
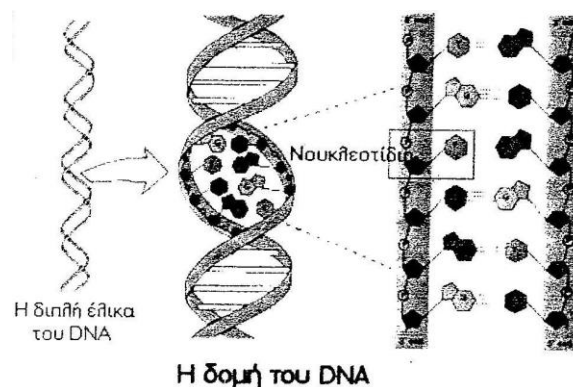


Ε.Κ.Φ.Ε. ΑΙΓΑΛΕΩ 	2^{ος} Πειραματικός Μαθητικός Διαγωνισμός Φυσικών Επιστημών για την Γ΄τάξη Γυμνασίων Βιολογία		
Όνοματεπώνυμο μελών ομάδας	1)..... 2)..... 3).....		
Σχολείο:		Ημερο μηνία:	Τετάρτη 16/5/2018
1. Απομόνωση Νουκλεϊκών οξέων από φυτικά κύτταρα 2. Μικροσκοπική παρατήρηση τριχώματος φύλλων ελιάς			
Διάρκεια: 45 λεπτά		Αριθμός ομάδας:	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ 1: Απομόνωση Νουκλεϊκών οξέων από φυτικά κύτταρα

Θεωρητικές επισημάνσεις

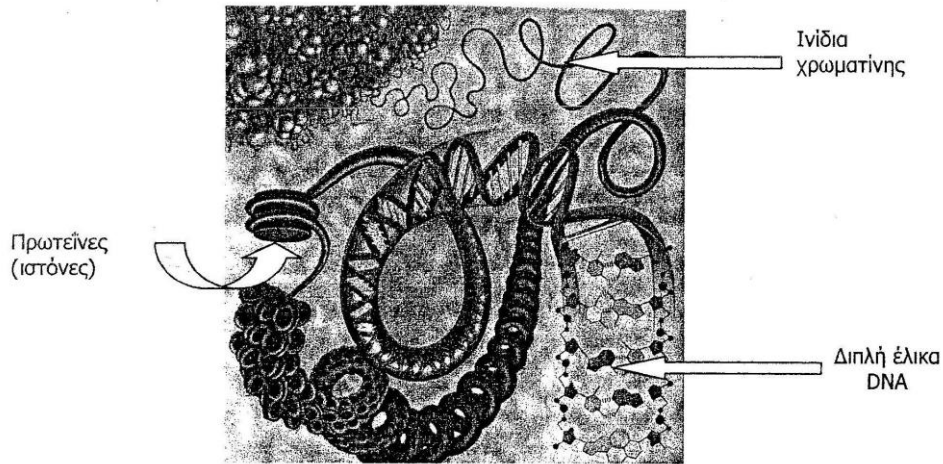
Το δεοξυριβονουκλεϊνικό οξύ (DNA) είναι πολυμερές απλούστερων χημικών ενώσεων, των νουκλεοτιδίων. Τα νουκλεοτίδια που απαρτίζουν το DNA περιέχουν δεοξυριβόζη και για αυτό ονομάζονται δεοξυριβονουκλεοτίδια. Για τον ίδιο λόγο το τελικό μόριο ονομάζεται δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DeoxyriboNucleic Acid – DNA).



Εικ. 1 – Η δομή του DNA

Το DNA αποτελείται από δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες. Η τελική μορφή του μορίου DNA στο χώρο είναι η μορφή της διπλής έλικας (Εικ. 1). Η σύνδεση αυτή προσδίδει ιδιαίτερη σταθερότητα στο DNA, γεγονός που εξυπηρετεί το βασικό του ρόλο ως γενετικό υλικό.

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα το DNA βρίσκεται στον πυρήνα του κυττάρου ενωμένο (πακεταρισμένο) με πρωτεΐνες (ιστόνες και μη ιστόνες), με τη μορφή ινιδίων χρωματίνης (Εικ. 2). Επίσης, ένα μικρό ποσοστό του συνολικού DNA του κυττάρου περιέχεται στα μιτοχόνδρια και στους χλωροπλάστες και περιέχει τμήμα των πληροφοριών που είναι απαραίτητο για τις λειτουργίες τους.



Εικ. 2 – Το «πακετάρισμα» του DNA στον πυρήνα του ευκαρυωτικού κυττάρου

Οι δεοξυριβόζες και οι φωσφορικές ομάδες συνιστούν το σκελετό του μορίου που είναι υδρόφιλος. Οι υδρόφοβες αζωτούχες βάσεις βρίσκονται στο εσωτερικό του μορίου. Σε διάλυμα με υψηλή συγκέντρωση άλατος διασπώνται οι χημικοί δεσμοί (διαμοριακές αλληλεπιδράσεις) μεταξύ του DNA και των πρωτεϊνών (ιστονών), γεγονός που οδηγεί στην απελευθέρωση του DNA στο διάλυμα. Αυτό συμβαίνει αφού προηγηθεί μηχανικά καταστροφή του ιστού και των κυττάρων με συνέπεια την απελευθέρωση του περιεχομένου του πυρήνα στο διάλυμα.

Στη συγκεκριμένη εργαστηριακή άσκηση θα απομονώσετε DNA από μπανάνα και θα μπορείτε να το παρατηρήσετε. Θα ομογενοποιήσετε κύτταρα μπανάνας απελευθερώνοντας συστατικά του κυττάρου όπως DNA, RNA, λιπίδια, ριβοσώματα καθώς και διάφορα μικρότερα μόρια. Στη συνέχεια θα κατακρημνίσετε το DNA με την προσθήκη αιθανόλης.

Σήμερα θα δείξετε τις ικανότητές σας και θα αξιολογηθείτε:

- για την ευχέρεια σας στην τέλεση πειραμάτων με απλά υλικά.
- Αν μπορείτε να διαπιστώσετε την χρησιμότητα των ενζύμων.
- Αν μπορείτε να συσχετίσετε την απομόνωση νουκλεϊκών οξέων με την καθημερινότητα.
- Αν μπορείτε να διαπιστώσετε την ύπαρξη DNA στις τροφές σας.

Όργανα και υλικά απαραίτητα για το πείραμα

- 100g μπανάνα (περίπου μισή μπανάνα)
- Διάλυμα εκχύλισης DNA. (Για την παρασκευή διαλύματος εκχύλισης DNA, χρειαζόμαστε: 10ml απορρυπαντικού πιάτων, όχι συμπυκνωμένου (4 κουταλάκια), 5 g μαγειρικό αλάτι (2 κουταλάκια) και 100ml αποσταγμένο νερό)
- 10ml οινόπνευμα (αιθανόλη) παγωμένο (τοποθετούμε το μπουκαλάκι του οινοπνεύματος στην κατάψυξη, 24 ώρες πριν από τη διεξαγωγή του πειράματος)
- Υγρό φακών επαφής
- Σακουλάκι τύπου polybag

- Ένα μεγάλο χωνί
- Ποτήρι ζέσεως 250ml
- Γυάλινη ράβδος ανάδευσης
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Στήριγμα δοκιμαστικών σωλήνων
- Ορθοστάτης
- Σύνδεσμος απλός
- Δακτύλιος με στέλεχος
- Ένα τετράγωνο κομμάτι τούλι
- Φίλτρο του καφέ
- Πλαστικό κουταλάκι
- Μαχαίρι
- Ξύλινο καλαμάκι για σουβλάκι ή γυάλινη ράβδος ανάδευσης

Διεξαγωγή

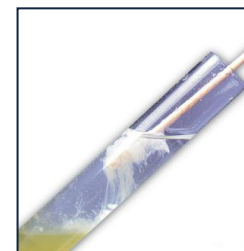
1. Κόβουμε την μπανάνα σε μικρά κομμάτια, τα τοποθετούμε μέσα σε ένα σακουλάκι και τα πολτοποιούμε με το χέρι μας όσο το δυνατόν περισσότερο (μέχρι να γίνει σαν χυμός).
2. Φτιάχνουμε το διάλυμα εκχύλισης DNA: στο ποτήρι ζέσεως των 250ml βάζουμε τα 100ml νερού, τα 10ml απορρυπαντικού πιάτων και τα 5 g μαγειρικό αλάτι. Ανακατεύουμε προσεκτικά με την γυάλινη ράβδο μέχρι να διαλυθεί το αλάτι χωρίς να δημιουργηθεί αφρός.
3. Προσθέτουμε στο διάλυμα εκχύλισης του DNA την πολτοποιημένη μπανάνα και ανακατεύουμε προσεκτικά με την γυάλινη ράβδο, χωρίς να δημιουργηθεί αφρός, για δύο λεπτά.
4. Τοποθετούμε το χωνί μέσα σε ένα μεγάλο δοκιμαστικό σωλήνα και βάζουμε το τούλι μέσα στο χωνί.
5. Φιλτράρουμε το μίγμα, (με το διάλυμα εκχύλισης του DNA και της μπανάνας) στο τούλι και συλλέγουμε το διήθημα μέσα σε ένα μεγάλο δοκιμαστικό σωλήνα.
6. Φιλτράρουμε το διήθημα για δεύτερη φορά με φίλτρο του καφέ. Συλλέγουμε και πάλι το νέο διήθημα μέσα σε ένα μεγάλο δοκιμαστικό σωλήνα.
7. Προσθέτουμε 1 mL αποσταγμένο νερό και ανακατεύουμε καλά (το στάδιο 7 παραλείπεται αν το σχηματισμένο διάλυμα είναι αρκετά αραιό ή επαναλαμβάνεται μέχρι το σχηματισμένο διάλυμα να γίνει αραιό).
8. Από το διήθημα βάζουμε περίπου 2-3ml σε δύο μικρούς δοκιμαστικούς σωλήνες (1/4 του σωλήνα).
9. Προσθέτουμε 1-2 σταγόνες υγρού φακού επαφής σε κάθε μικρό δοκιμαστικό σωλήνα.
10. Αφήνουμε το διάλυμα να ηρεμήσει για 5min, τοποθετώντας τους σωλήνες στο στήριγμά τους.
11. Κρατώντας σταθερά το μικρό δοκιμαστικό σωλήνα γερμένο ελαφρά στο πλάι, προσθέτουμε σιγά – σιγά το παγωμένο οινόπνευμα με τρόπο ώστε να κυλάει απαλά στο τοίχωμα του δοκιμαστικού σωλήνα μέχρι να δημιουργηθεί πάνω από το διήθημα μια στοιβάδα οινόπνευματος πάχους 2-3cm.



12. Τοποθετούμε το δοκιμαστικό σωλήνα στο στήριγμα, χωρίς να τον μετακινούμε για 2-3 λεπτά. Παρακολουθούμε την κατακρήμνιση των νουκλεϊκών οξέων (DNA + RNA) στο στρώμα της αλκοόλης. Μια λευκή ουσία, υπό μορφή νέφους, θα γίνει ορατή στη μεσόφαση όπου τα δύο υγρά επικοινωνούν.



13. Μπορούμε να μαζέψουμε το νέφος των νουκλεϊκών οξέων, που σχηματίζεται, με το ραβδάκι ή ένα καλαμάκι από σουβλάκι (βυθίζουμε το ραβδάκι μέσα στο οινόπνευμα και το περιστρέφουμε αργά ώστε να τυλιχτεί το νέφος των νουκλεϊκών οξέων γύρω από αυτό. **Μην ανακατέψετε.**)



14. Συμπληρώστε τις ερωτήσεις του Φύλλου Αξιολόγησης.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ 2: Μικροσκοπική παρατήρηση τριχώματος φύλλων

Θεωρητικές επισημάνσεις

Στα φύλλα ορισμένων φυτών συναντάμε μονοκύτταρες ή πολυκύτταρες τρίχες, όπως:

- Πολυκύτταρες λεπιοειδείς τρίχες με αστεροειδή μορφή.
- Πολυκύτταρες διακλαδισμένες τρίχες.
- Μονοκύτταρες νύσσουσες τρίχες (π.χ. τρίχες με διογκωμένο άκρο που περιέχουν οξέα όπως στην τσουκνίδα).

Σήμερα θα δείξετε τις ικανότητές σας και θα αξιολογηθείτε αν:

- μπορείτε να χρησιμοποιήσετε το μικροσκόπιο.
- Είστε σε θέση να παρασκευάσετε ένα φυτικό νωπό παρασκεύασμα.

Όργανα και υλικά απαραίτητα για το πείραμα

- Φωτονικό Μικροσκόπιο
- Αντικειμενοφόροι πλάκες
- Καλυπτρίδες
- Λεπίδα ανατομίας - Ξυραφάκι
- Σταγονομετρικό φιαλίδιο με νερό
- Φύλλα ελιάς

Διεξαγωγή

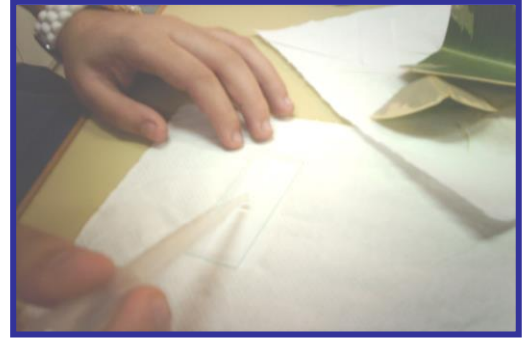
Αφαιρούμε με το ξυραφάκι μία μικρή ποσότητα τριχώματος από την επάνω επιφάνεια του φύλλου της ελιάς και το τοποθετούμε σε αντικειμενοφόρο πλάκα με τη βοήθεια της βελόνας ανατομίας.



Ρίχνουμε με το σταγονομετρικό φιαλίδιο μία σταγόνα νερό πάνω στο παρασκεύασμα. Τοποθετούμε προσεκτικά την καλυπτρίδα για να σκεπάσουμε το παρασκεύασμα ώστε να μη σχηματιστούν φυσαλίδες. Απομακρύνουμε την περίσσεια του νερού με απορροφητικό χαρτί.

Παρατηρούμε το παρασκεύασμα στο μικροσκόπιο ξεκινώντας από τη μικρότερη μεγέθυνση. Εστιάζουμε. Συνεχίζουμε με τη μεγαλύτερη μεγέθυνση. Εστιάζουμε.

Συμπληρώστε το Φύλλο Αξιολόγησης που σας δόθηκε καταγράφοντας την τελική μεγέθυνση παρατήρησης και σχεδιάζοντας τη μορφή του τριχώματος των φύλλων στην μεγέθυνση αυτή. Φωνάξτε τον επιτηρητή σας να δει το παρασκεύασμα που σχεδιάσατε, πριν το απομακρύνετε και κλείσετε το μικροσκόπιο.



ΦΥΛΛΟ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

Πειραματική δραστηριότητα 1: Απομόνωση Νουκλεϊκών οξέων από φυτικά κύτταρα

1. Για ποιο λόγο πολτοποιούμε και μετά φιλτράρουμε το δείγμα;

.....
.....
.....
.....

2. Τα ένζυμα που χρησιμοποιούμε διασπών πρωτεΐνες. Γιατί προσθέσαμε αυτά τα ένζυμα στο μείγμα;

.....
.....
.....
.....

3. Τα νουκλεϊκά οξέα που παρατηρήσατε σε ποιόν οργανισμό ανήκουν;

.....
.....
.....
.....

4. Να ονομάσετε τα νουκλεϊκά οξέα που εμφανίζονται στην επιφάνεια επαφής διαλύματος – αλκοόλης.

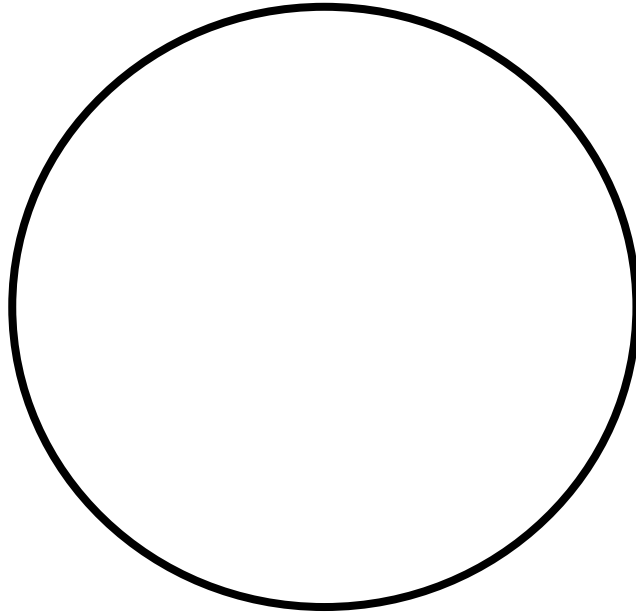
.....
.....
.....
.....

ΦΥΛΛΟ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

Πειραματική δραστηριότητα 2: Μικροσκοπική παρατήρηση τριχώματος φύλλων

Τελική μεγέθυνση παρατήρησης:

Σχέδιο:



Καλή επιτυχία!!!

**2^{ος} Πειραματικός Μαθητικός Διαγωνισμός
Φυσικών Επιστημών για την Γ΄τάξη Γυμνασίων
στην Βιολογία**

Ομάδα:

Πειραματική διαδικασία (60 μονάδες)	
Μέρος Ι: Απομόνωση Νουκλεϊκών οξέων από φυτικά κύτταρα	
Οργάνωση ομάδας	10 μονάδες
Διαδικασία εκτέλεσης του πειράματος	10 μονάδες
Αποτελέσματα (σχηματισμός νέφους DNA)	10 μονάδες
Μέρος ΙΙ: Μικροσκοπική παρατήρηση τριχώματος φύλλων ελιάς	
Παραλαβή υλικού	5 μονάδες
Τοποθέτηση υλικού στην αντικειμενοφόρο	2 μονάδες
Τοποθέτηση καλυπτρίδας	5 μονάδες
Άνοιγμα μικροσκοπίου (φωτισμός, επιλογή του μικρότερου φακού)	2 μονάδες
Τοποθέτηση παρασκευάσματος	2 μονάδες
Εστίαση	5 μονάδες
Εναλλαγή φακών	2 μονάδες
Ικανότητα αναζήτησης με αλλαγή θέσης του παρασκευάσματος	2 μονάδες
Απομάκρυνση παρασκευάσματος (μετά την επαναφορά του μικρότερου φακού)	5 μονάδες
Φύλλο εργασίας και αξιολόγησης (40 μονάδες)	
Μέρος Ι: Απομόνωση Νουκλεϊκών οξέων από φυτικά κύτταρα	
Ερώτηση 1	5 μονάδες
Ερώτηση 2	5 μονάδες
Ερώτηση 3	5 μονάδες
Ερώτηση 4	5 μονάδες
Μέρος ΙΙ: Μικροσκοπική παρατήρηση τριχώματος φύλλων ελιάς	
Τελική μεγέθυνση παρατήρησης	10 μονάδες
Σχέδιο	10 μονάδες
ΣΥΝΟΛΟ:	

ΣΥΝΟΛΟ: 100 μονάδες