

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tematický celek III. Základní struktury života

Konkrétní úkoly

1. Pomocí uvedeného postupu získáte DNA z rostlinného materiálu např. banánu (červené papriky, kiwi)
2. Vyplňte pracovní list

Cíl laboratorní práce

Cílem pokusu je demonstrovat možnost izolace DNA. DNA není v čisté formě, jde o pokus motivační, bez nutné znalosti biochemie. U žáka pomocí pracovního listu prověříme již probrané znalosti z cytologie. Plníme očekávané výstupy ŠVP oblasti Člověk a příroda: žák objasní funkci organel, dodržuje pravidla bezpečnosti práce a ochrany životního prostředí při experimentální práci, vybere a prakticky využívá vhodné pracovní postupy, přístroje a pomůcky.

Časová náročnost:

45 minut, je nutno žákům připravit uvedená množství, s vážením nelze stihnout za 1 vyučovací hodinu, během čekání žáci pracují s pracovním listem

Potřebné pomůcky:

- šampon obsahující EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid), kuchyňská sůl
- destilovaná voda (možno i z kohoutku, pokud není příliš tvrdá)
- banán (lze i jiné rostliny – vyzkoušeno s červenou paprikou a s kiwi)
- papírový kapesník nebo filtrační papír
- podchlazený lih (denaturovaný) není třeba přesně měřit teplotu, stačí na několik hodin uložit do mrazáku
- odměrný válec a váhy (není třeba přesně odměřovat uvedená složek množství, ale je možné, že se tím výrazně sníží viditelnost výsledku)
- kádinky, zkumavky a libovolné nástroje na rozmělnění banánu a manipulaci s roztoky

Příprava a postup

Připravte rozdělený banán, 1g navažte, další kousky pak můžete odhadnout. Připravte dostatek nádobí podle počtu skupin, na skupinu alespoň dvě kádinky a jednu zkumavku. Připravte roztok soli nebo navažte pro jednotlivé skupiny sůl. Je dobré mít alespoň dvě balení šamponu nebo jej rozlít, aby nekoloval jen jeden. Při koupi si ohlídejte složení, ne všechny značky obsahují EDTA. Dbejte na důkladné rozmačkání banánu a promíchání směsi, nejlepší je použití lžičky. Po odstátí a oddělení části do zkumavky, je potřeba dolít, co nejvíce podchlazeným lihem. Pozor nenechte jej zteplat. Bílá vláknitá sraženina stoupající z dolní „zamlžené“ fáze (filtrát) do horní průhledné fáze (lih) je DNA (obsahující některé jaderné proteiny, případně jiné molekuly s podobnými chemickými vlastnostmi jako DNA).

Po chemické stránce je DNA lineární makromolekula, jejíž dva komplementární řetězce jsou k sobě připoutané vodíkovými můstky. Molekula DNA nese náboj (resp. je to kyselina), takže je rozpustná ve vodě, nicméně může být z vodného roztoku vysrážena (precipitována) ethanolem. Vlastností DNA by bylo možno samozřejmě vyjmenovat mnohem víc, nicméně právě výše uvedené využijeme k izolaci.

Když do rozmačkaného banánu nalijeme roztok šamponu s EDTA, s vodou a solí, sledujeme tím vlastně několik kroků. Detergenty obsažené v šamponu proděraví a vysráží buněčnou membránu banánu a také některé proteiny. EDTA inhibuje proteiny obsahující kovy, z nichž jsou některé schopné poškodit DNA. Sůl se přidává kvůli zachování osmotického tlaku roztoku. Voda je reakčním prostředím a mimo jiné látkou, ve které je DNA rozpustná. Není rozpustná jako třeba sůl, ale ve vodném roztoku je schopná projít filtrem.

Následnou filtrací se tedy odstraní všechny látky, které jsou nerozpustné ve vodě. Do filtrátu projde kromě DNA i řada dalších látek z původní buňky, ale i sůl a některé složky šamponu. Podchlazený lih se přilévá, protože se za nižší teploty příliš nemísí s vodou. DNA se vysráží (precipituje) a vyplave do horní, lihové fáze. V lihu je nerozpustná. Kdybychom ji převedli z lihu



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



Gymnázium Kladno

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Metodický list

Biologie – DNA v rostlinných buňkách

Pokyny pro učitele 2

opět do vody, znovu se rozpustí (i když její chemická struktura nebude úplně stejná, jako předtím). Nutno dodat, že kromě DNA se mohou podobně chovat i některé jiné složky buňky, a že se tímto způsobem nezbavíme většiny proteinů vázaných na DNA (např. histonů).

Námi získaná hmota tedy obsahuje především DNA, nicméně ta by byla pro další použití v biochemii příliš znečištěná a pravděpodobně i poškozená. V laboratorních podmínkách by bylo možno ji dokázat např. pomocí barvení ethydiem bromidem nebo DAPI.

Použité zdroje

[1] BROŽKOVÁ, A. a J. SMYČKA. *Kuchařka biologických pokusů*. SOČ., 2010