

Άσκηση για τους μαθητές: Απομονώνοντας το δικό σας DNA

Μεταφρασμένο από τον Κωνσταντίνο Μιχαλοδημητράκη

Υλικά

- Μικροπιπέτες ή βαθμονομημένα (graduated) σιφώνια μέτρησης
Εάν δεν έχετε μικροπιπέτες, μπορείτε να χρησιμοποιήσετε διακριβωμένα (calibrated) / βαθμονομημένα πλαστικά σιφώνια μιας χρήσης. Σε αυτά τα σιφώνια ο «άξονας» είναι βαθμονομημένος, επιτρέποντας όγκους μικρότερους του 1 ml να μεταφέρονται με αρκετή ορθότητα για αυτό το πείραμα.
- Βρόχους καλλιέργειας (culture loops) μιας χρήσης ή με στοματικά μάκτρα (buccal swabs)
- Ένα μικρό σωλήνα Falcon ή ένα δοκιμαστικό σωλήνα με πώμα ή καπάκι
Οι σωλήνες Falcon είναι βαθμονομημένοι δοκιμαστικοί σωλήνες με βιδωτά καπάκια. Εάν δεν έχετε, απλώς χρησιμοποιήστε κανονικούς δοκιμαστικούς σωλήνες.
- Υδατόλουτρο στους 40°C (προαιρετικό)
- Απολυμαντικό διάλυμα
- Διάλυμα λύσης
- Διάλυμα πρωτεΐνάσης K
- Διάλυμα οξικού νατρίου
- Κρύα αιθανόλη ή ισοπροπυλική (για τριβές) αλκοόλη (κρατήστε την στον καταψύκτη μέχρι να χρειαστεί)

Μέθοδος

1. Τοποθετήστε 1 ml διαλύματος λύσης στον δικό σας σωλήνα Falcon ή δοκιμαστικό σωλήνα.
2. Εύστε ζωηρά με ένα βρόχο ή μάκτρο το εσωτερικό των μάγουλων σας και κατά μήκος την γλώσσα σας.
3. Τοποθετήστε τον βρόχο ή το μάκτρο στο διάλυμα λύσης και ανακατέψτε ώστε να αποκολληθούν τα κύτταρά σας.
4. Τοποθετήστε τον βρόχο σας ή το μάκτρο σας στο απολυμαντικό.
5. Επαναλάβετε τα βήματα 2-4 δύο ακόμα φορές για να βεβαιωθείτε ότι παίρνετε πολλά κύτταρα. **Χρησιμοποιήστε κάθε φορά καινούργιο βρόχο ή μάκτρο.**
6. Προσθέστε 20 µl (ή 1 σταγόνα εάν χρησιμοποιείτε σιφώνια) πρωτεΐνάσης K στον σωλήνα σας.
7. Κλείστε τον σωλήνα και αναστρέψτε τον δύο ή μερικές φορές για να αναμειχθούν.

Υποστηρικτικό υλικό για:

McLusky S, Malagrida R, Valverde L (2013) Η γενετική της παχυσαρκίας: μία εργαστηριακή άσκηση. *Science in School* **26**.
www.scienceinschool.org/2013/issue26/obesity/greek

8. Επωάστε το μίγμα στο υδατόλουτρο ή σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.
9. Προσθέστε 100 ml οξικού νατρίου.
10. Κλείστε τον σωλήνα σας και ανακινήστε καλά για να αναμειχθούν.
11. Προσθέστε 3 ml κρύας αιθανόλης.
12. Κλείστε τον σωλήνα και αναστρέψτε τον πολύ αργά για να αναμειχθούν.
13. Το DNA σας πρέπει να εμφανιστεί ως ένα υπόλευκο νηματώδες ίζημα.

Σημείωση για την ασφάλεια:

Τα διαλύματα μπορεί να ερεθίσουν τα μάτια και το δέρμα, για αυτό να φοράτε εργαστηριακή ποδιά, γυαλιά ασφαλείας και γάντια. Το σάλιο μπορεί να μεταφέρει ασθένειες· χειριστείτε μόνο τους δικούς σας βρόχους ή μάκτρες και τοποθετήστε χρησιμοποιημένα αντικείμενα στο απολυμαντικό.

Απορριψη υλικών: τα υγρά μπορούν να χυθούν στον νεροχύτη ενώ ταυτόχρονα να τρέχει πολύ νερό. Χρησιμοποιημένοι βρόχοι και μάκτρες μπορούν να πεταχτούν με τα απλά απορρίμματα μετά από απολύμανση διάρκειας 15 λεπτών.

Ερωτήσεις για συζήτηση

- Τι σημαίνει «λύση»; Πώς βοηθάει αυτή στην απομόνωση του DNA;
- Το ρυθμιστικό διάλυμα λύσης περιέχει ένα απορρυπαντικό που ονομάζεται SDS. Με βάση τις γνώσεις σας για την κυτταρική δομή, τι νομίζετε ότι κάνει το απορρυπαντικό;
- Μέσα στα κύτταρα, το DNA είναι σφιχτά συσπειρωμένο και δεσμευμένο σε μία ποικιλία πρωτεϊνών. Ποιο βήμα βοηθά στην απελευθέρωση του DNA από τις πρωτεΐνες;
- Τι σας λέει το τελευταίο στάδιο για την διαλυτότητα του DNA στο νερό με άλατα και στην αιθανόλη;
- Πώς θα μπορούσατε να επιβεβαιώσετε ότι το λευκό ίζημα είναι όντως DNA;

Επιπλέον ασκήσεις

- Συγκρίνετε αυτή τη μέθοδο απομόνωσης DNA με απλούστερες μεθόδους χρησιμοποιώντας κατεψυγμένα μπιζέλια (Madden, 2006) ή ακτινίδια^{w2}. Σε τι διαφέρουν; Ποια λειτουργεί καλύτερα; Μπορείτε να βρείτε ποια μέθοδος είναι πιο κοντά σε αυτή που χρησιμοποιούν οι επαγγελματίες γενετιστές;
- Απομονώνοντας απλώς το DNA κάποιου δεν είναι αρκετό για να πεις εάν έχει προδιάθεση για παχυσαρκία. Τι άλλες εξετάσεις θα έπρεπε να γίνουν; Μάθετε περισσότερα για τις τεχνικές που χρησιμοποιούνται στη γενετική έρευνα.
- Σε πολλές χώρες, γονείς που είναι φορείς σοβαρών γενετικών παθήσεων όπως η κυστική ίνωση ή η αιμοφιλία μπορούν να επιλέξουν να κάνουν διαγνωστικές γενετικές εξετάσεις πριν την εμφύτευση γονιμοποιημένου ωαρίου. Πιστεύετε ότι αυτή η διαδικασία θα έπρεπε να είναι διαθέσιμη για γονείς που έχουν γενετική προδιάθεση για παχυσαρκία; Συμφωνούν μαζί σας οι συμμαθητές σας;

Υποστηρικτικό υλικό για:

McLusky S, Malagrida R, Valverde L (2013) Η γενετική της παχυσαρκίας: μία εργαστηριακή άσκηση. *Science in School* **26**.
www.scienceinschool.org/2013/issue26/obesity/greek