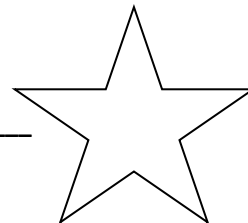


PROTOKOL Z PRAKTICKÉHO CVIČENIA



Meno a priezvisko: _____

Trieda: _____

Dátum: _____

Názov: **Izolácia DNA z buniek**

Princíp: DNA je deoxyribonukleová kyselina, ktorá je nositeľkou genetickej informácie vo všetkých organizmoch (výnimkou sú RNA-vírusy). V prokaryotických bunkách sa nachádza v cytoplazme ako voľne uložený _____ = nukleoid a je súčasťou malých kruhových DNA = _____.

V eukaryotických bunkách sa nachádza hlavne v _____ buniek a semiautonómnych organelách, t.j. v _____ a _____.

Výskumná otázka:

Opište, aká je Vaša predstava o tom ako bude izolovaná DNA vyzerat? (farba, konzistencia....)

Úloha: Svoju predstavu formulujte do hypotézy.

1. Hypotéza pred realizáciou experimentu:

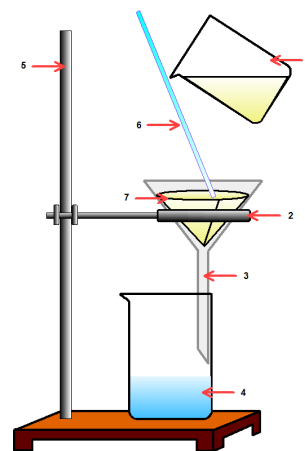
Materiál a pomôcky (pre jednu skupinu žiakov): plod zrelej kivi, jahody, prípadne cibuľa kuchynská (*Allium cepa*), zrelý banán, tretia miska s roztieradlom, 4 kadičky, odmerný valec, filtračný lievik, filtračný kruh, filtračný papier, sklenená vanička na kúpeľ a chladenie, nožnice, laboratórny stojan, sklenená tyčinka, teplomer, digitálne váhy, stopky alebo hodinky

Chemikálie: kuchynská soľ (3 g), destilovaná voda (100 ml), etanol, ľad na chladenie, voda na vodný kúpeľ (60°C), tekutý prostriedok na umývanie riadu (10 ml)

Postup:

1. Do kadičky nalejte etanol (cca 100 ml) a vložte ju do vaničky s ľadom.
2. Do 2.kadičky pripravte roztok, ktorý pripravte zo 100 ml destilovanej vody, 10 ml saponátu a 3 g kuchynskej soli, tak aby sa soľ rozpustila, ale aby sa nevytvorila pena.
3. Očistite kivi (jahodu, cibuľu, banán...), nakrájajte na malé kúsky a v tretej miske dôkladne rozotrite.
4. Rozotretý plod kivi (jahody, cibule, banánu...) vložte do čistej kadičky a pridajte 100 ml roztoku pripraveného v kroku 2.
5. Kadičku so zmesou umiestnite do vodného kúpeľa, ktorého teplota nesmie presiahnuť 60 °C po dobu 15 minút.
6. Pripravte si podľa obrázka filtračnú aparatúru a filtračný papier podľa mier filtračného kruhu.
7. Po uplynutí doby 15 minút zmes prefiltrujte a filtrát zachyťte do skúmavky (stačí do 1/3 skúmavky).

8. **Po stene skúmavky opatrne** prilejte ľadový roztok etanolu (približne 1:1 v pomere s množstvom filtrátu v skúmavke).
9. Pozorované zmeny fotograficky zdokumentujte, výslednú DNA izolovanú z kivi, jahody, cibule a banánu vzájomne porovnajte a výsledky sformulujte do záveru.



Obr. 1 Filtračná aparátúra

DNA izolovaná z plodu kivi

Fotografia:

DNA izolovaná z jahôd

Fotografia:

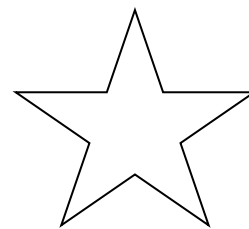
DNA izolovaná z banánu príp. (cibule)

Fotografia:

Záver:

Link na video o priebehu experimentu:

PROTOKOL Z PRAKTICKÉHO CVIČENIA



Meno a priezvisko: _____ T:rieda: _____

Dátum: _____

Názov: Izolácia DNA z buniek

DNA je deoxyribonukleová kyselina, ktorá je nositeľkou genetickej informácie vo všetkých organizmoch (výnimkou sú RNA-vírusy). V prokaryotických bunkách sa nachádza v cytoplazme ako voľne uložený _____ = nukleoid a je súčasťou malých kruhových DNA = _____.

V eukaryotických bunkách sa nachádza hlavne v _____ buniek a semiautonómnych organelách, v _____ a _____.

Výskumná otázka:

Opíšte, aká je Vaša predstava o tom ako bude izolovaná DNA vyzerat? (farba, konzistencia....)

Úloha: Svoju predstavu formulujte do hypotézy.

1. Hypotéza pred realizáciou experimentu:

Materiál a pomôcky (pre jednu skupinu žiakov): plod zrelej kivi, jahody (čerstvé alebo mrazené), prípadne cibuľa kuchynská (*Allium cepa*), zrelý banán, šťava zo zrelého ananásu (100 ml), tretia miska s roztieradlom, 4 kadičky, odmerný valec, filtračný lievik, filtračný kruh, filtračný papier prípadne gáza, sklenená vanička na kúpeľ a chladenie, nožnice, laboratórny stojan, sklenená tyčinka, stopky alebo hodinky, špajdla

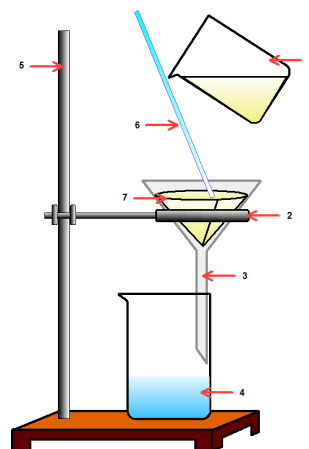
Chemikálie: ľadovo vychladený etanol (40 ml)

Princíp: Bunky mrazeného ovocia majú v dôsledku tvorby kryštálikov ľadu rozrušený bunkový povrch. Ako zdroj enzýmov na uvoľnenie DNA z proteínov viažúcich DNA do podoby chromozómov môže slúžiť čerstvá ananášová šťava, ktorá obsahuje veľké množstvo proteázy **bromeláin**. Filtráciou sa oddelia zvyšky buniek od DNA a proteáza ananásu zabezpečí vyzrážanie DNA vo forme okom viditeľnej zrazeniny pripomínajúcej vatú.

Postup:

1. Očistite vybrané ovocie, prípadne rozmrazte zmrazené jahody.
2. Odšťavte ananás a pripravte si do odmerného valca 100 ml.
3. Do nádoby vložte ovocie a pridajte odmeraný objem ananášovej šťavy.
4. Ovocie v ananášovej šťave roztlačte a pri izbovej teplote nechajte stáť približne 30 minút.

5. Zostavte si filtračnú aparatúru a hmotu prefiltrujte cez filtračný papier, prípadne cez gázu.
6. Získaný filtrát prevrstvite ľadovo vychladeným vysokopercenčným etanolom o objeme 40 ml.
7. Po pár minútach namotajte chumáče izolovanej DNA na špajdlu.
8. Odfotografujte a porovnajte s DNA izolovanou z iných druhov ovocia inými skupinami spolužiakov.
9. Výsledky pozorování sformulujte do záveru.



Obr. 1 Filtračná aparatúra
 DNA izolovaná z banánu príp. (cibule)
 Fotografia:

DNA izolovaná z plodu kivi
 Fotografia:

DNA izolovaná z jahôd
 Fotografia:

Záver:

Link na video o priebehu experimentu:

