

ЭКСПЕРИМЕНТ

«Выделение ДНК из лука»

Суть эксперимента

Простой и быстрый метод осаждения нуклеиновой кислоты (для простоты - ДНК), который позволяет видеть ДНК невооруженным глазом.

Ключевые слова

Генетика, ДНК, РНК, нуклеиновая кислота, выделение, лук

Необходимые материалы

- Половинка головки лука
- Поваренная соль (ложка)
- Спирт (>95% этанол) или изопропанол (несколько миллилитров, лучше, если он заморожен или, хотя бы, покрыт льдом)
- Средство для мытья посуды
- Ступка
- Маленькая воронка
- Фильтр для кофе, или бумажное полотенце, или одноразовая бумажная салфетка
- Зубочистка
- Вода
- Посуда: стакан или банка, маленький стаканчик или маленькая банка, пробирка или высокая узкая рюмка
- Лед
- Нож
- Разделочная доска
- Мисочка или небольшой горшочек
- Ложечка
- Льняная тряпочка
- Молоток или пестик

Безопасность

Эксперимент безопасен, но нельзя вдыхать пары алкоголя, особенно изопропанола.

Особые условия

Очень важно иметь доступ к холодильнику – эксперимент получается оптимально, если алкоголь сильно охлажден. Необходим также лед.

Реализация

1. Подготовка:

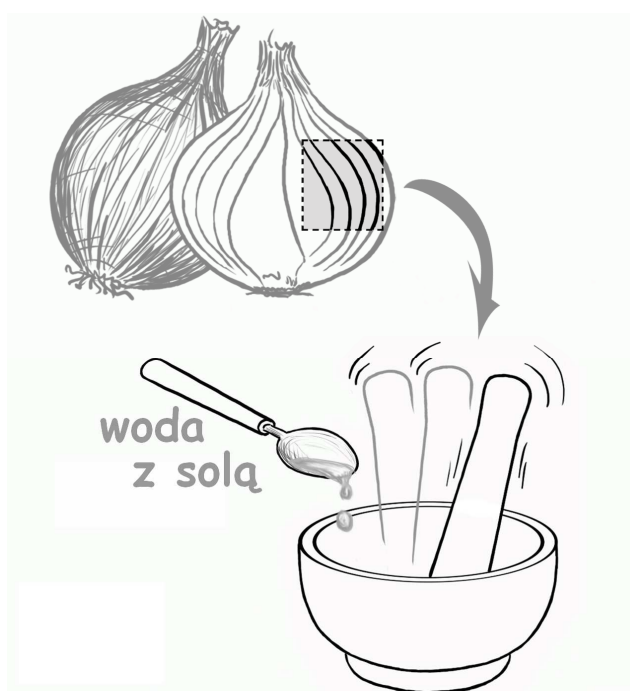
Растворить одну ложку поваренной соли (лучше не йодированной) приблизительно в 100 мл воды (немножко меньше половины стакана).

Несколько кубиков льда завернуть в льняную тряпочку, потолочь молотком на мелкие куски и насыпать в мисочку или маленький горшочек.

2. Процедура

Из средней части половинки головки лука вырезать кусок размером больше 3 см, при этом не прихватите ту часть, откуда растут корни. Изъятый кусочек лука надо нарезать на мелкие части и положить в ступку, добавить 2 ложки водного раствора соли и энергично тереть до получения однородной массы.

Полученную массу перенести в маленький стакан, добавить водный раствор соли в таком количестве, чтобы общий объем увеличился в два-три раза, добавить одну большую каплю средства для мытья посуды и тщательно перемешать. Стакан поставьте в миску со льдом так, чтобы уровень льда доходил до уровня жидкости в стакане. Подождите 5 минут, иногда помешивайте. Если через некоторое время в стакан опустите зубочистку, то заметите, что жидкость стала липкой.



Опустите воронку в пробирку (пробирку поместите в стеклянную банку или укрепите на штативе). Внутреннюю поверхность воронки выложите куском салфетки и слегка увлажните водой. Достаньте стакан из льда и вылейте из него жидкость в воронку. Подождите, пока в пробирке соберется фильтрат (достаточно, если столб жидкости достигнет высоты около 4 – 5 см). После этого осторожно вытащите воронку из пробирки, слегка наклоните ее. Уберите воронку, немножко наклоните и по стенке осторожно начните заливать охлажденный спирт, так, чтобы столбик спирта занял бы ту же высоту, что и столбик фильтрата. Поставьте пробирку и подождите, примерно, 2-3 минуты. Спирт останется в верхней части, а на стыке фаз можно увидеть процесс осаждения ДНК. Пробирку можно слегка наклонить и осторожно крутить вокруг вертикальной оси. ДНК образует маленькие нитеобразные белые хлопья. Их можно даже накрутить на зубочистку. Вытащите зубочистку из раствора и после просушки увидите, что ДНК стала невидимой. Она хорошо растворяется в воде.

Пояснения

RNA = ribonucleic acid, рибонуклеиновая кислота

DNA = Deoxyribonucleic acid, дезоксирибонуклеиновая кислота

В клетках живых организмов находится клеточное ядро, а в нем нуклеиновые кислоты, РНК и ДНК. Эти кислоты в химическом понимании отличаются друг от друга лишь содержанием кислорода (в ДНК рибоза лишена кислорода, потому она и называется дезоксирибозой - отсюда буква Д в названии ДНК). Хотя ДНК и РНК химически похожи друг на друга – они играют разные роли в клетке.

Примененный нами метод осаждения основан на химических свойствах этих соединений. На самом деле происходит выпадение в осадок как РНК, так и ДНК. Но для простоты процедуру называют осаждением ДНК.

Выделять нуклеиновые кислоты можно довольно легко, и процесс схож с процессом, протекающим в лабораторных условиях. Поясним суть каждого этапа процедуры:

Механическое давление на ткань: ткань необходимо раздавить до уровня клеток, а сами клетки, чтобы из них выделить ДНК должны распасться. Для этого наиболее адекватным является интенсивное механическое воздействие на ткань. Это особенно важно в случае растительных клеток, которые окружены толстой клеточной стенкой, и лишь механическое воздействие может разрушить их структуру.

Добавление детергента способствует разложению клеточных стенок, состоящих из липидов, а содержимое клетки переходит в раствор.

За разрушением клетки может последовать и деградация ДНК (распад на составные элементы и фрагментация). Для превенции этого процесса необходима низкая температура, которая подавляет активность белков (энзимов), деградирующих ДНК, а присутствие солей в растворе вызывает осаждения этих.

На салфетке остаются все ненужные элементы тканей – основное количество ДНК находится в фильтрате.

ДНК - это кислота, осадок которой имеет отрицательный электрический заряд. Благодаря этому ионы Na^+ выделенные из поваренной соли собираются вокруг молекулы ДНК. В насыщенном солевом растворе, если в нем имеется еще и этанол (алкоголь), ДНК меняет свою пространственную структуру, создает агрегаты (большие неупорядоченные комплексы) и выпадает в виде осадка. Эти агрегаты мы и видим в виде длинных нитей. Если алкоголь хорошо охлажден, процесс протекает достаточно эффективно.

ЗАМЕЧАНИЕ – длинные нити это не отдельные молекулы ДНК! Они слишком маленького размера, чтобы их увидеть без достаточно мощного микроскопа.

ДНК – это соединение, в структуре которого записана генетическая информация. Для прочтения этой информации необходимы молекулы РНК. В ДНК хранится информация о структуре всех клеточных белков (такие части ДНК мы называем генами). Однако гены составляют лишь небольшую часть ДНК (например, в клетках млекопитающих - лишь 3%), функцией остальной части является прочтение этой информации, обеспечение структуры ДНК, мультипликация генетической



Fundacja Partners Polska



информации, и ее передача материнским клеткам и т.д. Нуклеиновые кислоты вовлечены в регуляцию всех жизненных процессов клеток, а соответственно, всех тканей и организмов.

Альтернативные варианты

Для выделения ДНК можно использовать и другие растения, например, зерна пшеницы, клубнику, киви. Этот последний хорош и тем, что в его соке в больших количествах имеются перерабатывающие белок ферменты. В том числе и такие, которые в процессе осаждения ДНК могут вызвать и ее деградацию.

Необходимо учесть

Процедура достаточно проста, но для гарантированного получения результата ее надо повторить несколько раз.

Примечание: получаемый эффект достаточно хрупкий. То, что мы хотим увидеть, является весьма тонкой структурой, поэтому пробирку надо осматривать под соответствующим освещением.

Какие ошибки не должны быть допущены:

не надо брать много материала, так как это приведет к замедлению процесса его охлаждения. В случае головки лука, достаточно взять, примерно 1 см³ ткани; фильтр из бумажной салфетки может забиться. В таком случае ее надо осторожно вытащить из воронки (чтобы не профильтрованная масса не упала в фильтрат) и положить вместо нее новую салфетку; этап обработки тканей в ступке имеет ключевое значение, так как именно при этом процессе происходит разрушение структуры клеточной стенки. Чем интенсивнее и тщательнее проведем этот этап, тем больше ДНК выделится из ткани; необходимо обеспечить реальное охлаждение материала, т.е. уровень льда должен соответствовать уровню жидкости в стаканчике; хороший результат дает вода с плавающими в ней кусочками льда, которую периодически надо помешивать; алкоголь должен быть максимально холодным, теплый алкоголь не приводит к эффективному выпадению ДНК в осадок, поэтому необходимо его предварительное охлаждение во льду; процесс осаждения ДНК надо проводить аккуратно, чтоб случайно не вызвать ее деградацию; всю процедуру надо проводить быстро. Затягивание процесса приведет к деградации ДНК, заметить которую будет очень сложно.



польская помощь



Материалы разработаны в рамках очередных выпусков программы «Естественно интересный урок», софинансированных в рамках программы польского сотрудничества для развития Министерства иностранных дел РФ. Материалы предоставляются на основании лицензии Creative Commons с указанием авторства з.о Польша. Некоторые права сохраняются за Фондом Партнерс Польша и Центром Науки Коперник.