|  |  |
| --- | --- |
| **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:**   |  | | --- | | *Opíšte, aká je Vaša predstava o tom ako bude izolovaná DNA vyzerať? (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, trecia 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 trecej 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. Výsledok vyh&lcaron;adávania obrázkov pre dopyt filtra&ccaron;ná aparatura**Po stene skúmavky** **opatrne** prilejte ľadový roztok etanolu   (približne 1:1 v pomere s množstvom filtrátu v skúmavke).   1. Pozorované zmeny fotograficky zdokumentujte, výslednú DNA izolovanú z kivi, jahody, cibule a banánu vzájomne porovnajte a výsledky sformulujte do záveru.   **Obr. 1** Filtračná aparatúra  **DNA izolovaná z plodu kivi DNA izolovaná z jahôd DNA izolovaná z banánu príp. (cibule)**  **Fotografia: Fotografia: Fotografia:**    **Záver:**  **Link na video o priebehu experimentu:** |

Alternatíva 2 (Poznámka: Táto alternatíva je rýchlejším spôsobom pre izoláciu DNA

|  |  |
| --- | --- |
| **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 vyzerať? (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), trecia 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 ananásová šťava, ktorá obsahuje veľké množstvo proteázy ***bromelaín***. Filtráciou sa oddelia zvyšky buniek od DNA a proteáza ananásu zabezpečí vyzrážanie DNA vo forme okom viditeľnej zrazeniny pripomínajúcej vatu.  **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 ananásovej šťavy. 4. Ovocie v ananásovej 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. Výsledok vyh&lcaron;adávania obrázkov pre dopyt filtra&ccaron;ná aparaturaZískaný filtrát prevrstvite ľadovo vychladeným vysokopercentným 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 pozorovaní sformulujte do záveru.       **Obr. 1** Filtračná aparatúra  **DNA izolovaná z plodu kivi DNA izolovaná z jahôd DNA izolovaná z banánu príp. (cibule)**  **Fotografia: Fotografia: Fotografia:**  **Záver:**  **Link na video o priebehu experimentu:** |