

PRACOVNÍ POSTUP IZOLACE DNA

zábavný „molekulární“ pokus

1. pomůcky:

- kivi (či jiné ovoce)
- líh (ethanol)
- kuchyňská sůl
- bezbarvý šampon obsahující EDTA
- destilovaná voda
- 2x PET kelímek 0,2 l
- lžička,
- filtrační papír
- nůž, nůžky
- průhledná lahvička s víčkem



2. postup:

1. Do průhledné lahvičky s víčkem nalijte líh několik milimetrů pod okraj a lahvičku vložte do mrazáku (či lednice).
2. V kelímku smíchejte 1 lžičku bezbarvého šamponu s EDTA a 2 špetky kuchyňské soli.
3. Přidejte přibližně 30 ml destilované vody, opatrně a důkladně promíchejte, **nesmí** vzniknout pěna.
4. Kiwi oloupejte a čtvrtinu nakrájejte na malé kousky do kelímku s šamponovým roztokem.
5. Kiwi důkladně rozdrťte třením lžičky o stěny kelímku (cca 10 minut).

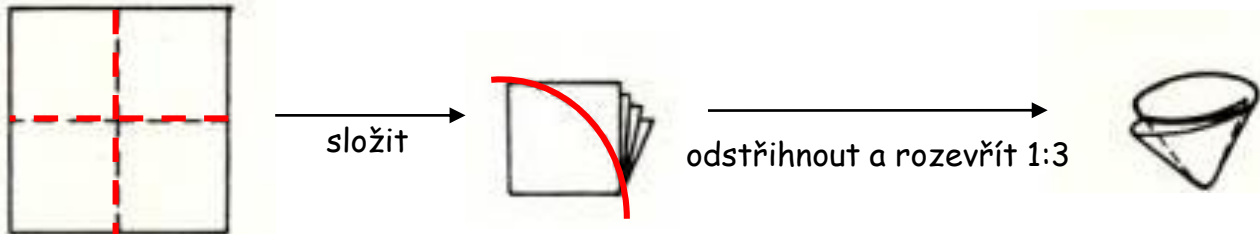
Pozor na bezpečnost při práci s nožem!



PRACOVNÍ POSTUP IZOLACE DNA

zábavný „molekulární“ pokus

6. Připravte si filtrační papír dle obrázku:



7. Směs opatrně vylijte na složený filtrační papír v druhém kelímku, **filtrační papír se nesmí dotýkat dna.**

8. Přefiltrovaný roztok nalijte do chladného etanolu a nechejte 2-3 minuty v klidu.

9. V lihu byste měli vidět vysráženou bílou DNA



3. vysvětlení:

DNA se nachází v jádře buňky. V rostlinné buňce je chráněna dvěma typy bariér - pevnou buněčnou stěnou a lipidickými membránami.

Důkladným mačkáním dužniny ovoce narušíme vnější buněčnou stěnu. Vnitřní lipidické membrány následně rozruší šampon. Spolu s DNA se do roztoku uvolní i ostatní látky přítomné v buňce, jako jsou enzymy štěpící DNA (DNázy). Činnosti DNáz musíme však zabránit - tyto enzymy by rozkládaly „naši“ DNA. DNázy potřebují ke správné funkci hořčnatý ion. Pokud při izolaci použijeme šampon s přídavkem EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová), hořčnaté ionty se na ni navážou a my tak vyřadíme nechtěné DNázy z provozu, čímž ochráníme „naši“ DNA. Následnou filtrací odstraníme z roztoku všechny nerozpustné části buňky. Nalítím získaného roztoku do studeného ethanolu DNA vysrážíme.

