

Практическое занятие для учащихся 10 класса «ДНК в домашних условиях»

Т. В. Пархомчук,
учитель биологии высшей категории
гимназии № 2 г. Пинска

Цель: познакомить учащихся с процессом выделения ДНК.

Суть эксперимента. Все живое на Земле состоит из клеток. Каждая клетка содержит молекулы ДНК. Мы не видим ДНК, но при некоторых условиях ДНК может образовывать тонкие нити.

Ключевые слова: ДНК, наследственность, генетика.

Необходимые материалы. Чистый спирт, луковица или банан, мисочка, жидкость для мытья посуды, соль, вода, сито, стеклянная баночка.

Эксперимент безопасен (необходима осторожность в работе со спиртом).

Ход занятия

1. Приветствие.

2. Интеграционная игра «Что я знаю о ДНК?».

Участники сидят в кругу. Учитель предлагает образовать пары. Ребята по очереди берут друг у друга интервью с целью узнать 3 факта о ДНК, затем каждый участник пары представляет другого участника и рассказывает, о чём он узнал.

3. Постановка цели.

Одной из основных задач генной инженерии и молекулярной биологии является получение белков с заранее заданными свойствами. Для решения этой задачи необходимо уметь направленно изменять мельчайшие составные части генов – отдельные пары нуклеотидов молекулы ДНК. Такие операции с самой большой молекулой стали возможными сравнительно недавно и связываются в сознании обычного человека с ультрасовременными лабораториями, оборудованными сложными и дорогими приборами. Читая о современных достижениях генной инженерии, наверное, мало кто предполагает, что выделить и потрогать довольно чистый препарат “святая святых” жизни – ДНК – можно не только в специальных лабораториях, но и в домашних условиях. Экспериментируя, вы сможете усовершенствовать и изменить предлагаемые процедуры и узнать много нового об одном из важнейших компонентов клетки.

4. Разделение на группы «Семья овощей».

Выбираются 4 овоща (например, помидоры, редис, брокколи, морковь). Имя каждого овоща будет фамилией для дедушки, бабушки, папы, мамы, дочери и сына. Например, пишем на 6 карточках: Дедушка Помидор, Бабушка Помидор, Папа Помидор, Мама Помидор, Дочь Помидор и Мальчик Помидор. Поступаем таким же образом для других овощей.

Все размещаются на стульях, определяется порядок, в котором семья должна сидеть. Например, дедушка, бабушка, папа, мама, мальчик и девочка.

5. Реализация эксперимента.

Нативная цепь молекулы ДНК может содержать несколько миллионов атомов. В водном растворе цепи ДНК несут слабый отрицательный заряд и отталкиваются друг от друга. Если в растворе в достаточном количестве присутствуют положительно заряженные ионы, они притягиваются к цепям ДНК и нейтрализуют их заряд, в результате чего цепи ДНК могут слипаться. Таким образом, изменяя концентрацию соли, можно заставить отдельные фрагменты ДНК диссоциировать или, наоборот, объединяться. Это явление и лежит в основе методов выделения ДНК из клеток.

1. Сначала надо приготовить буферный раствор. Налейте 120 мл воды в чистую стеклянную емкость, добавьте 1,5 г (1/4 чайной ложки) поваренной соли, 5 г (1 чайную ложку) питьевой соды. В буфер надо добавить немного детергента – 5 мл (1 чайную ложку) шампуня или жидкого средства для стирки. Можно попробовать какие-нибудь другие детергенты, например средства для мытья посуды, но туалетное мыло лучше не использовать, т.к. в нем содержится большое количество добавок. Детергент выполняет две функции: разрушает клеточные стенки и способствует расщеплению крупных белков, которые иначе могут выделиться вместе с ДНК.

Для того чтобы замедлить дегградацию выделенной ДНК, буфер перед началом опыта охлаждают в кастрюле или любом другом сосуде, наполненном смесью колотого льда с солью.

2. Возьмите банан, разрежьте на мелкие кусочки, поместите в подходящий по размерам чистый сосуд, добавьте немного воды и тщательно измельчите до однородного состояния. При такой обработке клетки отделяются друг от друга, что способствует более эффективному действию детергента.

3. Поместите 5 мл полученного пюре в чистую емкость, добавьте 10 мл охлажденного буфера. Полученную смесь энергично перемешивайте в течение не менее 2 мин. В это время происходит разрушение клеточных стенок детергентом и выход содержимого клеток в раствор. Далее нужно отделить раствор, содержащий ДНК и другие молекулы, от нерастворимых остатков растительного материала. Для этого лучше всего использовать центрифугу (сепаратор): смесь прокрутите на центрифуге на низкой скорости в течение 5 мин, а затем, стараясь не взбалтывать осадок, слейте в длинный узкий сосуд (например, в пробирку, прозрачный пузырек из-под лекарств и

т.п.) не менее 5 мл надосадочной жидкости. Центрифугу можно сделать привязав пробирку в веревке. Если у вас нет центрифуги, можно отфильтровать раствор через обычный кофейный фильтр или полотно. Если вам повезет, крупные частицы, все-таки прошедшие через фильтр, либо осядут на дно, либо будут плавать на поверхности. Для получения чистого раствора слейте его верхний слой, подождите, пока осядут остальные частицы, и затем аккуратно слейте (или перенесите пипеткой) жидкость в узкий сосуд.

Полученный раствор содержит фрагменты ДНК и множество других молекул – РНК, белков, углеводов и т.п.

Для экстракции ДНК необходимо небольшое количество изопропилового спирта (изопропанола, ИПС), предварительно сильно охлажденного в морозильнике. Используйте чистый изопропанол (без красителей и отдушек) в самой высокой концентрации, какую только удастся достать (обычно его продают в концентрации не ниже 70%). При помощи соломинки для коктейлей аккуратно нанесите 10 мл охлажденного спирта на поверхность раствора ДНК. Для этого погрузите соломинку в сосуд со спиртом и зажмите верхнее отверстие, затем опустите нижний конец соломинки в пробирку с раствором, прикоснитесь соломинкой к стенке и, слегка наклонив пробирку, позвольте спирту медленно стечь по стенке. Если вы все сделали правильно, спирт, плотность которого меньше плотности буфера, останется на поверхности раствора. Поместите тонкую стеклянную или деревянную палочку, например карандаш, в раствор таким образом, чтобы ее кончик оказался непосредственно под границей между буфером и спиртом, и очень осторожно в течение 1 минуты поворачивайте попеременно в разные стороны. При этом наиболее длинные фрагменты ДНК накрутятся на палочку. Затем вытащите палочку. Спирт заставит ДНК прилипнуть к концу палочки, и вы увидите на нем прозрачный вязкий осадок.

Конечно, в результате этой простой процедуры нельзя получить чистый препарат ДНК. В лаборатории в буфер добавляют ферменты, разрушающие молекулы РНК, которые иначе могут выделиться вместе с ДНК.

Результат. Через некоторое время (примерно через 10 минут) в спирте появятся белые длинные нити ДНК.

6. Пояснение. Работа в группе. Обсуждение результатов работы.

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 этот процесс схож с применяемым в лабораторных условиях.

Поясним суть каждого этапа процедуры.

Почему нужно ткани растения подвергнуть растиранию в ступке?

Ткани: 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 ткани. Это особенно важно в случае растительных клеток, которые окружены толстой клеточной стенкой, и лишь механическое воздействие может разрушить их структуру.

Почему необходимо добавлять детергент?

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

Почему нужно выдерживать ткани в низких температурах?

За разрушением клетки может последовать и деграция 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 осаждение. На салфетке остаются все ненужные элементы тканей, основное количество ДНК находится в фильтрате.

Зачем используется поваренная соль и спирт?

ДНК – это кислота, осадок которой имеет отрицательный электрический заряд. Благодаря этому ионы Na^+ , выделенные из поваренной соли собираются вокруг молекулы ДНК. В насыщенном растворе соли, 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 ниток. Если алкоголь хорошо охлажден, процесс протекает достаточно эффективно.

Зачем нужны ДНК?

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

7. Рефлексия

В завершении встаньте в круг и возьмитесь за руки. Сейчас мы с вами постараемся избавиться от всего плохого, отрицательного, что может быть на душе, отправив весь «негатив» в космос. По команде начинайте сближаться, постепенно поднимая руки вверх и с повышением произнося протяжно, резко обрывающееся «у-у-у»!