

הפקת DNA מתותים

בהמלצת: קימוב קטרינה, פרחיודקי לודמילה, רוחמה אייל, תמר פרץ

הוראות בטיחות:



- מומלץ לעבוד עם חלוק, נעליים סגורות, כפפות ומשקפי מגן

ציוד/כלים דרושים:



- בלנדר מוט או מזלג
- משפך או מסננת
- פד גזה
- כפית
- 2 כוסות כימיות (רצוי מפלסטיק) 250 מ"ל
- כוס כימית זכוכית 100 מ"ל
- קיסם ארוך או שיפוד עץ
- פיפטת פסטר
- משורה 50 מ"ל

חומרים דרושים:



- תותי שדה טריים או קפואים
- סבון כלים
- אתנול 96%-100% מקורר במקפא

מהלך ההכנה:



הכנה על ידי הלבונט

1. הכניסו כ-4 תותים גדולים בכוס כימית (עדיף מפלסטיק) לכל קבוצה.

2. הכניסו אתנול למקפיא מספר שעות לפני ההדגמה. חלקו את האתנול (כ-20 מ"ל) לתלמידים לקראת השימוש בו.
3. מהלו את סבון הכלים ביחס של 1:10 (להכנת 200 מ"ל תמיסה מהולה: 20 מ"ל סבון עם 180 מ"ל מים).

מהלך הדגמה/ניסוי:

1. מעכו היטב את התותים בעזרת בלנדר מוט למחית חלקה ללא גושים או על ידי מעיכה בעזרת מזלג. אפשר להוסיף מעט מי ברז, כ-10 מ"ל, תוך כדי מעיכה.
2. הניחו את המשפך על כוס נקייה ומעליה הניחו פד גזה. אפשר להשתמש במסננת במקום במשפך ופד גזה.
3. סננו את המחית לכוס נקייה. העזרו בכפית לזירוז הסינון.
4. מדדו בעזרת משורה את נפח הנוזל המסונן ומזגו לכוס כימית מזכוכית כמות של 100 מ"ל.
5. מדדו בעזרת אותה המשורה תמיסה מהולה של סבון כלים, בנפח השווה למחצית מנפח תסנין התותים.
6. הוסיפו את תמיסת הסבון המהולה לכוס עם תסנין התותים.
7. ערבבו באיטיות בעזרת כפית את התמיסה למשך 2-3 דקות. השתדלו לא להקציף את התמיסה יותר מדי.
8. **הרכיבו משקפי מגן.**
9. מזגו בזהירות (אפשר להשתמש בפיפטה) מעט אתנול קר על הדופן הפנימית של הכוס עם תסנין התותים ותמיסת הסבון. גובה האתנול צריך להיות כ-2-3 ס"מ מעל שטח פני תסנין התותים.
10. התבוננו מצד הכוס כדי לראות את חוטי ה-DNA הצפים באתנול.

תוצאות צפויות:

- חוטי ה-DNA של התותים יצופו למעלה אל תוך תמיסת האתנול וייראו כחוטים לבנים.
- אפשר לאסוף את החוטים בעזרת קיסם או פיפטה.

הסבר מדעי:

מומלץ לבצע את הניסוי דווקא עם תותים כיוון שתאי התות הינם אוקטפלואידים – בעלי 8 עותקים של המטען הגנטי (להזכירכם תא האדם הוא דיפלואידי), כלומר בעלי DNA רב שאפשר לראות בצורה ברורה בהפקה.

כדי להפריד את ה-DNA מתוך התא עלינו להרוס את קרום התא הבנוי בעיקר ממולקולות של שומן. הוספת הסבון הורסת את קרום התא.

הוספת האתנול הקר לתמיסה משקעת את מולקולות ה-DNA מתוך התמיסה המימית וחושפת אותן. אתנול הוא מעט פחות פולארי ממים – ולכן אינו מסוגל להמיס DNA בתוכו (ה-DNA הוא מולקולה מאוד פולארית) – ולכן הוספת האתנול גורמת ל"שיקוע" (precipitation – הפרדות מהתמיסה) שלו. מבחינה כימית אפשר לומר כי כאשר ה-DNA מומס במים הוא יוצר קשרי מימן עם מולקולות המים. הוספת אתנול לתמיסה גורמת למים ליצור עם האתנול קשרי מימן במקום ה-DNA, מה שגורם למולקולות ה-DNA להיצמד זו לזו ולהיפרד מהתמיסה בנקודת המגע בין האתנול למים, כפי שראינו בניסוי. קירור האתנול לטמפרטורה נמוכה מוריד עוד יותר את יכולת ההמסה שלו. בנוסף, עוצרת הטמפרטורה הנמוכה את פעולת אנזימי הפירוק שקיימים בתאים באופן טבעי המפרקים גם את ה-DNA, ובכך משפרת את המיצוי ואת תוצאות הניסוי – מולקולות ה-DNA נשמרות גדולות ולא מפורקות.

טיפים:

- אפשר להחליף את תות השדה באפונה או בנבט חיטה
- אפשר להשתמש בתותים או באפונה קפואים

פינוי חומרים:

- אפשר לזרוק לכיור או לפח הזבל