

T É M A : NUKLEOVÉ KYSELINY

Vypracoval/a:

Třída:

Spolupracoval/a:

Datum:

NÁPLŇ PRÁCE:

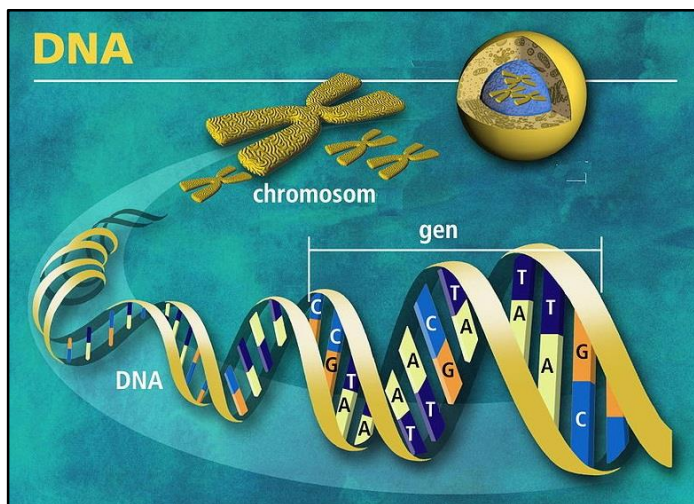
Izolace molekuly DNA z rostlinných materiálů

ANOTACE:

Pomocí jednoduchých separačních metod izolují žáci z vhodných rostlinných materiálů molekulu DNA, která patří mezi biologické makromolekuly a je nositelkou genetické informace. K izolaci žáci použijí chlorid sodný, dodecylsírán sodný, kyselinu ethylendiamintetraoctovou (EDTA), enzymy ze skupiny proteáz a propan-2-ol.

TEORIE:

Nukleové kyseliny jsou makromolekulární látky přítomné v každé buňce. Známe dva druhy nukleových kyselin, které se od sebe liší chemickým složením, strukturou, funkcí a místem výskytu v buňce. Jedna se nazývá **deoxyribonukleová kyselina (DNA)**, druhá se označuje jako **ribonukleová kyselina (RNA)**. V molekulách nukleových kyselin se uchovává genetická (dědičná) informace. Nukleové kyseliny zajišťují přenos genetické informace z generace na generaci a řídí její přepis do specifické struktury molekul bílkovin.



Název nukleových kyselin je odvozen z latinského názvu buněčného jádra (lat. nucleus – jádro). **Roku 1869 byla molekula DNA poprvé izolována právě z jader bílých krvinek.** Roku 1943 byla objasněna funkce molekuly DNA a roku 1963 byla popsána její trojrozměrná struktura.

Molekula DNA se nachází převážně v jádru buněk, v malých množstvích byla zjištěna i v mitochondriích, v plastidech u rostlin a v plasmidech u bakterií. **Je stavebním materiálem chromosomů.**

Molekula DNA se skládá ze **dvou polynukleotidových řetězců pravotočivě stočených kolem společné osy** (tj. ve směru pohybu hodinových ručiček). Průměr šroubovice je cca. 2 nm. Řetězce mají navzájem opačný směr.

Obrázek 1: Molekula DNA

Předpokládá se, že každý chromozom eukaryotní buňky obsahuje jednu molekulu DNA. Délka molekuly a informační obsah je obrovský. Celková délka DNA ve 23 haploidních chromozomech člověka je 0,99m.

Úsek DNA, v němž je uložena informace o složení jedné bílkoviny se označuje jako **gen**. Tento úsek se během procesu zvaného **transkripce** přepisuje do struktury mRNA.

Molekula mRNA putuje s přepsanou informací k buněčným organelám ribozomům, na nichž dochází k překladu této informace. Na ribozomech probíhá tzv. **translace**, při níž jsou podle pořadí nukleotidů v mRNA syntetizovány proteiny z aminokyselin, které na místo syntézy přinášejí tRNA.

PŘÍPRAVA:

1. Přineste si s sebou následující: cibuli, rajče, kiwi, banán
2. Zopakujte si kapitulu makromolekulární látky – nukleové kyseliny

ÚKOL Č. 1:

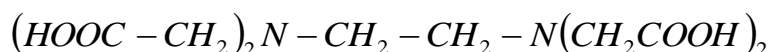
1. Z cibule či rajčete izolujte podle pracovního postupu molekuly DNA
2. Pokuste se jedno z izolovaných vláken namotat na tyčinku a pozorujte ho pod mikroskopem

PRINCIP IZOLACE:

Abychom uvolnili molekuly DNA z jader rostlinných buněk, musíme nejdříve rozrušit buněčné stěny a jaderné membrány. Použijeme mechanické prostředky (struhadlo a mixer) společně s **chloridem sodným a dodecylsíránem sodným** (viz vzorec).



Vhodné je přidání kyseliny **ethylendiamintetraoctové** (EDTA nebo také chelaton II), která napomáhá rozrušovat buněčné stěny a sráží proteiny, které by mohly DNA porušit.



Uvolnění molekuly DNA jsou ještě vázány na proteiny zvané histony. Histony rozložíme přidavkem pracího prášku, který obsahuje **enzymy ze skupiny proteáz**.

Volné molekuly DNA jsou rozpustné ve vodě, v níž jsou v dalším kroku odfiltrovány od zbylého buněčného materiálu. Přidavkem ledového **propan-2-olu** k vodnému roztoku DNA dojde k vysrážení a zviditelnění izolovaných molekul DNA.

POMŮCKY:

2 kádinky 150 ml, trojnožka, hrnec s vodní lázní, teploměr, sítko, třecí miska, ruční mixer, nož, stojan, kruhový držák, filtrační nálevka, skleněná tyčinka, filtrační papír nebo vata či gáza (nejlépe vícevrstvá obvazová gáza), odměrný válec 20 ml

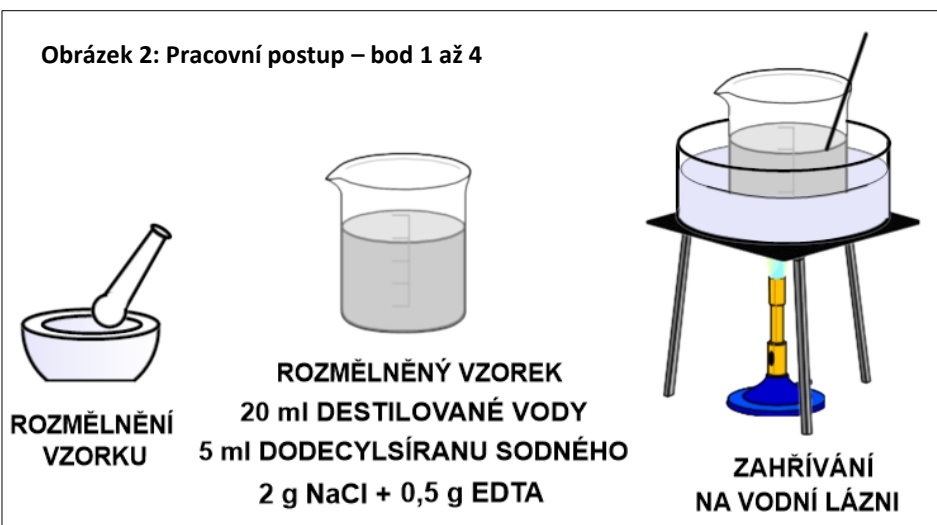
MATERIÁL A CHEMIKÁLIE:

Cibule, rajče, banán, kiwi, chlorid sodný, kyselina ethylendiamintetraoctová, 10% roztok dodecylsíranu sodného, 70% propan-2-ol, prací prášek s enzymy (Palmex, Persil), destilovaná voda

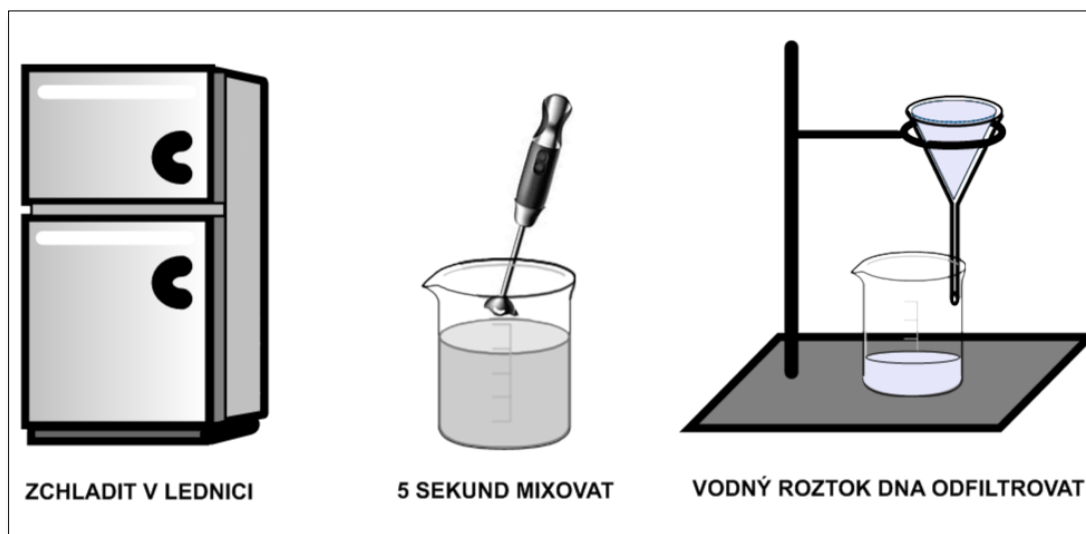
POSTUP:

1. Jedno malé rajče nebo půlku menší cibule rozkrájejte nožem na malé kousky.
2. Rozkrájené kousky vzorku převedte do třecí misky a rozmělněte je tloučkem.
3. Rozmělněný vzorek převedte do kádinky na 150 ml, přidejte 20 ml destilované vody, 2 gramy chloridu sodného, 0,5 gramu kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA) a 5 ml 10% roztoku dodecylsíranu sodného.
4. Obsah kádinky za pozvolného míchání zahřívejte 15 minut na vodní lázni při teplotě 60 °C.

Obrázek 2: Pracovní postup – bod 1 až 4

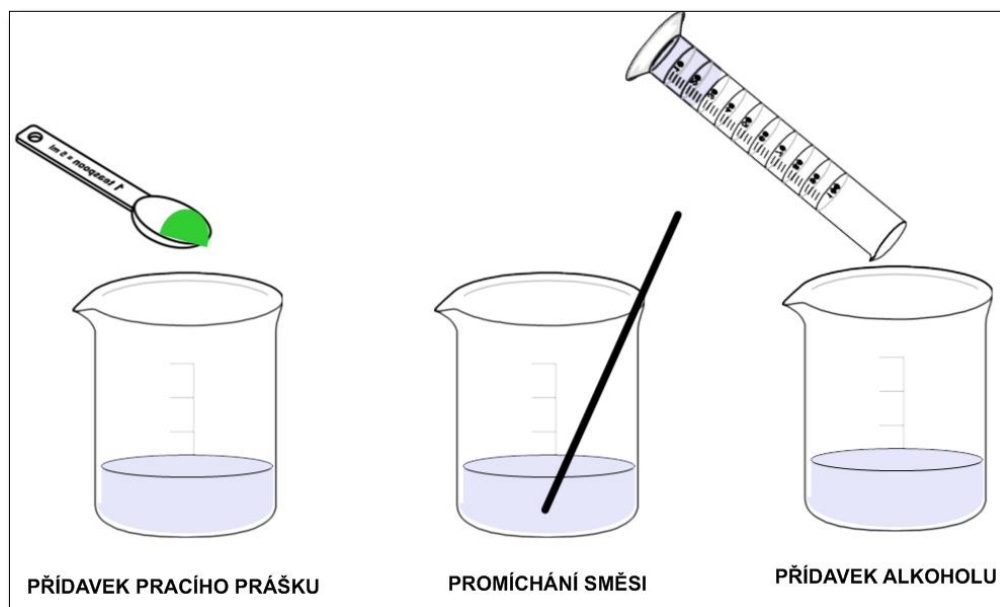


5. Obsah kádinky ochladte v lednici popřípadě v kádince s ledovou tříští.
6. Ručním mixerem směs rozmixujte na kaši (mixujte po dobu maximálně 5 vteřin).
7. Sestavte filtrační aparaturu a uvolněnou DNA, která je rozpuštěná ve vodě odfiltrujte od zbylého organického materiálu přes obvazovou gázu



Obrázek 3: Pracovní postup – bod 5 až 7

8. K filtrátu, kterým je vodný roztoku DNA přidejte na špičku lžičky detergent, který obsahuje enzymy ze skupiny proteáz (Persil, Palmex).
9. Obsah kádinky promíchejte a nechejte detergent 5 až 10 minut působit.
10. Na závěr k obsahu kádinky opatrně po stěně nalejte 20 ml ledového 70% propan-2-olu.

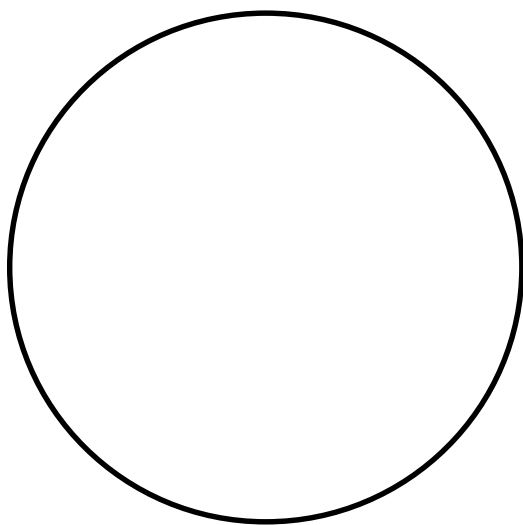


Obrázek 4: Pracovní postup – bod 8 až 10

11. Molekuly DNA nejsou v alkoholu rozpustné, a proto se jejich bílá vlákna ve formě chuchvalců vysrážejí v alkoholové fázi směsi.
12. Pokud budete propan-2-ol nalévat do kádinky po stěně pomalu a opatrně (bod 10. v pracovním postupu), bude alkoholová vrstva s vysráženou DNA v horní části kádinky.
13. Pokuste se na skleněnou tyčinku některé z vláken namotat a přenést na podložní sklíčko mikroskopu.
14. Izolované vlákno pozorujte pod mikroskopem

VYPRACOVÁNÍ:

ZAKRESLETE VZHLED MOLEKUL DNA POZOROVANÝCH V ZORNÉM POLI MIKROSKOPU:



SLOVNÍ POPIS VZHLEDU VLÁKEN DNA:

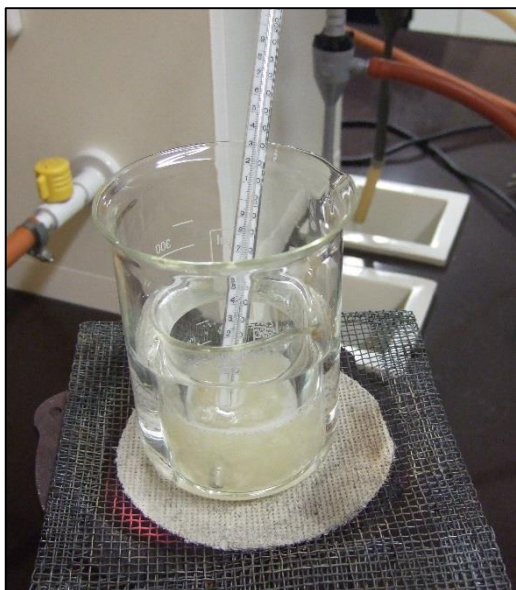
Nákres 1: Vzhled vláken DNA pod mikroskopem

TABULKA:

Tabulka 1: Přidávaná činidla

PŘIDÁVANÁ CHEMIKÁLIE	DOPLŇTE, JAKÝ VÝZNAM (ÚČINEK) MÁ PŘÍDAVEK JEDNOTLIVÝCH ČINIDEL PŘI IZOLACI DNA
1. CHLORID SODNÝ, DODECYLSÍRAN SODNÝ	
2. KYSELINA ETHYLENDIAMINTETRAOCTOVÁ	
3. PRACÍ PRÁŠEK S ENZYMEM PROTEÁZOU	
4. ALKOHOL PROPAN-2-OL	

FOTODOKUMENTACE:



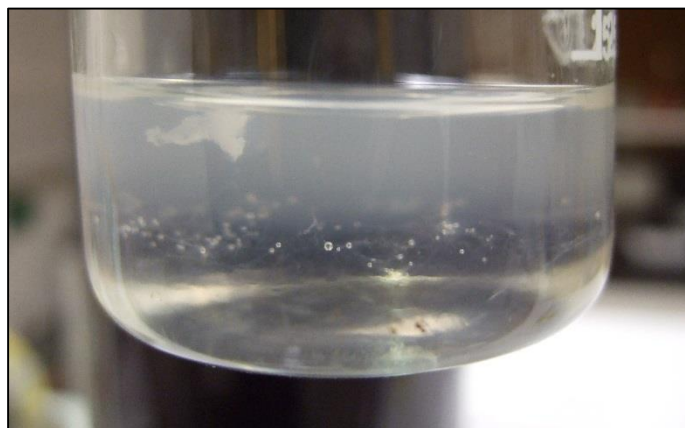
Obrázek 5: Uvolňování vláken DNA do roztoku



Obrázek 6: Filtrace roztoku DNA



Obrázek 7: Vlákna DNA



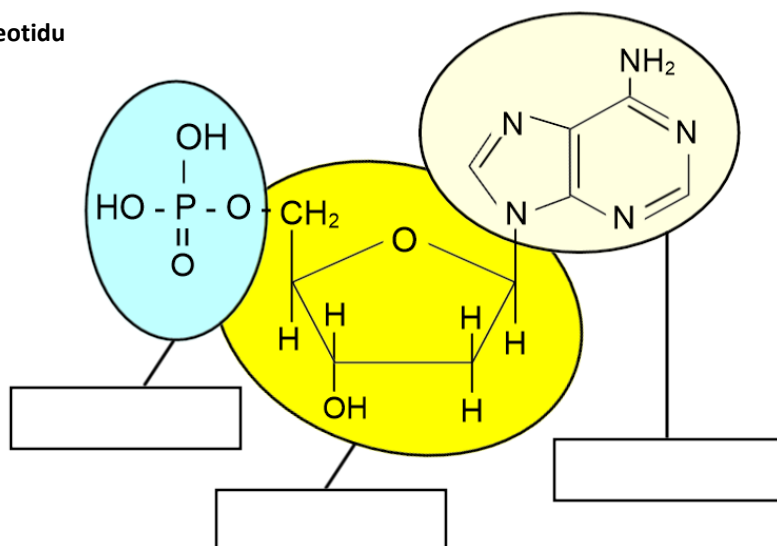
Obrázek 8: Vlákna DNA

ZÁVĚR:

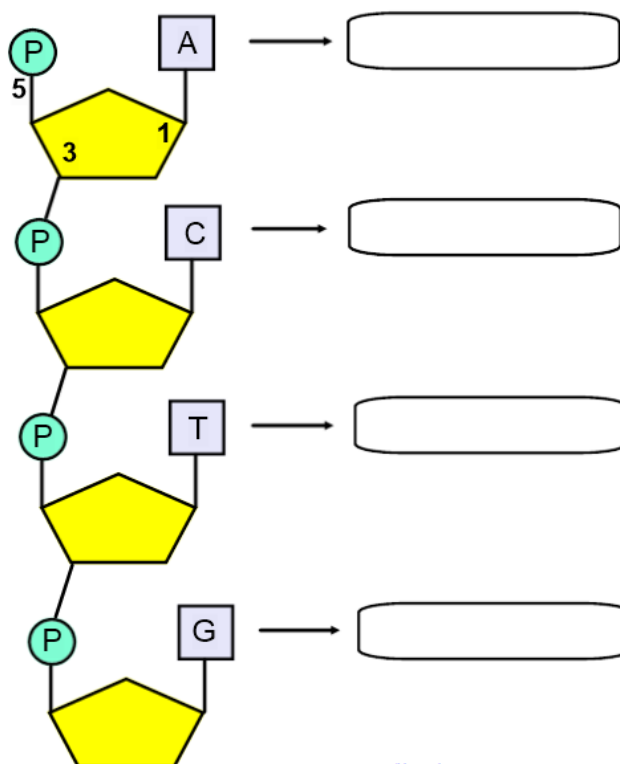
SHRNUTÍ:

1. Jedna molekula kyseliny deoxyribonukleové je stavebním materiálem jednoho chromozomu. Kolik chromozomů obsahuje jedna lidská buňka?
2. Molekula kyseliny deoxyribonukleové je tvořena dvěma **polynukleotidovými řetězci**. Základem těchto dlouhých řetězců jsou tzv. **nukleotidy**. Každý nukleotid je tvořen třemi chemickými sloučeninami. Pojmenujte na obrázku č. 9 jednotlivé složky ve vzorci nukleotidu.

Obrázek 9: Vzorec nukleotidu



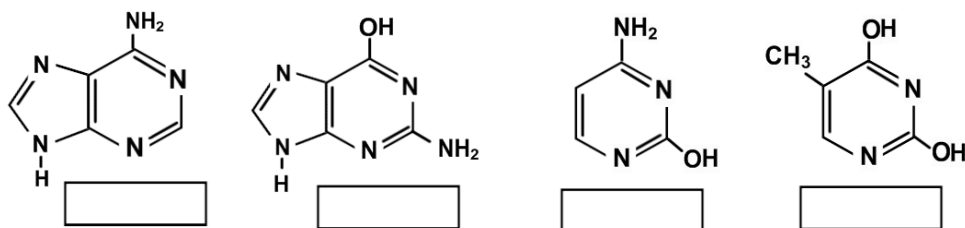
3. Na obrázku č. 10 vidíte, jakým způsobem jsou jednotlivé **nukleotidy v polynukleotidovém řetězci** k sobě vázány (vzorce nukleotidů jsou zapsány pro zjednodušení pouze schematicky). Do prázdných kolonek doplňte názvy jednotlivých nukleových bází, které jsou ve schématu vyjádřeny pouze písmeny.



[Rozšířit stránku](#)

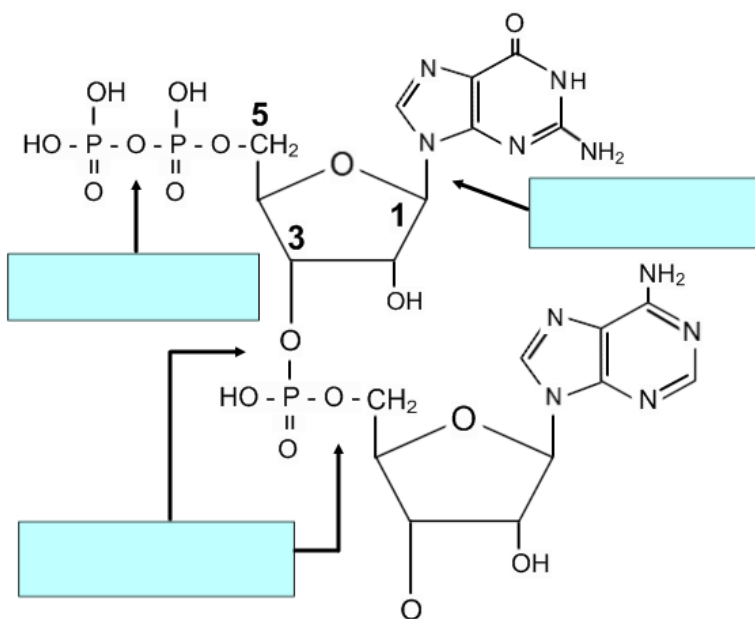
Obrázek 10: Zjednodušené schéma části polynukleotidového řetězce

4. Na obrázku č. 11 jsou chemické vzorce nukleových bází, které se vyskytují v DNA. Doplňte do prázdných rámečků názvy jednotlivých bází.



Obrázek 11: Vzorce nukleových bází

5. Na obrázku č. 12 jsou znázorněny dva vzájemně spojené nukleotidy. Do prázdných kolonek doplňte názvy chemických vazeb, které jednotlivé části nukleotidů poutají k sobě.



Obrázek 12: Vzorce dvou spojených nukleotidů

SEZNAM ZDROJŮ:

- [01] Wikimedia Commons: Úložiště volně využitelných souborů: DNA molekula života - česky.jpg c2010 [citováno 10.07. 2013] Obr. 01 dostupný z <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA_molekula_%C5%BEivota_-_%C4%8Desky.jpg>
- [02] Obrázek 2. Z archivu autora
- [03] Obrázek 3. Z archivu autora
- [04] Obrázek 4. Z archivu autora
- [05] Obrázek 5. Z archivu autora
- [06] Obrázek 6. Z archivu autora
- [07] Obrázek 7. Z archivu autora
- [08] Obrázek 8. Z archivu autora
- [09] Obrázek 9. Z archivu autora
- [10] Obrázek 10. Z archivu autora
- [11] Obrázek 11. Z archivu autora
- [12] Obrázek 12. Z archivu autora

METODICKÝ LIST:

Název školy	Gymnázium a Jazyková škola Zlín s právem státní jazykové zkoušky Zlín
Autor	Ing. Pavel Horčic
Vzdělávací oblast	Člověk a příroda
Vzdělávací obor	Chemie
Tematický okruh	Nukleové kyseliny – izolace molekul DNA
Druh učebního materiálu	Laboratorní cvičení – žák
Cílová skupina	Žák, 16 – 17 let
Anotace	Pracovní list je určen do výuky laboratorních cvičení z chemie náplň: deoxyribonukleová kyselina, její chemické složení, nukleotidy