



John Schollar i Dean Madden

National Centre for Biotechnology Education, University of Reading
Science and Technology Centre, Earley Gate, Reading RG6 6BZ UK | E-mail: J.W.Schollar@reading.ac.uk

Naszyjnik z DNA

Izolacja ludzkiego DNA z komórek policzka
Możesz stworzyć naszyjnik z własnym DNA!

Cel

Zestaw edukacyjny pozwala wyizolować niewielkie ilości DNA z komórek policzka. Tak otrzymane DNA możesz zanurzyć w odrobinie alkoholu, umieścić w szklanej fiolce i nosić jako naszyjnik. DNA oczyszczone w ten sposób nie może służyć dalszej analizie, jak diagnostyka medyczna i badania genealogiczne, ponieważ nie jest wystarczająco czyste.

Wstęp

Metoda opisana poniżej jest uproszczoną wersją procedury stosowanej w laboratoriach w celach analizy medycznej, pokrewieństwa i innych technik. Doświadczenie przedstawiające izolację DNA nie niesie wiele wartości edukacyjnych, jednak może być zmodyfikowane tak, aby uwzględniać dodatkowe informacje i podnieść jego wartości edukacyjne. Podstawową jego zaletą jest wprowadzenie ciekawej, zabawowej procedury, w wyniku której stworzymy unikalny naszyjnik zawierający osobiste DNA.

Sprzęt i materiały

Potrzebne dla każdej osoby

Sprzęt

- Pipeta o objętości 1 ml, najlepiej plastikowa
- Cylinder miarowy o objętości 10 ml, strzykawka lub inne naczynie które odmierzy 10 ml
- Materiały na naszyjnik: szklana fiolka, metalowy kapturek, neoprenowa zatyczka, sznurek.

Materiały

- 1 ml buforu ekstrakcyjnego
- 2 ml denaturatu lub stężonego alkoholu etylowego

Aby stworzyć 1 litr buforu ekstrakcyjnego:

- Dodaj 7,88 g Tris.HCl do litrowego naczynia
- Dodaj 500 ml wody
- Dodaj 100 ml 10 % roztworu SDS
- Dodaj 70 ml 3 M roztworu NaCl
- Dodaj 1 ml niebieskiego barwnika spożywczego
- Zamieszaj składniki delikatnie do rozpuszczenia
- Dodaj destylowanej wody do końcowej objętości 1 litra



Photo: Dean Madden



Zanim zaczniesz

- Jeśli niedawno jadłeś, piłeś lub myłeś zęby, powinieneś odczekać *około 3 – 4 godziny*, zanim rozpoczniesz procedurę. Jedzenie, płyny oraz mycie zębów powoduje wymywanie złuszczonej komórki, pozostawiając zbyt mało komórek do wydanej izolacji DNA.
- Denaturat (stężony roztwór alkoholu) umieść w zamrażalniku *co najmniej dwie godziny* przed rozpoczęciem ekstrakcji. Zalecane jest pozostawienie alkoholu w zamrażalniku na noc.



Ostrzeżenie: Denaturat (stężony roztwór alkoholu) jest łatwopalny. Większość zamrażarek może w środku iskrzyć, dlatego w razie wycieku alkoholu z butelki, może nastąpić eksplozja. Przed włożeniem do zamrażalnika, należy upewnić się, że butelka z denaturatem jest szczelnie zamknięta.

Procedura

- 1 Odmierz jeden mililitr (1 ml) niebieskiego bufora ekstrakcyjnego nalewając go do plastikowej probówki (dla ułatwienia posiada ona skalę objętości). Zamknij probówkę, aby płyn się nie wylał. Bufor ekstrakcyjny zawiera detergent, dlatego możesz zauważyć na jego powierzchni pianę.
- 2 Wyjmij z opakowania sterylny patyczek higieniczny. Połknij całą ślinę. Pocieraaj energicznie wacikiem patyczka wewnętrzną stronę policzka przez minimum 2 minuty. Możesz pocierać policzki, dziąsła, podniebienie, a nawet delikatnie pod językiem. W ten sposób zetrzesz komórki nabłonka, z których będziesz izolować DNA. Im więcej będziesz pocierać (i mniej śliny spłucze komórki), tym lepszy uzyskasz rezultat końcowy.
- 3 Otwórz ostrożnie probówkę zawierającą niebieski bufor ekstrakcyjny, umieść w nim wacik z pobranymi komórkami. Wymyj z wacika komórki nabłonka intensywnie płuczając go w buforze przez 2 minuty. Przed wyjęciem wyciśnij jak najwięcej roztworu z wacika, poprzez dociskanie go do ścianek probówki. Detergent zawarty w buforze spowoduje rozpuszczenie błon komórkowych i wypłynięcie DNA do roztworu.

Fig. 1

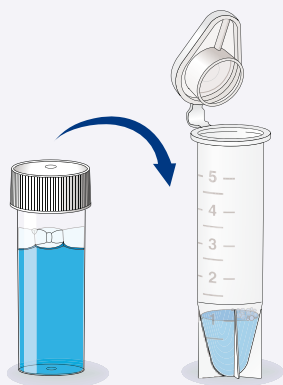


Fig. 2

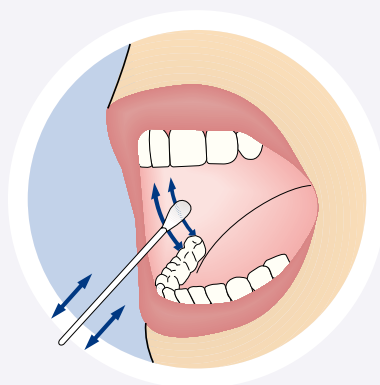
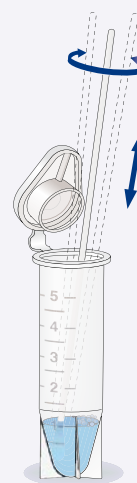


Fig. 3



- 4 Wyjmij probówkę ze zmrożonym alkoholem z zamrażalnika. Następny krok będzie wymagał uwagi i zręczności. Przechyl obie probówki lekko do siebie i przelej po ściance probówki dwa mililitry (2 ml) denaturatu tak, aby spływał tworząc widoczną warstwę na powierzchni buforu ekstrakcyjnego (tak, jakbyśmy przygotowywali wielowarstwowy, egzotyczny koktajl). Przywróć probówkę do pionu i zamknij ją, a następnie odstaw ostrożnie, tak, aby przez kilka minut jej nie ruszać.
- 5 Czekając następne 10 minut obserwuj co się dzieje wewnątrz probówki. DNA z komórek policzka będzie powoli wypływać do wierzchniej warstwy alkoholu. Sól zawarta w buforze ekstrakcyjnym powoduje, że nitki DNA zlepiają się ze sobą tworząc białawe kłęбки i chmurki. Chmurki te będą się powoli przemieszczać do góry wypychane przez drobne bąbelki powietrza, które można zaobserwować wokół nici DNA. *Uwaga: Jeśli DNA się nie pojawi, przejdź do punktu 'Rozwiązywanie problemów'.*
- 6 Za pomocą plastikowej pipetki wyjmij delikatnie białą chmurkę DNA wraz z odrobiną alkoholu i przenieś do małej szklanej fiołki. Nie przepelnij jej alkoholem – pamiętaj, żeby zostawić trochę miejsca

Fig. 4

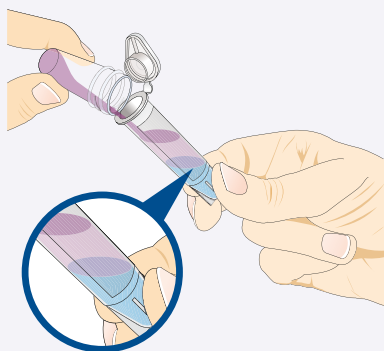


Fig. 5

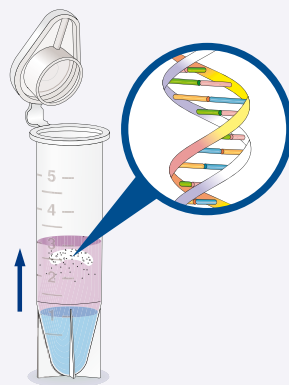
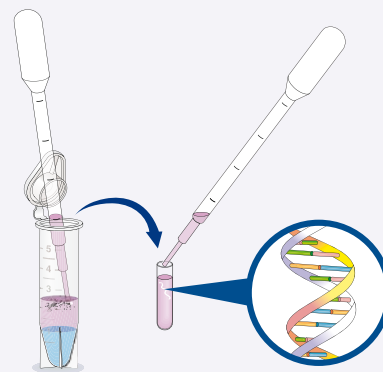


Fig. 6



na gumową zatyczkę.

- 7 Wciśnij gumową zatyczkę zapieczętowując w ten sposób fiołkę z Twoim DNA. Pamiętaj, że fiołka jest szklana, ściskaj ją lekko, żeby jej nie zgnieść.
- 8 Upewnij się, że szklana fiołka i zatyczka są suche. Nanieś jedną kroplę kleju szybkoschnącego (np. *Kropelka*) na górę zatłkanej fiołki. Wciśnij na nią metalowy kapturek.
- 9 Kiedy klej wyschnie i metalowy kapturek nie będzie się już ruszał, przetnij sznurek przez metalowe uszko. Zwiąż końce. Twój osobisty naszyjnik z DNA jest teraz gotowy do noszenia!

Fig. 7

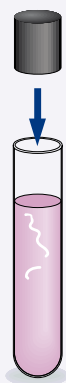


Fig. 8

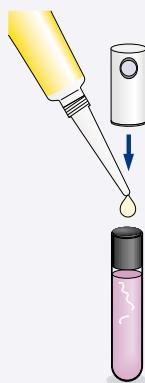
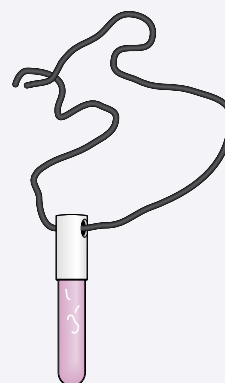


Fig. 9



Bezpieczeństwo

Denaturat oraz inne roztwory etanolu są łatwopalne. Większość zamrażarek może w środku iskrzyć, dlatego w razie wycieku alkoholu z butelki, może nastąpić eksplozja. Przed włożeniem do zamrażalnika, należy upewnić się, że butelka z denaturatem jest szczelnie zamknięta.



Przygotowania oraz czas

Doświadczenie zajmuje około 30 minut. Denaturat musi być wcześniej schłodzony.

Rozwiązywanie problemów

Jeśli próbka twojego DNA zawierała dużo śliny, prawdopodobnie będziesz musiał poczekać dłużej niż 10 minut. Jeśli po 10 minutach nie widzisz nawet małej chmurki DNA, odstaw próbkę na kilka godzin (lub nawet całą noc). W końcu białe pasemka DNA powinny się pojawić.

Dostawcy

NCBE może dostarczyć zestaw edukacyjny zawierający materiały na 30 naszyjników: NCBE, University of Reading, Science and Technology Centre, Earley Gate, Reading RG6 6BZ UK. T: + 44 118 9873743 F: + 44 118 9750140 E: NCBE@reading.ac.uk W: www.ncbe.reading.ac.uk

Podobny zestaw jest do nabycia w Szkole Festiwalu Nauki.

Przechowywanie materiałów

Wszystkie materiały mogą być przechowywane w temperaturze pokojowej.

Dodatkowe źródła informacji po angielsku

Stromberg, S. (2001) DNA from 'caviar': Simple extraction of DNA from fish eggs *Bioscience Explained* 1. Dostępne na: www.bioscience-explained.org

Madden, D. (2006) Discovering DNA *Science in School* 1 34-36.

Artykuł dotyczący prostych metod izolacji DNA, zawierający protokół izolacji DNA z mrożonego groszku. Dostępny na: www.scienceinschool.org/2006/issue1/discoveringdna/

Genetic Science Learning Center, Utah.

Strona internetowa zawierająca animacje przedstawiającą izolację DNA przy użyciu bardziej zaawansowanych technik. Dostępna na: <http://learn.genetics.utah.edu/units/biotech/extraction/>

Podziękowania

Materiał został przygotowany w ramach projektu Volvox ufundowanego przez Szósty Program Ramowy Komisji Europejskiej.

