

20 ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΠΟΥ ΣΥΝΑΝΤΑΜΕ ΠΙΟ ΣΥΧΝΑ !

Κάποιο Πρόβλημα;

- 1. Μου φαίνεται ότι δεν βλέπω το DNA. Τι είναι αυτό που πρέπει να ψάξω;***

Κοίτα πιο κοντά. Το DNA σου μπορεί να αιωρείται ανάμεσα στα δύο στρώματα: της αλκοόλης, και της σούπας του αρακά. Βοήθησε το DNA ν' ανεβεί στη κορυφή του στρώματος της αλκοόλης. Βάλε ένα ξυλάκι στη σούπα του αρακά και αργά-αργά τράβηξε το μέσα στην αλκοόλη. Επίσης, κοίτα πολύ κοντά στην αλκοόλη για μικρούτσικες φυσαλίδες. Ακόμα κι αν η παραγωγή του DNA είναι πολύ μικρή, κομματάκια DNA μπορεί να βρίσκονται χαλαρά προσκολλημένα στις φυσαλίδες.

- 2. Τι μπορώ να κάνω για ν' αυξήσω τη παραγωγή του DNA;***

Άσε περισσότερο χρόνο για τη συμπλήρωση κάθε βήματος. Βεβαιώσου ότι το απορρυπαντικό δρα τουλάχιστον πέντε λεπτά. Αν οι μεμβράνες, κυτταρική και πυρηνική είναι ακόμα άθικτες, το DNA θα κολλήσει στο κάτω στρώμα (στη σούπα). Ή, άφησε το δοκιμαστικό σωλήνα (ή ποτήρι) με το μίγμα της σούπας του αρακά και την αλκοόλη να παραμείνουν ήσυχα για 30 με 60 λεπτά. Καθώς περνά ο χρόνος μπορεί να δείτε περισσότερο DNA να καθιζάνει μέσα στην αλκοόλη.

Διατηρήστε όλο το σύστημα κρύο. Χρησιμοποιήστε παγωμένο νερό και παγωμένη αλκοόλη. Αυτό θ' αυξήσει την παραγωγή DNA. Το παγωμένο νερό προστατεύει το DNA επιβραδύνοντας τη δράση ενζύμων που μπορεί να το σπάσουν σε κομμάτια. Η κρύα αλκοόλη βοηθά το DNA να καθιζήσει (να στερεοποιηθεί και να εμφανιστεί) πιο γρήγορα.

Βεβαιώσου ότι ξεκίνησες με αρκετή ποσότητα DNA. Πολλά τρόφιμα, πηγές DNA, όπως τα σταφύλια, περιέχουν μεγάλη ποσότητα νερού. Αν η σούπα στο μίξερ είναι πολύ νερούλη, δεν θα υπάρχει πολύ DNA για να το δεις. Γι αυτό πήγαινε ξανά στο Πρώτο Βήμα κι αυτή τη φορά πρόσθεσε λιγότερο νερό. Η κυτταρική σούπα πρέπει να είναι αδιαφανής, δηλαδή να μη βλέπεις ανάμεσά της.

Που βρίσκεται η Επιστήμη πίσω από αυτό το πρωτόκολλο.

- 3. Γιατί προσθέτω αλάτι; Σε τι χρησιμεύει;***

Το αλατόνερο βοηθά το DNA να καθιζήσει (να στερεοποιηθεί και ν' εμφανιστεί) όταν προσθέτουμε την αλκοόλη.

- 4. Γιατί το κρύο νερό είναι καλύτερο από το ζεστό για την εξαγωγή του DNA;***

Learn Genetics

GENETIC SCIENCE LEARNING CENTER at the Eccles Institute of Human Genetics
THE UNIVERSITY OF UTAH

Το κρύο νερό βοηθά στο να μείνει άθικτο το DNA κατά τη διαδικασία της εξαγωγής του. Πώς; Το κρύο περιβάλλον επιβραδύνει τη δράση των ενζύμων. Αυτό προστατεύει το DNA από ένζυμα που μπορεί να το καταστρέψουν.

Γιατί ένα κύτταρο περιέχει ένζυμα που καταστρέφουν το DNA; Αυτά ειδικά τα ένζυμα είναι παρόντα στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου (όχι στο πυρήνα) για να καταστρέφουν το DNA των ιών που μπορεί να προσβάλουν τα κύτταρα μας και να προξενήσουν ασθένειες. Το DNA κάθε κυττάρου (μέσα στο πυρήνα) συνήθως προστατεύεται από τέτοια ένζυμα (τις DNάσες) από την πυρηνική του μεμβράνη. Όμως προσθέτοντας το απορρυπαντικό καταστρέφεται αυτή η μεμβράνη.

5. Πώς σπάει το κυτταρικό τοίχωμα των φυτικών κυττάρων;

Σπάει από τη κίνηση και τη φυσική δύναμη που ασκεί το μίξερ.

6. Ποια ένζυμα βρίσκονται στο καρύκευμα που μαλακώνει το κρέας;

Υπάρχουν δύο κυρίως ένζυμα η Bromelain και η Papain που εξάγονται από τον ανανά (γι αυτό εμείς χρησιμοποιήσαμε χυμό ανανά) και τη παπάγια αντίστοιχα. Και τα δύο είναι πρωτεολυτικά ένζυμα, δηλαδή σπάνε τις πρωτεΐνες. Το υγρό καθαρισμού των φακών επαφής επίσης περιέχει πρωτεολυτικά ένζυμα που αφαιρούν τις πρωτεΐνες που επικάθονται στους φακούς. Τα ένζυμα αυτά είναι το Subtilisin A που φτιάχνεται από βακτήρια και η Πανκρεατίνη που παράγεται απ' το πάγκρεας χοίρων.

7. Πόσο χυμό ανανά ή διάλυμα υγρού φακών επαφής να χρησιμοποιήσω για ν' αντικαταστήσω το καρύκευμα που μαλακώνει το κρέας;

Χρειάζεσαι μια ή δύο σταγόνες, διότι ελάχιστο ένζυμο θα δρα για πάρα πολύ. Τα ένζυμα δρουν γρήγορα και είναι πολύ ισχυρά.

8. Πως τα κομμάτια του DNA κολλάνε μεταξύ τους;

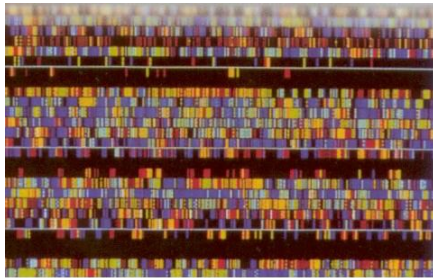
Το DNA καθιζάνει με τη παρουσία της αλκοόλης, που σημαίνει ότι δεν διαλύεται στην αλκοόλη. Αυτό κάνει τα κομμάτια του DNA να κολλάνε μεταξύ τους όταν αυτό βρίσκεται σε αφθονία. Και, συνήθως, τα κύτταρα περιέχουν αρκετό DNA.

Για παράδειγμα κάθε κύτταρο του ανθρώπινου σώματος περιέχει 46 χρωμοσώματα (ή 46 μόρια DNA). Αν ενωθούν αυτά τα μόρια DNA άκρη με άκρη, κάθε κύτταρο θα περιέχει περίπου δύο μέτρα DNA! Όταν το ανθρώπινο σώμα είναι φτιαγμένο από 100 τρισεκατομμύρια κύτταρα που το καθένα περιέχει δύο μέτρα DNA, τα σώματα μας περιέχουν περισσότερο από δύο δισεκατομμύρια χιλιόμετρα DNA!

Learn Genetics

GENETIC SCIENCE LEARNING CENTER at the Eccles Institute of Human Genetics
THE UNIVERSITY OF UTAH

9. Πως είμαστε βέβαιοι ότι το άσπρο νηματοειδές πράγμα, είναι DNA;



Υπάρχει ένα πρωτόκολλο που σου επιτρέπει να χρωματίσεις τα νουκλεϊκά οξέα (εξ' ου και ο όρος χρωμόσωμα) αλλά τα αντιδραστήρια θα πρέπει να τα χειρίζεται ένας καθηγητής ή κάποιος ενήλικος. Έτσι για την ώρα, δέξου ότι τα μόρια που καθιζάνουν στην αλκοόλη είναι νουκλεϊκά οξέα.

10. Στη πραγματικότητα, το άσπρο νηματώδες πράγμα δεν είναι ένα μίγμα DNA και RNA ;

Αυτό είναι σωστό. Η διαδικασία εξαγωγής DNA στη πραγματικότητα είναι διαδικασία για εξαγωγή νουκλεϊκών οξέων. (Απλά το DNA βρίσκεται σε υπερπολλαπλάσια ποσότητα από το RNA).

11. Πόσο θα διατηρηθεί το DNA μου; Θα αποσυντεθεί και θα χαθεί με τη πάροδο του χρόνου;

Το DNA σου μπορεί να διατηρηθεί για χρόνια αν το φυλάξεις σ' ένα δοχείο με αλκοόλη, σφιχτά κλεισμένο. Αν κουνηθεί, τα νημάτια του DNA θα σπάσουν σε μικρότερα κομμάτια, κι έτσι θα είναι πιο δύσκολο να τα δεις. Αν εξαφανιστεί θα είναι διότι πιθανόν υπάρχουν κάποια ένζυμα ακόμα που τεμαχίζουν το DNA στο δείγμα σου.

Χρησιμοποιώντας πιο εξειδικευμένα αντιδραστήρια στο εργαστήριο, είναι δυνατή η εξαγωγή πολύ καθαρού δείγματος DNA . Το DNA που παραλαμβάνεται με αυτό τον τρόπο, στη πραγματικότητα είναι πολύ σταθερό και θα παραμείνει άθικτο για μήνες ή χρόνια.

Συγκρίνοντας το DNA που παράχθηκε από διαφορετικούς τύπους κυττάρων

12. Επηρεάζει αισθητά ο αριθμός των χρωμοσωμάτων τη μάζα του DNA που θα δω;

Τα κύτταρα με περισσότερα χρωμοσώματα περιέχουν σχετικά περισσότερο DNA, αλλά η διαφορά πιθανόν να μην είναι αισθητή στο μάτι. Η ποσότητα του DNA που βλέπεις εξαρτάται περισσότερο από το λόγο του DNA προς τον όγκο των κυττάρων.

Για παράδειγμα, τα σπέρματα των φυτών μας δίνουν πολύ DNA διότι περιέχουν πολύ λίγο νερό στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου. Δηλαδή έχουν μικρό όγκο. Έτσι υπάρχει σχετικά υψηλή συγκέντρωση DNA. Δεν χρειάζεται λοιπόν να χρησιμοποιήσεις πάρα πολλά σπέρματα για να πάρεις πολύ DNA.

Learn Genetics

GENETIC SCIENCE LEARNING CENTER at the Eccles Institute of Human Genetics
THE UNIVERSITY OF UTAH

13. Γιατί χρησιμοποιούμε αρακά σ' αυτό το πείραμα; Είναι η καλύτερη πηγή DNA;

Ο αρακάς είναι μια καλή πηγή DNA επειδή αποτελείται από σπέρματα. Εδώ χρησιμοποιήθηκε ο αρακάς και για ιστορικούς λόγους. Ο πατέρας της γενετικής, Gregor Mendel, έκανε τα πειράματα του χρησιμοποιώντας φυτά μοσχομπίζελου (αρακά).

14. Διαφέρουν τα αποτελέσματα του πειράματος αν χρησιμοποιήσουμε ζωικά κύτταρα αντί των φυτικών;

Το μόριο του DNA είναι δομικά το ίδιο σε όλα τα έμβια όντα, συμπεριλαμβανομένων των φυτών και των ζώων. Παρ' όλα αυτά, το αποτέλεσμα του πρωτοκόλλου εξαγωγής DNA ίσως φανούν λιγάκι διαφορετικά ανάλογα με τη πηγή του DNA (φυτό ή ζώο). Για παράδειγμα, μπορεί να υπάρξουν περισσότεροι ρύποι (πρωτεΐνες, υδατάνθρακες) κάνοντας το DNA να φαίνεται λιγότερο νηματώδες, ή να ποικίλει η ποσότητα του DNA που καθιζάνει.

15. Τι υλικό θα μπορούσα να χρησιμοποιήσω για να πάρω DNA από ζωικά κύτταρα;

Καλές πηγές DNA από ζωικά κύτταρα είναι τα σηκωτάκια κοτόπουλου, ο θύμος αδένας μοσχαριού (λιγάκι δυσεύρετο στην αγορά), το κρέας και τ' αυγά (από κοτόπουλο ή ψάρι).

16. Γιατί ο αρακάς χρειάζεται ένζυμο, αλλά τα κλωνιά του σιταριού όχι;

Στο εργαστήριο έγιναν πολλές δοκιμές με αρακά και σιτάρι. Δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές διαφορές στην ποσότητα του DNA που προέκυψε είτε χρησιμοποιήθηκε ένζυμο (καρύκευμα για να μαλακώνει το κρέας) είτε όχι. Έτσι στην εξαγωγή DNA από σιτάρι δεν το χρησιμοποιήσαμε, ενώ στην αντίστοιχη περίπτωση με τον αρακά το βάλαμε για πλάκα.

Παρ' όλα αυτά, ακόμα κι αν δεν είναι απαραίτητο το ένζυμο, μπορεί να επιτελεί κάτι που δεν μπορούμε να δούμε. Για παράδειγμα, ίσως χρησιμοποιώντας ένζυμο, είμαστε σε θέση να πάρουμε ένα πιο καθαρό δείγμα DNA, που να περιέχει λιγότερους ρύπους πρωτεΐνης.

Εφαρμογές στη πραγματική ζωή της επιστήμης της εξαγωγής του DNA

17. Μπορούμε να εξάγουμε ανθρώπινο DNA χρησιμοποιώντας αυτό το πρωτόκολλο;

Θεωρητικά, ναι. Πρακτικά απαιτούνται τα ίδια υλικά, αλλά το πρωτόκολλο θα πρέπει να προσαρμοστεί στα κατάλληλα μέτρα (χρήση μικρότερου όγκου νερού, απορρυπαντικού και αλκοόλης). Κι αυτό διότι δεν είναι δυνατόν να αρχίσεις το πείραμα με $\frac{1}{2}$ φλιτζάνι ανθρώπινων κυττάρων. Δηλαδή η ποσότητα DNA που θα προκύψει θα είναι τόσο μικρή που δεν θα φαίνεται με γυμνό μάτι. Αν ήθελες να το δεις θα έπρεπε να φυγοκεντρίσεις το μικρό δείγμα του DNA ώστε να επικαθίσει στο πάτο του δοκιμαστικού σωλήνα.

Η επιμέλεια και μετάφραση του κειμένου έγινε από το Νίκο Αλιφιεράκη, Βιολόγο, B.Sc., 4 M.Sc., καθηγητή στη Δευτεροβάθμια Εκπαίδευση του Νομού Κέρκυρας.

Learn Genetics

GENETIC SCIENCE LEARNING CENTER at the Eccles Institute of Human Genetics
THE UNIVERSITY OF UTAH

18. Τι θα μπορούσα να κάνω με το DNA που συνέλεξα;

Αυτό το δείγμα, για παράδειγμα, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για ηλεκτροφόρηση μέσω γέλης (gel electrophoresis), αλλά το μόνο που θα έβλεπες θα ήταν ένα επίχρισμα. Το DNA που συνέλεξες είναι γενομικό, δηλαδή έχεις τη συνολική συλλογή DNA από κάθε κύτταρο. Αν δεν κόψεις το DNA με περιοριστικά ένζυμα, είναι πολύ μακρύ και ινώδες για να περάσει μέσα απ' τους πόρους της γέλης.

Κάποιος επιστήμονας με ένα εργαστηριακά καθαρό δείγμα DNA θα μπορούσε ίσως να το χρησιμοποιήσει στη τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR). Αλλά το δικό σου δείγμα δεν είναι αρκετά καθαρό για να εφαρμοστούν αυτά τα πειράματα.

19. Σε τι χρησιμεύει η εξαγωγή του DNA στους επιστήμονες; Πότε χρησιμοποιούν αυτό το πρωτόκολλο, και γιατί είναι τόσο σπουδαίο;

Η εξαγωγή του DNA από ένα κύτταρο, συχνά είναι το πρώτο βήμα των επιστημόνων που θέλουν να απομονώσουν και να μελετήσουν ένα γονίδιο. Η συνολική ποσότητα του DNA χρησιμοποιείται για να φτιαχτούν αντίγραφα (κλώνοι), ειδικά ενός γονιδίου. Αυτοί οι κλώνοι μπορούν να απομονωθούν από το συνολικό κυτταρικό DNA, ώστε να μελετηθεί η λειτουργία αυτού ειδικά του γονιδίου.

Μόλις μελετηθεί το γονίδιο, το γενομικό DNA που λαμβάνεται από κάποιον άνθρωπο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση κάποιας γενετικής ασθένειας. Εναλλακτικά το γενομικό DNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μαζική παραγωγή ενός γονιδίου ή μιας πρωτεΐνης για τη θεραπεία κάποιας ασθένειας. Αυτή η τελευταία εφαρμογή απαιτεί τεχνικές που αναφέρονται ως τεχνολογία ανασυνδιασμένου DNA ή γενετική μηχανική.

20. Μπορώ με τη χρήση μικροσκοπίου να δω το DNA που συνέλεξα;

Δυστυχώς, μ' ένα μικροσκόπιο δεν μπορείς να δεις τη δομή της διπλής έλικας του μορίου του DNA. Θα δεις μόνο μια μάζα πάρα πολλών μορίων DNA που είναι κολλημένα μεταξύ τους. Το πλάτος της διπλής έλικας ενός μορίου DNA είναι περίπου ένα δισεκατομμυριοστό του μέτρου! Είναι τόσο μικρό που δεν φαίνεται ούτε με το ισχυρότερο μικροσκόπιο. Έτσι χρησιμοποιείται η τεχνική της κρυσταλλογραφίας ακτίνων Χ (X-ray crystallography) για τη λήψη φωτογραφίας του μορίου του DNA. Μια τέτοια φωτογραφία που έβγαλε η Rosalind Franklin εξέταζαν οι James Watson και Francis Crick και μπόρεσαν να κατανοήσουν με τι μοιάζει το μόριο του DNA προτείνοντας το μοντέλο της διπλής έλικας.