερώτηση 4. Από ποιο οργανίδιο του κυττάρου προέρχεται κυρίως το DNA που απομονώσατε;

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Ερώτηση 5. Να περιγράψετε τι παρατηρείτε στο μικροσκόπιο. Είναι εμφανής ή όχι η δομή του DNA και γιατί;

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Καλή επιτυχία!

	Μονάδες	Βαθμολογία
Βήμα 1°		
Ζύγιση αλατιού	10	
Ομογενοποίηση δείγματος	10	
Βήμα 2°		
Διήθηση	10	
Απομόνωση DNA	15	
Βήμα 3°		
Προετοιμασία νωπού παρασκευάσματος	10	
Χρήση μικροσκοπίου	10	
Βήμα 4°		
Συνεργασία ομάδας	5	
Καθαρισμός πάγκου	5	
Απαντήσεις ερωτήσεων		
Ερώτηση 1	5	
Ερώτηση 2	5	
Ερώτηση 3	5	
Ερώτηση 4	5	
Ερώτηση 5	5	
ΣΥΝΟΛΟ	100	