

PROTOKOL č. 1

Téma : NUKLEOVÉ KYSELINY

Úlohy : 1. IZOLÁCIA RNA Z PEKARENSKÉHO DROŽDIA
2. IZOLÁCIA DNA ZO SLEZINY

Princíp : Po rozrušení bunkovej steny sa DNA a RNA extrahujú 0,5% roztokom NaOH a po úprave pH sa zrážajú.

Pomôcky : kadičky, drevená tyčinka, trecia miska, centrifúga, odmerný valec, sada skúmaviek a vodný kúpeľ

Chemikálie : droždie; dietyléter; morský piesok; roztok NaOH; CH₃COOH; CH₃COOH; vychladený etanol, difenylamín a NaCl

Postup práce :

1. Zmes 10 g droždia, 1 ml destilovanej vody a 3 ml dietyléteri sa rozotrie so štipkou piesku v trecej miske. Do homogenátu sa pridá 20 ml 0,5 % roztok NaOH a pokračuje sa v rozotieraní ešte 15 minút. 5% CH₃COOH upravíme pH na 6. Zmes centrifugujeme 15 minút. Supernatant sa zleje, upraví pH na 3,5 s 50% CH₃COOH. Pridáme rovnaký objem vychladeného etanolu. Vypadnutá zrazenina predstavuje ribonukleoproteín.
2. V trecej miske rozotrieme 1g sleziny s pieskom. Pridáme 25 ml NaCl a mieša sa 15 minút. Zmes centrifugujeme 10 minút. Viskózný supernatant sa pomaly vleje do 50 ml chladenej vody. Vytvorí sa sieťka vláknitého vyzrážaného DNA, ktorá sa navinie na drevenú tyčinku. Kúsok zrazeniny sa rozpustí v 1 ml NaOH, pridá sa difenylamín a 10 minút sa varí na vodnom kúpeli.

Nákres aparatúry : (podľa potreby)

Pozorovanie :

1. vznikla zrazenina
2. nevzniklo charakteristické modré zafarbenie

Záver : Na tomto laboratórnom cvičení som sa oboznámil s izoláciou DNA a RNA. Pri izolácii RNA z droždia vznikla zrazenina t.j. ribonukleoproteín. Pri izolácii DNA zo sleziny nevzniklo modré zafarbenie. Chyba pri tejto úlohe mohla byť v tom, že bola nedostatočne rozotrená slezina s pieskom a preto nedošlo k rozrušeniu bunkovej steny.