

Presto o tardi questo sito non sarà piú accessibile.
Il suo contenuto é disponibile al nuovo indirizzo www.funsci.it dove continuerà la sua attività.

Come Estrarre DNA dalla Frutta

G. Carboni, Settembre 2005



INDICE

[INTRODUZIONE](#)

[PROCEDURA](#)

[Riassunto della procedura](#)

[Operazioni preliminari](#)

[Preparazione della soluzione di estrazione](#)

[Preparazione della poltiglia](#)

[Estrazione del DNA](#)

[Filtrazione](#)

[Rimozione delle proteine](#)

[Evidenziamento del DNA](#)

[Osservazione al microscopio](#)

[CONCLUSIONE](#)

[BIBLIOGRAFIA](#)

INTRODUZIONE △

Da alcuni anni, il DNA è diventato protagonista delle riviste scientifiche e spesso anche di molte notizie che compaiono sui giornali ed in TV. Ma che cos'è il DNA? Il DNA è una lunga molecola che contiene il "progetto" di un determinato essere vivente, sia esso un vegetale, un animale o anche un microrganismo. Negli organismi superiori, il DNA è contenuto nel nucleo delle cellule. Salvo alcune eccezioni come le cellule del sangue dei mammiferi che sono prive di nucleo, tutte le cellule di un organismo vivente possiedono una copia di DNA. Le cellule ne utilizzano determinate parti o geni per produrre le proteine di cui hanno bisogno. Per approfondire la conoscenza del DNA nella sua struttura, le sue funzioni ed il meccanismo della produzione proteica, vi consiglio di leggere il testo [1] indicato in Bibliografia che è scritto molto bene ed è ricco di ottime illustrazioni. In questo articolo, descrivo un semplice esperimento che vi permetterà di estrarre un po' di DNA da una banana, ma potete usare anche altri frutti e perfino ortaggi. Si tratta di un esperimento che può essere realizzato tanto in casa quanto in un laboratorio scolastico.

PROCEDURA △

RIASSUNTO DELLA PROCEDURA △

Sostanzialmente, la procedura che impiegheremo si basa sul fatto che la membrana esterna delle cellule e quella del loro nucleo è composta da sostanze grasse le quali possono essere demolite usando del semplice detersivo per piatti. Una delle prime operazioni da compiere è quella di frammentare il frutto in modo da separare il più possibile le cellule fra loro per esporle all'azione del detersivo. Poi si mescola del detersivo alla poltiglia del frutto, liberando come si è detto il DNA dalle membrane che lo trattenevano. Si filtra il materiale per lasciar passare l'acido nucleico e trattenere i residui cellulari. Infine il DNA viene fatto precipitare in alcool dove diventa visibile. Il DNA così ottenuto può essere osservato al microscopio e può essere usato per successivi esperimenti di elettroforesi o di altro tipo.

MATERIALI

- pentola;
- termometro;
- insalatiera;
- cubetti di ghiaccio;
- 50 cc di alcool al 95 % in contenitore chiuso con tappo;
- stracci e fazzoletti di carta.

METODO

- Il giorno prima dell'esperimento, preparate dei cubetti di ghiaccio;
- almeno 2 ore prima di iniziare, ponete nel freezer una bottiglia di plastica o un vasetto; contenente 50 cc di alcool denaturato al 95 %. Il contenitore deve essere chiuso anche per evitare il pericolo che i vapori di alcool possano prendere fuoco a causa di possibili scintille elettrostatiche o di altro tipo;
- 15 minuti prima di iniziare, scaldate una pentola d'acqua di rubinetto portandola a 60 °C;



Figura 2 - Prima di iniziare l'esperimento è necessario compiere le operazioni preliminari descritte a fianco.

PREPARAZIONE DELLA SOLUZIONE DI ESTRAZIONE △

Come ho detto, il DNA è contenuto nel nucleo delle cellule della frutta che stiamo impiegando. Per liberarlo, è necessario demolire le membrane cellulari e quelle del nucleo. Poiché queste membrane sono costituite da fosfolipidi, molecole ricche di grassi, le scioglieremo usando del detersivo liquido. Useremo anche un po' di sale che ha la funzione di facilitare l'eliminazione delle proteine su cui è avvolto il DNA (gli istoni).

MATERIALI

- 100 cc di acqua distillata (in alternativa: acqua di rubinetto);
- una bilancia per pesare pochi grammi (se possibile);
- 3 g di sale da cucina (1 cucchiaino da the raso);
- una siringa da 10 cc (senza l'ago);
- 10 cc di detersivo liquido per piatti;
- un becker da 100 cc;
- una bacchetta di vetro.

METODO

- Versate 3 g di sale e 80 cc di acqua distillata in un becker da 100 cc;
- mescolate fino alla completa dissoluzione del sale;
- con la siringa, prelevate 10 cc di detersivo liquido e aggiungetelo alla soluzione;
- con acqua distillata, portate la soluzione a 100 cc;
- mescolate per omogeneizzare la soluzione, evitando di produrre bolle;
- la soluzione di estrazione è pronta.



Figura 3 - Preparazione della soluzione di estrazione.

PREPARAZIONE DELLA POLTIGLIA △

Questa operazione ha la funzione di separare le cellule le une dalle altre e di esporle direttamente all'azione della soluzione di estrazione.

MATERIALI

- 100 g di banana (oppure: mela, pera, caco, kiwi, piselli, cipolla, etc.);
- bilancia;
- coltello;
- tagliere e forchetta;
- becker da 250 cc;
- un cucchiaino.

METODO

- Mettete 100 g di polpa di banana (senza la buccia) su di un tagliere e schiacciatela con una forchetta fino a trasformarla in una poltiglia. Se si tratta di una cipolla, con un coltello fatene dei cubetti di circa 5 mm di lato o più piccoli. Potete usare anche un mortaio oppure un frullatore. In questi casi, non sminuzzate troppo a lungo il materiale;
- versate la poltiglia in un becker da 250 cc.



Figura 4 - Preparazione della poltiglia del frutto.

ESTRAZIONE DEL DNA △

Questa operazione ha lo scopo di demolire le membrane cellulari e quelle del loro nucleo per liberare il DNA. La poltiglia verrà portata a 60°C per accelerare e favorire il processo, oltre che per disattivare certi enzimi quali la DNasi che potrebbero degradare il

DNA. La permanenza a quella temperatura per lungo tempo, comincia però a degradare ugualmente il DNA frammentandolo. Questa è la ragione per cui, dopo 15 minuti, bisogna raffreddare la poltiglia.



Figura 5 - Versate la soluzione di estrazione nella poltiglia.



Figura 6 - La poltiglia deve essere tenuta a 60°C per 15 minuti e poi a circa 0°C per 5 minuti.

MATERIALI

- termometro;
- pentola con acqua a 60°C;
- insalatiera con acqua e cubetti di ghiaccio.

METODO

- Versate la soluzione di estrazione nella poltiglia;
- ponete il becker a bagnomaria nella pentola con acqua a 60°C;
- mescolate la poltiglia in modo da distribuire la soluzione di estrazione e da uniformare la temperatura;
- dopo 15 minuti, ponete il becker a bagnomaria nell'acqua con cubetti di ghiaccio;
- mescolate la poltiglia per uniformare la temperatura;
- dopo 5 minuti, togliete il becker dall'acqua fredda e preparatevi per la filtrazione.

FILTRAZIONE △



Figura 7 - Filtrate la poltiglia.

Con questa operazione, raccogliamo un liquido ricco di DNA, separandolo dai residui cellulari e dagli altri tessuti del frutto che verranno scartati.

MATERIALI

- colino del diametro di circa 12 cm;
- carta da filtro per caffè (la carta da filtri per laboratorio è troppo fitta). Va bene anche carta in rotolo per lavori di cucina, purchè osservandola per trasparenza non vediate fori visibili;
- tazza.

METODO

- Mettete il colino sopra una tazza;
- prendete un foglio di carta da filtri, bagnatelo e sistematelo nel colino;
- versate un po' di poltiglia sul filtro, facendo attenzione ad evitare che esca dal filtro;
- mescolate con cura per favorire la filtrazione;
- otterrete un liquido ricco di DNA.

RIMOZIONE DELLE PROTEINE (opzionale) △

Con questa operazione otteniamo un DNA più puro, ma ai fini dell'osservazione del DNA non è indispensabile. Il DNA è avvolto attorno a proteine chiamate *istoni*. Per allontanarle, si possono usare enzimi proteolitici quale per esempio la "Proteasi". Questa sostanza deve essere acquistata presso negozi che vendono prodotti di chimica. E' possibile sostituirla efficacemente con una sostanza più facile da reperire. Si tratta del succo di ananas, il quale contiene la bromelina, una sostanza capace di demolire le proteine negli amminoacidi di cui sono composte e di facilitarne quindi l'eliminazione.

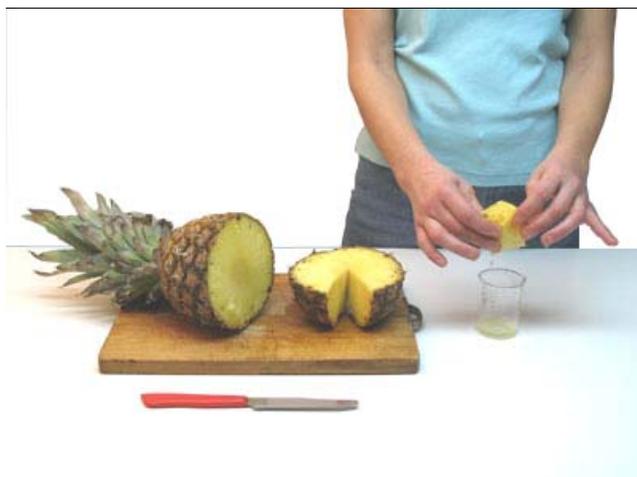


Figura 8 - Spremitura dell'ananas.



Figura 9 - In una provetta, inserite 5 cc di filtrato e 1 cc di succo di ananas.

MATERIALI

- Enzima proteolitico (es: Proteasi oppure succo di ananas);
- una siringa da 5 cc.

METODO

- Versate in una provetta 5 cc di soluzione filtrata;
- aggiungete 1 cc di succo di ananas ed agitate;
- aspettate 2 - 3 minuti per lasciare il tempo alla bromelina di agire.

EVIDENZIAMENTO DEL DNA ▲

Il DNA è molto solubile in acqua, dove diviene invisibile, mentre è invece insolubile in alcool, nel quale precipita e si rende visibile. Aggiungendo alcool alla soluzione presente nella provetta, rendiamo visibile il DNA.



Figura 10 - Versate molto lentamente alcool gelido nella provetta.



Figura 11 - Provetta con DNA di banana frammisto a numerose bollicine d'aria liberate dall'alcool in via di riscaldamento. In figura 1, vi sono meno bollicine e il DNA è meglio visibile come una masserella lattiginosa.

MATERIALI

- Alcune provette per l'eventuale ripetizione dell'operazione;
- 1 porta provette;
- alcool freddo (tenuto nel congelatore).

METODO

- Versate **lentamente** nella provetta della fase precedente dell'alcool freddo, evitando che si mescoli con il filtrato;
- il volume dell'alcool deve essere circa pari a quello della soluzione;
- lasciate riposare la provetta per 5 minuti per consentire al DNA di precipitare e di raccogliersi;

Ora, all'interfaccia fra l'alcool e il sottostante filtrato dovrete ora poter osservare una sostanza bianchiccia, la cui quantità tende ad aumentare. Si tratta del DNA della banana. Purtroppo, all'interno di questa masserella lattiginosa, vi saranno numerose bollicine d'aria. Ciò è dovuto al fatto che la solubilità dei gas atmosferici in un liquido freddo è maggiore di quella in un liquido caldo, così mentre l'alcool era nel congelatore ha assorbito gas che ora riscaldandosi espelle.

OSSERVAZIONE AL MICROSCOPIO (opzionale) ▲

MATERIALI

- alcuni vetrini da microscopio puliti;
- gancetto realizzato con filo metallico lungo;
- colorante per nucleo (es: Toluidina, Blu di Metilene, Aceto-Orceina);
- contagocce;
- microscopio.

METODO

- Con un lungo filo metallico terminante in un uncino, estraete un po' di DNA dalla provetta e ponetelo sopra ad un vetrino pulito;
- pareggiate un po' la masserella. Coloratela con un colorante nucleare;
- se necessario, aggiungete un po' d'acqua e montate il coprioggetti.

Osservando questo preparato al microscopio, non vi aspettate di vedere la famosa struttura a scala a pioli del DNA. Neanche con un microscopio elettronico si riesce a vederla. Vedrete invece dei fiocchetti alquanto confusi, vagamente filamentososi, come quello di figura 12.

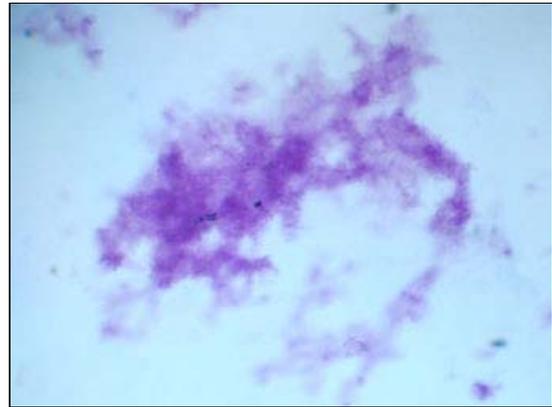


Figura 12 - Ammasso di DNA di banana a circa 100 X (colorato con Toluidina all'1%).

CONCLUSIONE 

Questo esperimento non è stato poi così difficile da realizzare, vero? Vi ha anche permesso di avere una idea, per quanto piccola, dei procedimenti che vengono usati in biologia molecolare. Spesso sono operazioni semplici, come queste. In altri casi invece si tratta di procedure complesse. In tutti i casi è però indispensabile avere delle conoscenze di biologia e di chimica per capire quello che si sta facendo e per operare in modo corretto. Se questo tipo di esperimenti vi ha stimolato l'appetito, sappiate che in rete potete trovarne molti altri. A questo scopo, guardate in Bibliografia, al punto [2]. L'estrazione di DNA può essere il primo passo di diversi altri esperimenti.

BIBLIOGRAFIA 

1 - Helena Curtis, N. Sue Barnes; "**Le Scienze Biologiche**"; Zanichelli, 744 pp; Testo di biologia per scuole superiori.

2 - http://www.funsci.com/texts/wsites_en.htm Cercate il termine: "SAPS". Troverete le istruzioni per realizzare altri esperimenti di biologia.

Ricerche in Internet: dna estrazione, dna proteine amminoacidi ribosomi.

[Invia i tuoi commenti sull'articolo](#)

