

Estrazione di **DNA** dalla **frutta**

Obiettivo Isolare il DNA a partire da campioni vegetali facilmente reperibili come ad esempio banane, fragole o kiwi.

Autore Assunta Croce, PhD



Materiali e reagenti

- Acqua deionizzata
- Frutta (mezza banana, 2 fragole oppure mezzo kiwi)
- 2 becher da 100 ml
- 2 cilindri graduati da 100 ml
- 1 siringa da 10 ml privata dell'ago
- Sacchetto di plastica con chiusura a zip
- Carta da filtro
- Imbuto
- Detersivo per i piatti liquido
- NaCl o sale da cucina (fino)
- 50 ml di Etanolo 90% freddo



Strumenti

- Bilancia
- Freezer



Sicurezza

- Camice
- Guanti
- Occhiali di protezione



Tempo

30 minuti più il tempo di congelamento della frutta



Procedimento

- 1.** Predisporre il materiale vegetale di partenza: è sufficiente partire da mezza banana (privata della buccia) oppure da due fragole (senza picciolo e foglioline) o ancora da metà kiwi dopo aver eliminato la buccia. Tagliare la frutta di partenza grossolanamente e mettere i pezzetti in freezer per una notte su un vassoio.
- 2.** Mettere l'Etanolo 90% in freezer.
- 3.** Predisporre la soluzione di lisi cellulare: in un becher da 100 ml, trasferire 50 ml di acqua deionizzata, 3 gr di NaCl e 10 ml di detersivo per i piatti (utilizzare la siringa senza l'ago per misurare il volume da prelevare). Mescolare delicatamente per evitare la formazione di bolle.
- 4.** Porre i pezzetti di frutta congelata in un sacchetto con chiusura a zip.
- 5.** Trasferire la soluzione di lisi nel sacchetto, chiudere saldamente e schiacciare con le mani il contenuto per ridurre la frutta in poltiglia.
- 6.** Predisporre un becher pulito in cui filtrare la poltiglia, aiutandosi con imbuto e carta da filtro. In questo modo tutto il contenuto del sacchetto passa attraverso il filtro e viene travasato nel becher pulito.
- 7.** Misurare con il cilindro pulito 50 ml di Etanolo 90% freddo.
- 8.** Con il cilindro travasare l'etanolo nel becher contenente il risultato della filtrazione. Procedere molto lentamente per permettere all'etanolo di stratificarsi sulla soluzione acquosa senza far mescolare le due soluzioni.
- 9.** Incubare per qualche minuto a temperatura ambiente: all'interfaccia tra acqua e alcool il DNA della frutta inizierà a precipitare formando filamenti biancastri.

Note

- Questo protocollo consente di ottenere, in modo rapido e senza utilizzare materiali particolarmente costosi, DNA dalla frutta.
- Il congelamento della frutta consente una iniziale rottura della parete delle cellule vegetali. La soluzione di lisi, contenente il detergente per i piatti, permette di rompere la membrana cellulare e di disgregare le strutture interne alla cellula.
- In mancanza di acqua deionizzata, la soluzione di lisi può essere preparata anche con acqua del rubinetto.
- Per prelevare il DNA è possibile usare un puntale pulito (oppure uno stuzzicadenti). In questo modo è possibile trasferire il DNA in una provetta e conservarlo sia a temperatura ambiente che a freddo (4°C o -20°C).