

THÍ NGHIỆM SỬ DỤNG ENZIM TRONG QUẢ DỨA TƯƠI ĐỂ TÁCH CHIẾT ADN

1. Mục tiêu

Sau khi thực hành thí nghiệm này học sinh cần :

- Tự mình tiến hành tách chiết được ADN ra khỏi tế bào bằng các hóa chất và dụng cụ đơn giản theo quy trình đã cho.
- Rèn luyện các kỹ năng thực hành (các thao tác thí nghiệm như : sử dụng các dụng cụ thí nghiệm, pha hóa chất...).

2. Chuẩn bị

a) Mẫu vật

- Dứa tươi (không quá xanh hoặc quá chín): 1 quả.
- Gan gà tươi hoặc gan lợn : 1 buồng gan gà cho 1 nhóm học sinh.

b) Dụng cụ và hóa chất

- Ống nghiệm đường kính 1 - 1,5 cm, cao 10-15 cm, pipet, cốc thủy tinh, máy xay sinh tố hay chày cối sứ hoặc dụng cụ khác để nghiền mẫu vật. dao, thớt, phễu, vải màn hoặc lưới lọc, ống đong, que tre có đường kính 1mm và dài khoảng 15cm.
- Cồn êtanol 70 - 90°, nước lọc lạnh hoặc nước cất lạnh, chất tẩy rửa (nước rửa bát chén).

3. Tiến hành thí nghiệm

Để tiến hành thí nghiệm tách chiết ADN từ các tế bào gan ta cần thực hiện các bước sau :

Bước 1 : Nghiền mẫu vật

Trước hết, ta loại bỏ lớp màng bao bọc gan rồi thái nhỏ gan cho vào cối nghiền hoặc máy xay sinh tố để tách rời và phá vỡ các tế bào gan. Nếu nghiền gan trong cối xay sinh tố thì khi nghiền cần cho vào cối một lượng nước lạnh gấp đôi lượng gan. Nếu nghiền bằng chày cối thì sau khi nghiền xong đổ thêm một lượng nước gấp đôi lượng gan rồi khuấy đều.

Sau đó, lọc dịch nghiền qua giấy lọc hoặc vải màn hay lưới lọc để loại bỏ các phần xơ lấy dịch lỏng.

Bước 2 : Tách ADN ra khỏi tế bào và nhân tế bào.

Lấy một lượng dịch lọc cho vào ống nghiệm chiếm khoảng 1/2 thể tích ống nghiệm, rồi cho thêm vào dịch nghiền tế bào một lượng nước rửa chén bát với khối lượng bằng 1/6 khối lượng dịch nghiền tế bào. Sau đó, khuấy nhẹ rồi để yên trong vòng 15 phút trên giá ống nghiệm. Chú ý tránh khuấy mạnh làm xuất hiện bọt.

Cho tiếp vào ống nghiệm một lượng nước cốt dứa bằng khoảng 1/6 hỗn hợp dịch nghiền tế bào chứa trong ống nghiệm và khuấy thật nhẹ. Chuẩn bị nước cốt dứa như sau : dứa tươi gọt sạch, thái nhỏ và nghiền nát bằng máy xay sinh tố hoặc bằng chày cối sứ, sau đó lọc lấy nước cốt bằng lưới lọc hoặc giấy lọc và cho vào ống nghiệm sạch.

Đề ống nghiệm trên giá trong thời gian từ 5-10 phút.

Bước 3: Kết tủa ADN trong dịch tế bào bằng cồn

Nghiêng ống nghiệm và rót cồn êtanol 70 -90° dọc theo thành ống nghiệm một cách cẩn thận sao cho cồn tạo thành một lớp nổi trên bề mặt hỗn hợp với một lượng bằng lượng dịch nghiền có trong ống nghiệm.

Đề ống nghiệm trên giá trong khoảng 10 phút và quan sát lớp cồn trong ống nghiệm.

Chúng ta có thể thấy các phân tử ADN kết tủa lơ lửng trong lớp cồn dưới dạng các sợi trắng đục.

Bước 4 : Tách ADN ra khỏi lớp cồn

Dùng que tre đưa vào trong lớp cồn, khuấy nhẹ cho các phân tử ADN bám vào que tre rồi vớt ra và quan sát. Do các sợi ADN kết tủa dễ gãy nên khi vớt ADN ra khỏi ống nghiệm cần phải rất nhẹ nhàng.

4. Thu hoạch

Viết tường trình thí nghiệm và trả lời một số câu hỏi sau :

- Cho nước rửa chén bát vào dịch nghiền tế bào nhằm mục đích gì ? Giải thích.
- Dùng enzym trong quả dứa trong thí nghiệm này nhằm mục đích gì ? Giải thích.