

## Unità - La cellula: estrazione del DNA

Il DNA (acido desossiribonucleico) è contenuto nel nucleo di cellule vegetali ed animali. Il DNA contiene tutte le informazioni necessarie al funzionamento della cellula.

L'esperienza proposta si articola in tre fasi:

- 1) Demolizione della struttura cellulare ed inattivazione degli enzimi che attaccano il DNA.
- 2) Digestione delle proteine, in particolare degli istoni.
- 3) Precipitazione del DNA.

Materiali: 2 kiwi del peso complessivo di poco più di 100g.

Metodi: eliminare la buccia e schiacciare la polpa in un mortaio sino ad ottenere una poltiglia omogenea. Aggiungere la soluzione per la demolizione della struttura cellulare.

(soluzione composta da: 3g di NaCl (il comune sale da cucina), 90ml di acqua distillata e 10 ml di detersivo per piatti.)



La miscela così ottenuta viene messa in un becker da 250 ml, questo a sua volta è stato messo in un recipiente contenente acqua a 60 °C e vi è stato tenuto per 15 minuti. La miscela deve essere mescolata dolcemente con una bacchetta di vetro.

In queste condizioni le sostanze tensioattive presenti nel detersivo per piatti hanno sciolto le membrane cellulari mentre la soluzione salina ha inattivato gli enzimi che demoliscono il DNA.

Passati i 15 minuti bisogna mettere il becker in un recipiente con cubetti di ghiaccio per bloccare rapidamente le reazioni chimiche prima che anche il DNA possa essere distrutto.

Una volta che la miscela si è raffreddata dobbiamo filtrarla tramite un colino a maglie sottili. Si prendono poi alcune provette si distribuisce in ciascuna 5 ml di filtrato. In ciascuna provetta si aggiunge 1 ml di succo di ananas e si mescola. Si attende poi 5 minuti in modo che la bromelina presente nel succo di ananas digerisca gli istoni, le proteine legate al DNA.

E' necessario precedentemente mettere in congelatore dell'alcool etilico a 95 gradi lasciandovelo per alcune ore (l'alcool non gela alla temperatura del congelatore) in modo che al momento dell'uso sia molto freddo.



Con una pipetta si aggiunge in ciascuna provetta 6 ml di alcool freddo avendo cura di farlo colare lentamente lungo la parete delle provette in modo che non si mescoli col liquido già presente ma vada a formare uno strato ben separato.

Lasciando a riposo le provette per qualche minuto si è formerà, tra lo strato giallo-verdastro del fondo e lo strato limpido di alcool uno strato biancastro di materiale

dall'aspetto gelatinoso, si tratta del DNA che, essendo insolubile in alcool, precipita nell'interfaccia posta sul fondo. Con una bacchetta di vetro è possibile estrarre dallo strato gelatinoso il DNA e vederne la struttura filamentosa.

tra l'alcol e la miscela. Utilizzando una sottile bacchetta di vetro è possibile estrarre dallo strato gelatinoso il DNA e vederne la struttura

