

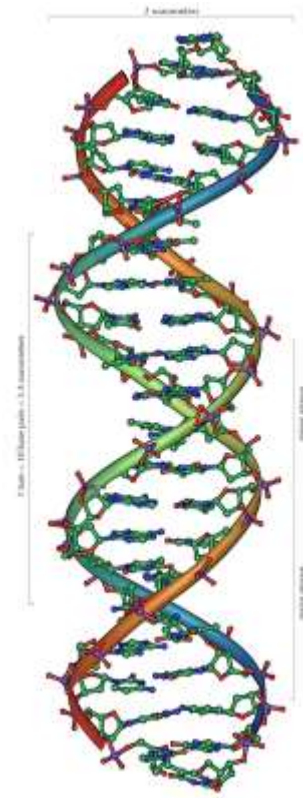
DNA eraldamise tööjuhend

DNA on lühend sõnast **desoksüribonukleiinhape** (ingl.k. *hape – acid*). See tähistab molekuli, millel on pärilikku informatsiooni säilitav roll enamikes elusorganismides. DNA paikneb rakutuumas ning on aluseks **kromosoomidele** (iga kromosoom sisaldab ühte DNA molekuli). Inimesel on somaatilistes ehk keharakkudes 46 kromosoomi ning sugurakkudes poole vähem ehk 23 kromosoomi igas rakus. Igas kromosoomis asuvad kindlas järjestuses **geenid** ning nende vahel mitmed mittegeensed järjestused. DNA on kui retsept, mille järgi organism kokku pannakse.

Üks DNA ahel võib olla väga pikk. Selleks, et rakku ära mahtuda, on DNA ahel mitmel erineval viisil kokku pakitud. Esmalt on lülid DNA ahelas kindlas järjekorras. Teiseks on kaks DNA ahelat kaksikheeliksina kokku keerdunud (*vt. pilti*). Kolmandaks on DNA ahel keerdunud ümber **histoonide** (*väikesed valgud*), mis aitab veelgi enam ahelat kokku pakkida.

Kui rakk parasjagu ei jagune, siis on kromosoomide moodustav aine tuumas lahti hargnenud. Raku jagunemise tulemusena tekib kaks tütarrakku, mis mõlemad peavad saama ühesuguse koguse DNAd. Selleks hetkeks, kui rakk hakkab jagunema, peab DNA hulk rakus olema kahekordistunud (et kumbki tütarrakk saaks sama koguse DNAd ja miski ei läheks kaotsi). Raku jagunemise hetkeks on kromosoomide moodustav aine kondenseerunud kromosoomideks ja neid on võimalik võimsama mikroskoobi all näha.

Puhas DNA on happeline, toatemperatuuril tahke, suhteliselt pehme, värvitu või õrnalt violetja varjundiga, vees hästi lahustuv polümeer.



DNA eraldamine puuviljast

Selleks, et uurida DNAd lähemalt, tuleb sellele võimalikult lähedale pääseda. DNA ahelaid on suhteliselt kerge nähtavale tuua mõnede puuviljade (*nt kiivid, banaanid, maasikad*) rakkudest.

Töövahendid: plastmasstopp, väike puuviljatükk (*piisab -1cm³ suurusest tükist*), väike minigrip-kott, käärid, pipett, natuke vett, hambatikk, nõudepesuvahend, 18%-ne soolalahus, tehniline piiritus (*hoida katse tegemiseni sügavkülmas*)

- Eemalda puuvilja koor ja pane viljaliha minigrip-kotti. Pigista õhk kotist välja ja sulge kott.
- Seejärel mudi viljaliha nii, et koti sisse moodustuks “toormoos”.
 - Antud katses vaatleme taimeraku DNAd. Taimerakke ümbritseb lisaks rakumembraanile veel ka tselluloosist rakukest. Rakkude purustamine mehhaanilisel teel aitab meil **vabaneda rakukestast**.
- Lõike koti alumisse nurka kääridega väike auk ja pigista kogu koti sisu plasttopsi.

- Lisa puuviljapüreele natuke vett (nii, et pool topsi oleks täis puuvilja ja vee segu).
- Lisa segule 3-4 tilka nõudepesuvahendit ja sega hambatikuga läbi.
 - Raku ümber on rakumembraan, mis koosneb fosfolipiidsest kaksikkihist. Ka rakutuumal on oma membraan. Lipiidid on biomolekulid, mille hulka kuuluvad muuhulgas ka rasvad ja õlid. Rasvade lagundamiseks sobib hästi mistahes pesuvahend (*näiteks nõudepesuvahend*).
- Võta puhas pipett ning lisa segule 1 pipetitäis (*-3 ml*) soolalahust. Sega läbi.
 - Soolalahus sisaldab positiivse laenguga ioone, mis aitavad negatiivse laenguga DNA ahela küljest valke (*histoone*) eemaldada ja hiljem DNA-l välja sadeneda.
- Viska hambatik minema. **Nüüd ei tohi enam segada!**
- Viimase asjana lisame segule piiritust. Võta pipetiga sügavkülmast võetud piiritust, aseta pipeti ots vastu topsiku sisemist seina ning tühjenda pipett aeglaselt **segu peale**. Vaja on tekitada -1 cm kiht piiritust ülejäänud segu peale.
- Nüüd peaksid nägema piiritusekihti kogunenud DNA ahelate kogumikke. Need on valkjad ja niitjad, ahelate küljes võib olla ka õhumulle. Paremaks nägemiseks võta väike LED-taskulamp, valgust piiritusekihti külje pealt ja samal ajal vaata kihti pealtpoolt.

Sel meetodil on võimalik ka enda DNAd nähtavaks tuua. Tuleb puuvilja asemel kasutada omaenda sülg. Proovitopsi satub siis kindlasti ka bakterite pärilikkusainet, kuid enamuse moodustab ikkagi meie rakkude DNA.

Meetodi põhimõtteid kasutatakse ka tänapäevastel laborites DNA uurimisel. Ükskõik, mis otstarbel DNAd parasjagu ka ei uurita, ikkagi on vaja see kõigepealt eraldada muust materjalist.

Millistel elualadel või millistes valdkondades tegeletakse DNA uurimisega?

.....

.....

.....

Mis võib meie rakkudes olevat DNAd kahjustada? Millistel juhtudel võivad muutused DNAs edasi päranduda?

.....

.....

.....