Ohjaajan ohje:

DNA:n eristäminen eläinsoluista

Työn tavoite Työn tavoitteena on tutustua DNA:n rakenteeseen sekä DNA:ta suojaaviin solun osiin. Työssä pyritään ymmärtämään ne biokemialliset perusteet, joiden ansiosta DNA on mahdollista eristää kudosnäytteestä. Työssä opetellaan luonnontieteellistä ajattelutaitoa ja tutkimuksen tekemistä sekä harjoitellaan biologian tutkimusvälineistön käyttöä.

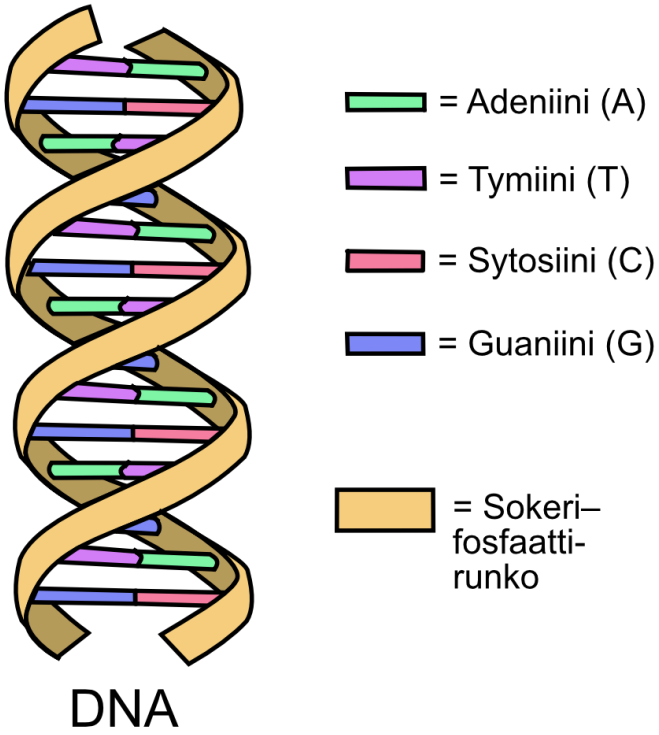
Kohderyhmä Alakoulu, yläkoulu ja lukio.

Opetussuunnitelman sisällöt Alakoulu: Minä ihmisenä (S1), Ympäristön tutkiminen (S4), Luonnon rakenteet, periaatteet ja kiertokulut (S5). Yläkoulu: Biologinen tutkimus (S1), Mitä elämä on? (S4), Ihminen (S5). Lukio: Elämä ja evoluutio (BI1), Solu ja perinnöllisyys (BI3), Ihmisen biologia (BI4), Biologian sovellukset (BI5).

Työn kesto 45-60 min.

Taustatietoa

Kaikkien elävien eliöiden perimä koostuu DNA:sta eli deoksiribonukleiinihaposta. DNA koostuu kahdesta toisiinsa liittyvästä ketjusta eli juosteesta. DNA-juosteen rakenteessa on kolme tärkeää osaa: **sokeri-**, **fosfaatti-** ja **emäsosa**. Emäksiä on neljä erilaista: adeniini (A), guaniini (G), sytosiini (C) ja tymiini (T). Näiden neljän emäksen avulla solun perimään on kirjattu tieto siitä, miten sen pitää toimia eri tilanteissa.



Kuva 1: DNA-juosteen rakenne

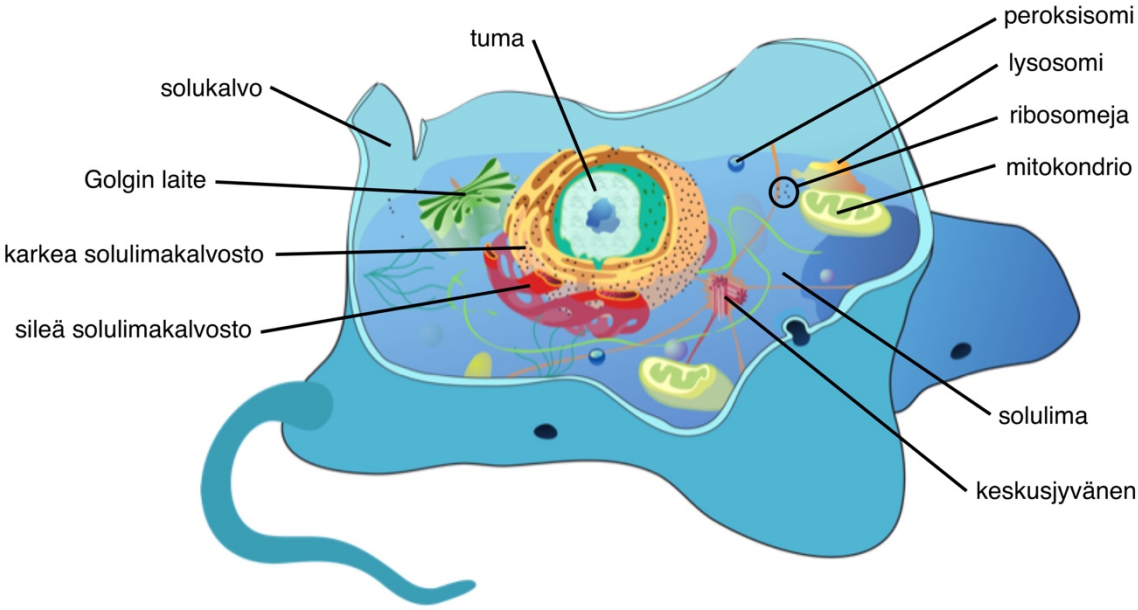
DNA:n pakkautuminen pieneen tilaan on hyvin tärkeää, jotta se mahtuisi solun sisälle – esimerkiksi lähes jokaisessa ihmisen solussa on keskimäärin kaksi metriä DNA:ta. DNA ja siinä kiinni olevat proteiinit ovat pakkautuneena solussa rihmamaisena kromatiinina. Solun jakautuessa kromatiini pakkautuu vielä tiiviimmin kromosomeiksi. Jokaisella lajilla on sille tyypillinen määrä kromosomeja, esimerkiksi ihmisellä on 46 kromosomia.

DNA säilytetään solussa hyvin suojattuna. Jokaista elävää solua ympäröi fosfolipideistä eli rasvamolekyyleistä muodostuva solukalvo, joka suojaa koko solua ja samalla sen perimää.

Tämä teos on lisensoitu Creative Commons Nimeä-JaaSamoin 4.0 Kansainvälinen –lisenssillä. Salla Merenheimo, Justus Mutanen & Saana Remula / BioPop-tiedeluokka 2019

Tumallisilla eliöillä, kuten kasveilla, sienillä ja eläimillä, suurin osa solun sisältämästä DNA:sta sijaitsee tumassa. Tuma on soluelin, jonka tehtävänä on säilyttää ja suojata DNA:ta. Tumaa ympäröi suojaava tumakotelo, joka koostuu fosfolipideistä. Tumallisten eliöiden soluissa jonkin verran DNA:ta on myös viherhiukkasissa ja mitokondrioissa. Tumattomilla eliöillä, kuten bakteereilla ja arkeoneilla, ei ole tumaa. Näillä eliöillä DNA sijaitsee solukalvon sisäpuolella solulimassa.

DNA-molekyylien sisältämään tiedon avulla solu muokkaa ja kuljettaa aineita, viestii muiden solujen kanssa sekä lisääntyy. DNA:n kohtia, jotka ohjaavat solun toimintaa, kutsutaan geeneiksi. Useimmiten geeni sisältää tiedon tietyn proteiinin valmistamisesta. Proteiineja valmistetaan proteiinisynteesin kautta: aluksi DNA:n sisätämä tieto kopioidaan RNA-molekyyliin, ja varsinainen proteiini kootaan aminohapoista RNA:n sisältämän tiedon perusteella. Proteiinit hoitavat monia solun tehtäviä. Ne välittävät viestejä, kuljettavat aineita, helpottavat kemiallisia reaktioita sekä toimivat rakennusmateriaaleina.



Kuva 2 Eläinsolun rakenne. DNA sijaitsee pääasiassa solun tumassa, mutta jonkin verran sitä on myös mitokondrioissa.

Pohdittavaksi ennen työtä

1. Missä solun osassa DNA sijaitsee?

   Tumallisilla eliöillä DNA sijaitsee pääasiassa tumassa, mutta sitä löytyy myös mitokondrioista ja viherhiukkasista. Tumattomilla eliöillä DNA sijaitsee solulimassa.

2. Mitä solun osia pitää hajottaa, jotta DNA pääsisi ulos solusta?

   DNA:n eristämiseksi solusta on hajotettava solukalvo ja tumakotelo.

Tämä teos on lisensoitu Creative Commons Nimeä-JaaSamoin 4.0 Kansainvälinen –lisenssillä. Salla Merenheimo, Justus Mutanen & Saana Remula / BioPop-tiedeluokka 2019

3. Mitä tehtäviä DNA:lla on soluissa?

   DNA-molekyyleihin on kirjattu tieto siitä, miten solun pitää toimia eri tilanteissa. DNA:n sisältämään tiedon avulla solu esimerkiksi muokkaa ja kuljettaa aineita, viestii muiden solujen kanssa sekä lisääntyy.

Työssä tarvittavat välineet

- Dekantterilaseja
- Pasteur-pipettejä
- Mikroputkia
- Koeputkia
- Koeputkitelineitä
- Suodatinpaperia
- Suppiloita
- Saippuaa tai astianpesuainetta
- Suolaa
- Jääkylmää alkoholia (esim. Marinol tai Sinol)
- Hammastikkuja
- Skalpelleja
- Tutkittavia aineita:
  - maksakudosta (tai mahdollisesti myös muita kudosnäytteitä)
  - omia poskisolujasi
- Suojavarusteet: suojatakit ja -hanskat

Esivalmistelut

1. Sulata pakastettu maksanäyte.
2. Laita alkoholi viilenemään pakastimeen viimeistään 15 minuuttia ennen työn aloittamista. Ota alkoholi pakastimesta vasta juuri ennen sen käyttöä.
3. Valmista saippualiuos: lisää dekantterilasiin loraus astianpesuainetta, 1 dl vettä sekä ½ tl suolaa.

Työturvallisuus

- Käytä skalpelleja varoen.
- Työssä on suositeltavaa käyttää suojahanskoja ja -takkia.

Tämä teos on lisensoitu Creative Commons Nimeä-JaaSamoin 4.0 Kansainvälinen –lisenssillä. Salla Merenheimo, Justus Mutanen & Saana Remula / BioPop-tiedeluokka 2019

Työohje

Ohjaaja kertoo sinulle, eristetäänkö DNA:ta omista poskisoluista vai naudan maksakudoksesta.

A) DNA:n eristys omista poskisoluista

1. Irrota posken sisäpinnan epiteelisoluja raaputtelemalla varovasti hampailla poskien sisäpintaa.
2. Sylje varovasti koeputkeen. Pipetoi sylkinäytten joukkoon vettä sen verran, että koeputkessa on noin 2 cm nestettä.
3. Pipetoi sylkinäytteen joukkoon 3 cm vahvaa saippualiuosta. Aseta sormi koeputken päälle ja kääntele koeputkea varovasti ylösalaisin. Älä ravista, jottei putkeen muodostu vaahtoa.
4. Inkuboi näytettä eli anna näytteen tekeytyä 5-10 minuuttia.
5. Käännä koeputki n. 45 asteen kulmaan ja pipetoi koeputken reunaa pitkin noin sentin paksuinen kerros jääkylmää alkoholia. DNA ja siihen kiinnittyneet proteiinit saostuvat suodoksen ja alkoholin väliselle rajapinnalle.

B) DNA:n eristys naudan maksakudoksesta

1. Leikkaa skallpellilla pieni pala naudan maksakudosta ja laita se mikroputkeen.
2. Pipetoi joukkoon hieman saippualiuosta. Hajota maksakudosta mekaanisesti esimerkiksi hammastikun avulla. Pyri hajottamaan kudosnäyte mahdollisimman pieneksi.
3. Inkuboi seosta (anna tekeytyä) 10 minuuttia ja valmistele tällä välin suodatinlaitteisto laittamalla suodatinpussi suppiloon ja suppilo koeputkeen. Voit myös vastata työtä koskeviin kysymyksiin tällä välin.
4. Kaada seos suodattimeen ja anna suodattua 5-10 minuuttia, tai kunnes suodosta on tarpeeksi muodostamaan koeputkeen n. 1 cm korkuinen kerros. Jos näytteissä ei ole tarpeeksi nestettä, lisää vettä suodattimeen saadaksesi riittävästi suodosta.
5. Käännä koeputki n. 45 asteen kulmaan ja pipetoi koeputken reunaa pitkin noin sentin paksuinen kerros jääkylmää alkoholia. DNA ja siihen kiinnittyneet proteiinit saostuvat suodoksen ja alkoholin väliselle rajapinnalle.

Pohdittavaksi työn jälkeen

1. Miksi näytteiden joukkoon lisättiin saippualiuosta?

   Saippua ja astianpesuaineet hajottavat tehokkaasti rasvoja. Saippuan sisältämät pinta-aktiiviset tensidit hajottavat samalla tavalla myös solukalvon ja tumakotelon sisältämiä fosfolipidi-rasvoja. Saippualiuokseen lisättiin suolaa, koska suola sitoo

Tämä teos on lisensoitu Creative Commons Nimeä-JaaSamoin 4.0 Kansainvälinen –lisenssillä. Salla Merenheimo, Justus Mutanen & Saana Remula / BioPop-tiedeluokka 2019

itseensä solussa olevia proteiineja. Siten suola estää proteiinien saostumisen alkoholikerrokseen DNA:n mukana.

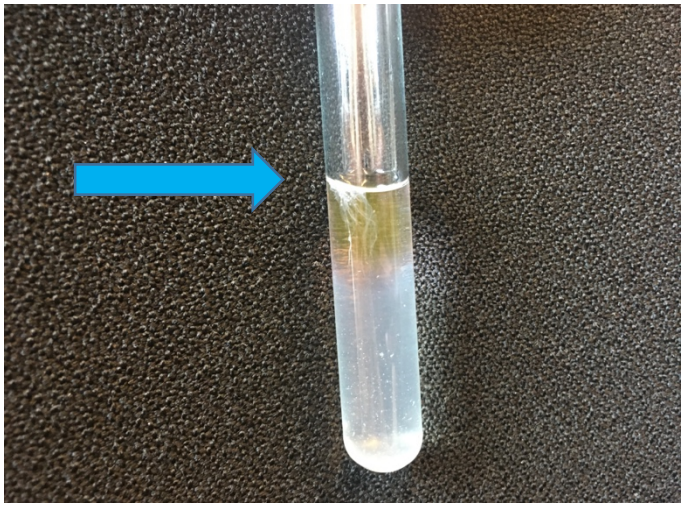
2. Miksi DNA saatiin näkymään, kun seokseen lisättiin alkoholia?

   DNA liukenee hyvin veteen, mutta heikosti alkoholiin. Jääkylmä alkoholi saa DNA:n saostumaan nopeasti. Tämän ansiosta DNA jää kellumaan alkoholikerrokseen vaaleana rihmamaisena rakenteena.

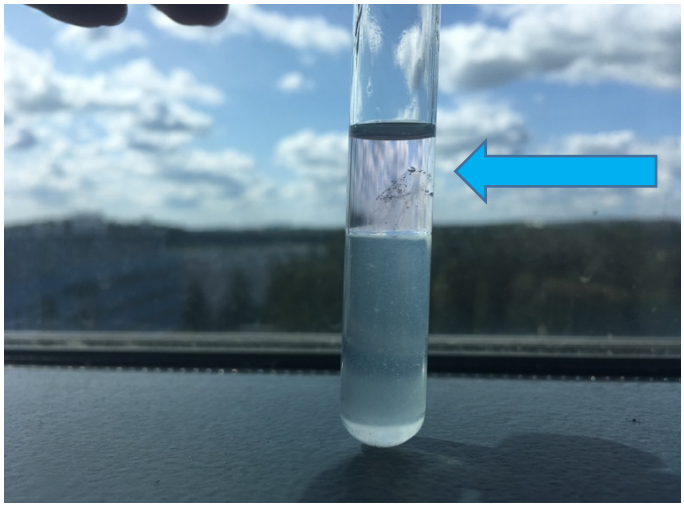
3. DNA:n kanssa saostuu myös monia proteiineja. Ota selvää, millaisia proteiineja DNA:ssa on kiinni ja miten niistä voitaisiin päästä eroon.

   DNA:ssa on kiinni esimerkiksi histoni-nimisiä proteiineja. DNA:ta voidaan puhdistaa useilla eri metodeilla, esimerkiksi silikapuhdistuksen tai fenoli-kloroformiuuton avulla.

Esimerkkejä työn tuloksista



Kuva 2 DNA-rihma erottuu vaaleana rihmamaisena rakenteena alkoholikerroksessa.



Kuva 3 DNA-rihmaan saattaa tarttua ilmakuplia, jolloin se alkaa nousta pintaa kohti.

Tämä teos on lisensoitu Creative Commons Nimeä-JaaSamoin 4.0 Kansainvälinen –lisenssillä. Salla Merenheimo, Justus Mutanen & Saana Remula / BioPop-tiedeluokka 2019