



Kiivin DNA

Kohderyhmä: Työ soveltuu yläkouluun kurssille elollinen luonto ja yhteiskunta. Lukiossa työ soveltuu kursseille KE1 ja KE4. Työ vaatii oppilailta jonkin verran laboratoriokokemusta

Kesto: 30–50 min

Motivaatio: Olet varmasti kuullut puhuttavan DNA:sta eri yhteyksissä. Olet ehkä nähnyt kuinka elokuvissa poliisit pääsevät varkaiden jäljille vain löytämänsä hiuksen avulla tai kuinka dinosauruksia onnistutaan herättämään henkiin fossiileista saadun veren avulla. DNA:n rakenteen ymmärtäminen, biokemiallisiin työmenetelmiin tutustuminen

Tarvikkeet

Aineet

- Puolikas kiivi /työpari
- Jääkylmää etanoliliuosta, 70 %
- Ruokasuolaa, NaCl
- Tiskiainetta

Tarvikkeet

- MiniGrip -pussi, pieni
- Kaksi 100 ml keitinlasia
- Suppilo ja suodatinpaperia
- 5 ml ja 100 ml mittalasit
- Lasisauva
- Lusikka
- Jokin puikko
- Jäitä astian jäähdyttämiseen

Työturvallisuus / Huomioita ohjaajalle

Käytä suojatakkia ja –laseja.

Etanoli kuivattaa ihoa, huuhtelee roiskeet runsaalla vedellä.

Pohdittavaksi ennen työtä

Mitä tiedät DNA:sta? Mitä se on? Mistä sitä löytyy? Mikä on sen tehtävä elämän kannalta?

DNA on nukleiinihappojen muodostama luonnon polymeeri. DNA sisältää tiedon perimästä nukleiinihappojen järjestyksenä. Proteiinisynteesissä nukleiinihappojen järjestys määrää muodostuvan proteiinin toiminnan. Mistä kemiallisista yhdisteistä DNA koostuu?

DNA-kirjaimet tulevat englannin kielen sanoista *deoxyribonucleic acid*. Mitä ominaisuuksia uskot DNA:lla olevan sen nimen perusteella? Saako DNA:n liukenemaan veteen?

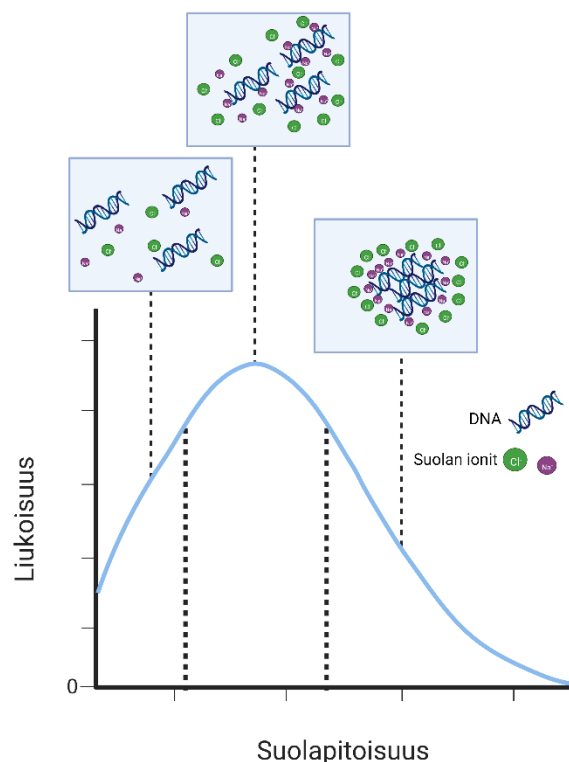
DNA:ssa on happoryhmiä, se liukenee melko hyvin emäksisiin vesiliuoksiin. pH ja liukoisuus sekä lämpötila sekä DNA-rihman pituus vaikuttavat liukoisuuteen.



Tausta

DNA on geneettistä informaatiota, joka vaikuttaa vahvasti millaisia lajiyksilöt näyttävät ja millaisia ominaisuuksia heillä on. DNA:ta sijaitsee kromosomeissa bakteereissa, arkeissa, eläimissä, alkueläimissä, sienissä ja kasveissa – viruksissa sitä löytyy vapaana DNA:na sekä muina geneettisen informaation molekyyleinä. Pieniä määriä DNA:ta löytyy niin kasvi- kuin eläinsolujen viherhiukkasista ja/tai mitokondrioista. Biokemiallisilla menetelmillä voidaan eristää DNA:ta erilaisista kohteista, mutta miten tämä onnistuukaan ja mihin erotusmenetelmät perustuvat? Tässä työssä syvennyttään yksinkertaisiin ja turvallisiin työmenetelmiin, joilla kiivin DNA:n eristys voidaan aloittaa myöhempiä geneettisiä analyyskejä varten.

Työssä uutena erotusmenetelmänä esitetään DNA:n ulossuolaus, mitä käytetään myös jossain määrin proteiinien erotusmenetelmänä liuoksista. Kun suola liukenee veteen, liuoksen ionipitoisuus kasvaa mutta varausten netto, eli summa pysyy samana. Samalla vesiliuoksen tiheys kasvaa verrattuna tislattuun veteen. DNA:ssa on varauksellisia ryhmiä, esimerkiksi fosfaattiryhmät negatiivisesti varautuneita DNA:lle tyypillisessä ympäristössä. Kun positiivisten ionien ionipitoisuus kasvaa, muodostuu ioni-dipolisidoksia, jotka tasaavat DNA:n varausta lähemmäs hydrofobista varausjakaumaa. Dipoli-dipolisidokset veden kanssa korvautuvat siis ioni-dipolisidoksilla, ja DNA:n muodostamat sidokset keskenään lisääntyvät, mikä johtaa DNA:n saostumiseen (Kuva 1). Ulossuolauksessa on tärkeää kyllästä näytettä asteittain, ja menetelmät perustuvat useimmiten kokeilemalla löydettyyn tietoon, eli kokeellisen työskentelyn tuloksiin.



Kuva 1. Ulossuolaamisen vaiheet. Hyvin kylläisessä liuoksessa, eli kun suolapitoisuus on suuri, DNA ja proteiinit voivat saostua. DNA on negatiivisesti varautunut molekyylillä. Luotu [BioRenderillä](#).



Kokeellinen osio / Työn suoritus

1. Soseuta osa kiivistä MiniGrip -pussissa ja lisää 100 ml keitinlasiin, siirrä dekantterilasi jäähauteeseen
2. Sekoita 5 ml tiskiainetta 50 ml vettä
3. Kaada tiskiaineen vesiliuos kiivisoseen päälle ja lisää hyppysellinen suolaa ja sekoita hyvin lasisauvalla
4. Laita suodatinpaperi suppiloon ja kaada 20 ml kiivisosesta suodattimen kautta uuteen 100 ml keitinlasiin
5. Mittaa kuinka paljon olet saanut nestettä katsomalla lukemaa keitinlasin seinästä, lisää sama tilavuus jääkylmää etanolia keitinlasiin
6. DNA saostuu etanolia lisätessä rihmamaisena makromolekyylinä. Keri varovaisesti hieman DNA:ta puikon avulla. HUOM. Liikuta puikkoa varovaisesti, voit vahingossa mekaanisesti hajottaa DNA:n



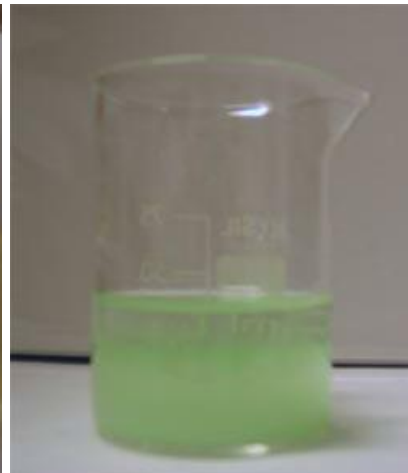
Kuva 1. Sekoitus



Kuva 2. suodatus



Kuva 3. Etanoli



Kuva 4. Saostus



Pohdinta työn jälkeen

Onnistuivatko kaikki työvaiheet? Menikö jotain vikaan? Kirjaa tapahtumat ja havainnot perustelui-neen.

Miksi kiivi soseutettiin työn alkuvaiheessa?

Kun soseutamme kiivin sen soluseinät (selluloosa) hajoavat ja tuman DNA saadaan liukenemaan veteen helpommin. Hienojakoisemmasta biomassasta uutto tapahtuu helpommin.

Millaisia solut ovat? Mitä ainetta solukalvot ovat? Mikä tarkoitus kiivisoseeseen lisätyllä tiskiaineella oli?

Solun kaikki kalvot koostuvat rasvamolekyyleistä (lipideistä). Tiskiaineessa on tensidejä, jotka irrot-tavat rasvaa. Tiskiaineen avulla saadaan auki solun ulompi solukalvo ja ytimen kalvo, jolloin DNA vapautuu solusta.

Kun DNA oli saatu eristetyksi vesiliuokseen, siihen lisättiin etanolia. Mikä tehtävä etanolilla oli? Mieti DNA:n liukoisuutta!

DNA ei liukene yhtä helposti etanoliin kuin veteen. Etanolin lisääminen vähentää DNA:n liukoisuutta, ja sen vuoksi DNA tulee esiin läpikuultavana geelinä.

Miksi DNA saostui lähelle vedenpintaa? Vinkki: tähän liittyy liuoksen suolaus

Kyseessä on ulossuolautuminen, DNA on normaalisti poolinen molekyyli, jolla on negatiivinen va-raus fosfaattiryhmien takia. Kun suola liukenee liuokseen enemmässä määrin, fosfaattiryhmät muo-dostavat sähköisen vuorovaikutuksen lisättyjen natriumionien kanssa ja negatiivinen varaus laskee, DNA:n poolisuus vähenee ja se hakeutuu poolittomampaan vuorovaikutukseen, eli tässä tapauk- sessa pois liuoksesta geelimäisinä möykkyinä. Kiivi on hapan hedelmä, alhainen pH voi vähentää negatiivista varausta DNA-molekyyllille, mikä voi periaatteessa mahdollistaa helpomman saostumi-sen.



Kemianluokka
Gadolin