إجابات الاستقصاءات العملية

استقصاء عملي ١-١: استخلاص DNA البصل (إثرائي)

الأهداف التعليمية
• يجمع الملاحظات والقياسات والتقديرات ويسجلها ويقدمها.

المدّة

يمكن إكمال هذا النشاط في حصة واحدة مدتها ٤٠ دقيقة، ومع ذلك، قد ترغب في ترك محلول البصل في الثلاجة طوال الليل ليترشح جيدًا (الخطوة 5).

توجيهات حول الاستقصاء

- يجب أن يكون الطلبة على دراية بالمكوّنات العملية في هذا الاستقصاء.

ستحتاج إلى

المواد والأدوات:	
• سائل الغسيل 5 mL تقريبًا	• أنبوبة اختبار كبيرة
• ملح طعام 3 g تقريبًا	• ماصة عدد 2
• ماء صنبور 90 mL	• 2–3 قطرات من إنزيم بروتييز
• كأس زجاجية 250 mL عدد 2	• إيثانول بارد جدًّا من الثلاجة (10 mL)
• ملعقة	• ساق زجاج للتقليب أو عيدان خشبية
• بصل مقطع إلى مكعبات صغيرة	• حمّام مائي على درجة حرارة 60 °C
• ساعة إيقاف	• حمّام مائي مثلج
• ورق ترشيح أو قطع شاش أو قطعة قماش	• خلّاط كهربائي
• قمع	• حامل أنابيب اختبار

ملاحظات وتوجيهات إضافيّة

- يمكن تزويد الطلبة ببصل مقطع لتوفير الوقت. إذا لم يتوافر البصل، يمكن تكرار الاستقصاء باستخدام البازلاء المفلوقة (المقسومة) Split peas، أو بيض السمك. ويمكن تكليف مجموعات الطلبة اختيار عيّنات مختلفة لمقارنة المواد الحيوية. توصي بعض المصادر باستخدام الفراولة والموز، لكن هذه الأنواع من الفاكهة تنتج البكتين بدلًا من DNA.

المعلم الافتراضي الشامل

- يجب استخدام إيثانول شديد البرودة للحصول على نتائج جيدة. ضعه في الثلاجة داخل زجاجة بلاستيكية محكمة الإغلاق غير منفذة للبخار لمدة 24 ساعة على الأقل، قبل تنفيذ الاستقصاء. يمكن تزويد الطلبة به مباشرة من الثلاجة، أو خزنه في غرفة الصف في حمّام مائي مثلج.
- يمكن استخدام عصير الأناناس أو محلول تنظيف العدسات اللاصقة أو مطري اللحوم Meat tenderiser في حال عدم توافر إنزيم البروتييز، ويمكن إضافة عصير الأناناس أو محلول تنظيف العدسات اللاصقة بكمية إنزيم البروتييز نفسها (2-3 قطرات تقريبًا). استخدم جزءًا واحدًا من مطري اللحوم مع 19 جزءًا من الماء لتحضير محلول إنزيمي، أو ببساطة، ثم أضف مقدارًا قليلًا جدًا منه إلى أنبوبة الاختبار الكبيرة.
- قد يضع الطلبة DNA تمّ جمعه على منشفة ورقية جافة، وقياس كتلته مقارنة بكتلة البصل الأولية (اختياري).
- يمكن صنع خطاف من ماصة بلاستيكية عن طريق تسخين طرفها بلطف إلى أن تصبح مرنة، مع استخدام الملقط لتشكيلها بحسب الرغبة. ويمكن بعد ذلك استخدام الخطاف لالتقاط DNA من أنبوبة الاختبار الكبيرة.

⚠ احتياطات الأمان والسلامة

- يجب أن يقرأ الطلبة قسم إرشادات السلامة الوارد في كتاب التجارب العملية والأنشطة قبل إجراء هذا الاستقصاء.
- يجب اتّباع إجراءات السلامة القياسية في المختبرات دائمًا.
- يجب أن يرتدي الطلبة نظارات واقية.
- يجب توخّي الحذر عند التعامل مع إنزيم البروتييز، كما في التعامل مع الإنزيمات الأخرى، لمنع ملامسته للجلد والعينَين. ويجب أن يرتدي الطلبة نظارات واقية، وأن يتجنبوا ملامسة الإنزيم للجلد، وغسل أي انسكاب على الجلد فورًا.
- الإيثانول المستخدم سيكون شديد البرودة، لذا يجب توخّي الحذر عند الإمساك بحاوياته.
- الإيثانول شديد القابلية للاشتعال لذا تأكد من عدم وجود لهب مكشوف قريب من مكان العمل، وخزّنه في حاوية منتصبة محكمة الإغلاق غير منفذة للبخار، مع كتابة مسمياتها.

المعلم الإلكتروني الشامل

توجيهات حول إجراء الاستقصاء

- يزيد استخدام الإيثانول المثلج والماء المثلج من إنتاج DNA. وتبطئ درجات الحرارة المنخفضة من نشاط إنزيمات ديوكسي ريبونوكلييز DNase التي يمكن أن تكسّر DNA. يساعد الإيثانول البارد أيضًا على ترسب DNA بسرعة أكبر.

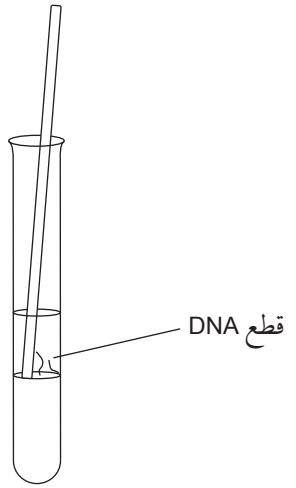
إذا واجه الطلبة صعوبة في رؤية DNA، فحاول غمس ساق زجاجية أسفل السطح الفاصل بين محلول البصل والإيثانول، ثم حرك الساق بلطف إلى الأعلى باتجاه طبقة الإيثانول لحفز الترسيب. قد تكون بحاجة إلى تركه لبضعة دقائق قبل محاولة استخلاص DNA.

هذا إجراء بسيط بحيث يمكن اتباعه، لذا وكتحدٍّ إضافي، زوّد الطلبة بمواد حيوية مختلفة للتقييم، واطلب إليهم أن يزنوا موادهم الحيوية في البداية، ثم يزنوا DNA المستخلص في النهاية، وحساب النسبة المئوية للمادة الجينية في عيّناتهم.

نتائج عيّنة

انظر الشكل ١-١.

- عند السطح الفاصل للسائلين (الإيثانول البارد ومستخلص البصل)، يمكن مشاهدة تكوّن مادة بيضاء. وعند إدخال ساق زجاجية في هذه المادة، وتحريكها بشكل دائري ثم رفعها إلى الأعلى برفق، يمكن سحب خيوط بيضاء طويلة من أنبوبة الاختبار.
- هذه المادة البيضاء هي DNA ويمكن إجراء المزيد من الفحص والتحليل لها.



الشكل ١-١

إجابات أسئلة كتاب التجارب العملية والأنشطة (باستخدام نتائج العيّنة)

١. سيفكّك سائل الغسيل غشاء سطح الخلية والغلاف النووي عن طريق تكسير الدهون في الطبقة الثنائية للدهون المفسفرة فيهما. وسيؤدي ذلك إلى إطلاق المادة النووية من الخلية، وسيبدأ أيضًا بتكسير بروتينات الهستون المرتبطة بـ DNA، والتي تبقي DNA ملتفًا في الكروموسومات.

٢. ستمسخ الحرارة المرتفعة أي إنزيمات موجودة بما في ذلك إنزيمات DNase، والتي كانت ستبدأ بتكسير DNA إلى أجزاء أصغر. وستحفز الحرارة أيضًا تكسير أغشية الخلية وجدارها الخلوي لإطلاق DNA.

٣. سترتبط أيونات الصوديوم موجبة الشحنة بمجموعات الفوسفات سالبة الشحنة في جزيئات DNA. وهذا يساعد على ترسب جزيئات DNA في الماء بدل ذوبانها فيه.

٤. سيقوم إنزيم البروتييز بمسخ بروتينات الهستون المرتبطة بـ DNA، ما يسبب فكّ التفاف DNA إلى خيوط بيضاء طويلة.

٥. لا تحتوي بدائيات النواة مثل البكتيريا على DNA داخل غلاف نووي، لذلك يؤدي تحلل غشاء الخلية فقط إلى إطلاق DNA، كما لا تحتوي بدائية النواة على هستونات مرتبطة بـ DNA، وبالتالي لا توجد حاجة إلى إضافة البروتييز (على الرغم من وجود بعض البروتينات الأساسية الشبيهة بالهستون والتي ترتبط بـ DNA). لذلك، قد يكون استخلاص DNA من مزرعة بكتيرية أسهل.

المعلم الإلكتروني الشامل