

# T É M A : NUKLEOVÉ KYSELINY

Vypracoval/a:

Třída:

Spolupracoval/a:

Datum:

## NÁPLŇ PRÁCE:

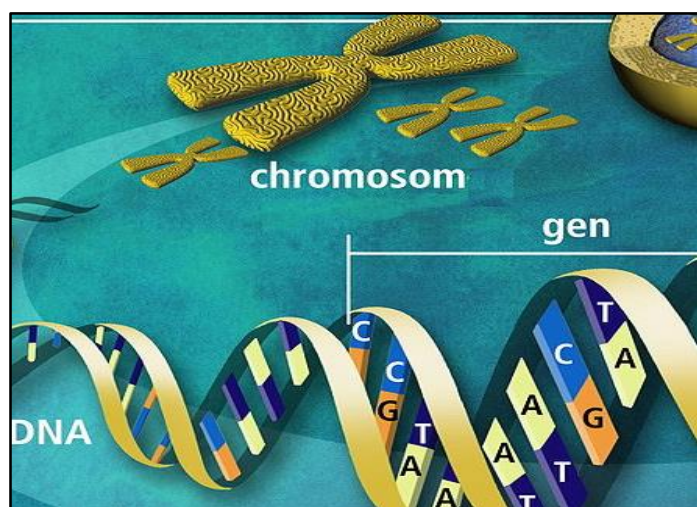
### Izolace molekuly DNA z rostlinných materiálů

## ANOTACE:

Pomocí jednoduchých separačních metod izolujete z vhodných rostlinných materiálů molekulu DNA, která patří mezi biologické makromolekuly a je nositelkou genetické informace. K izolaci využijete v domácnosti běžně dostupné látky a chemikálie jako je například kuchyňská sůl, prací prášek, šampon, tekutý čisticí prostředek na nádobí či ethanol.

## 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.

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**. 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:

- Přineste si s sebou následující: 2 až 5 gramů nesusušených hub (žampiony, hlíva ústříčná, holubinka...)
- Zopakujte si kapitolu makromolekulární látky – nukleové kyseliny

## ÚKOL Č. 1:

1. Ze vzorku hub 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 chemickými činidly (**slaný roztok s NaCl a detergent s dodecylsíránem sodným**).

Detergenty jsou mycí prostředky, obsahující molekuly s polárními i nepolárními konci, které v kombinaci se solí rozrušují buněčné membrány. Vhodné je také přidání **šamponu**, který obsahuje látku označovanou EDTA. Tato látka pomáhá rozrušovat buněčné stěny a sráží proteiny, které by mohly DNA porušit.

Uvolněné 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 **ethanolu** 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, odměrný válec 20 ml

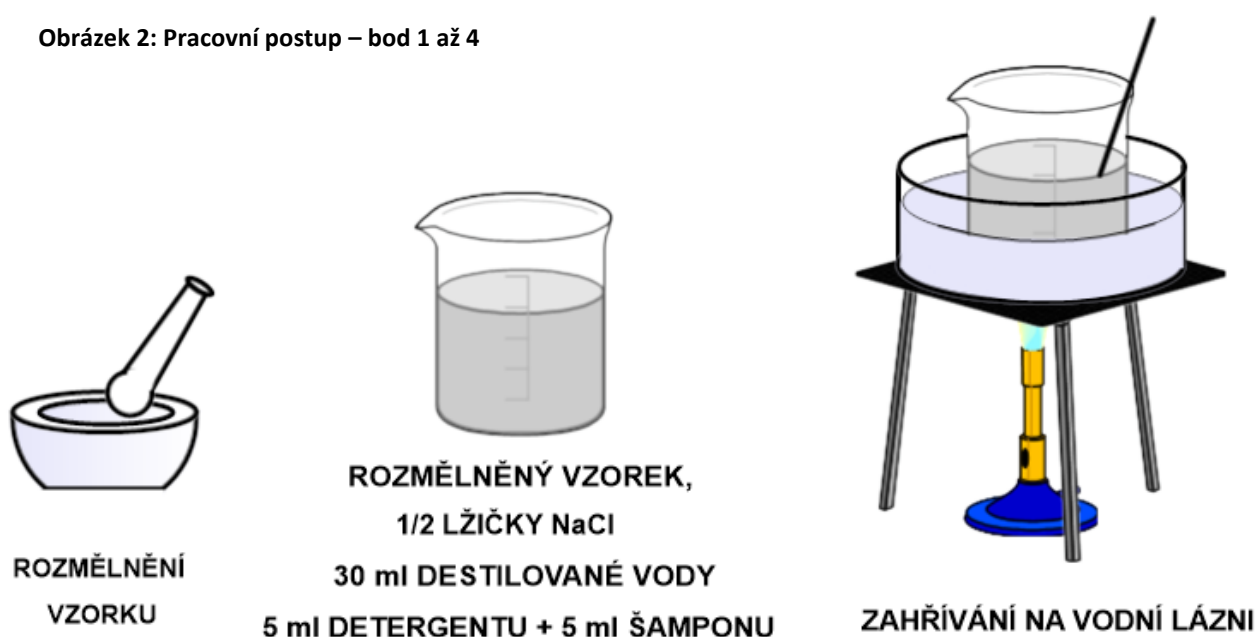
### MATERIÁL A CHEMIKÁLIE:

Houby, chlorid sodný (kuchyňská sůl), šampon s látkou EDTA, prací prášek s enzymy (Persil nebo Palmex), tekutý mycí prostředek s dodecylsíránem sodným (Pur nebo Jar), 70% ethanol nebo propan-2-ol, destilovaná voda

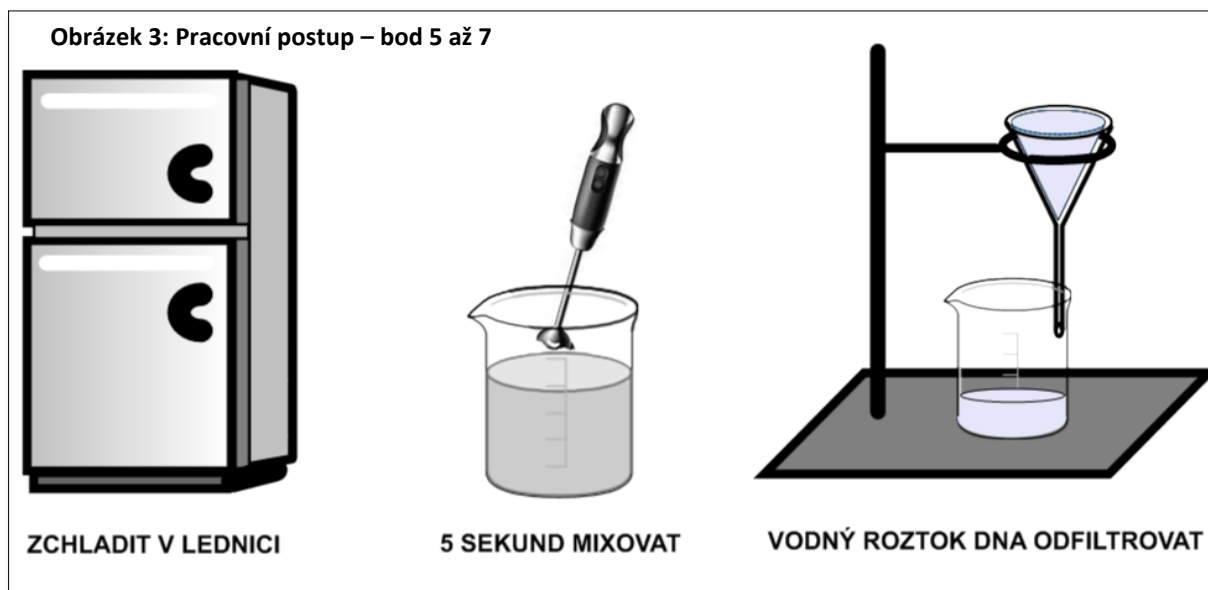
### POSTUP:

1. Půlku malého banánu 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 a přidejte půl malé lžičky chloridu sodného, 30 ml destilované vody, 5 ml tekutého prostředku určeného k umývání nádobí a 5 ml šamponu s látkou EDTA (všechny kapalné složky odměřujte pomocí odměrného válce)
4. Obsah kádinky za pozvolného míchání zahřívejte 15 minut na vodní lázni při teplotě 60 °C.

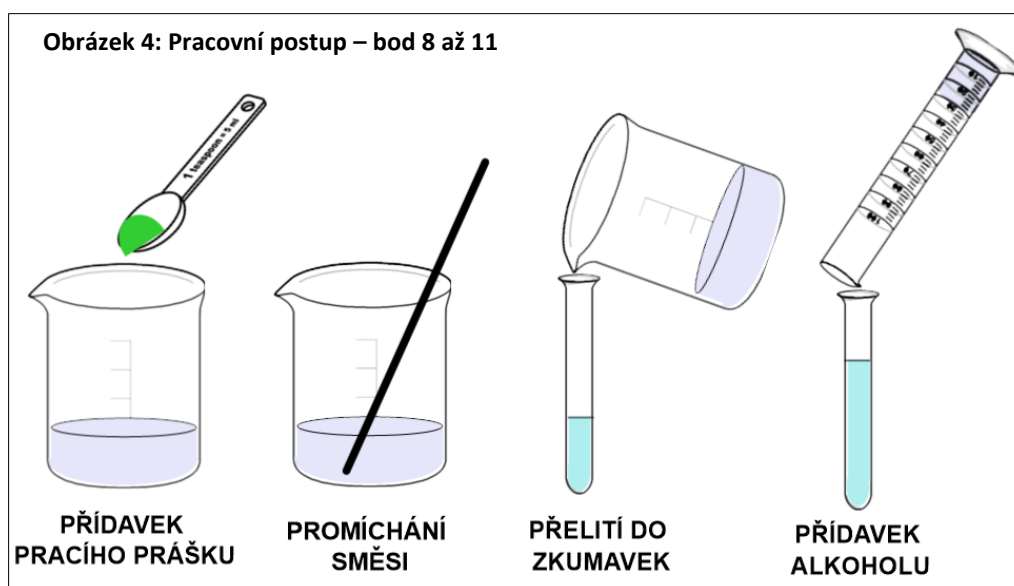
Obrázek 2: Pracovní postup – bod 1 až 4



5. Obsah kádinky ochlaďte 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.



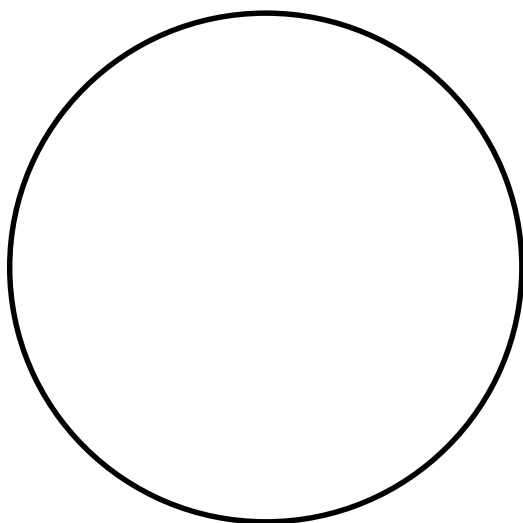
8. K filtrátu, kterým je vodný roztoku DNA přidejte na špičku lžičky detergent, který obsahuje enzymy ze skupiny proteáz
9. Obsah kádinky promíchejte a nechte detergent 5 až 10 minut působit
10. Obsah kádinky rozlejte do 5 zkumavek (zkumavky naplňte do 1/5 celkového objemu)
11. Na závěr k obsahu zkumavek opatrně po stěně nalejte ledový 70% propan-2-ol (nalévejte do 4/5 objemu)



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

## VYPRACOVÁNÍ:

ZAKRESLETE VZHLED MOLEKUL DNA POZOROVANÝCH V ZORNÉM POLI MIKROSKOPU:



SLOVNÍ POPIS VZHLEDU VLÁKEN DNA:

---

---

---

---

---

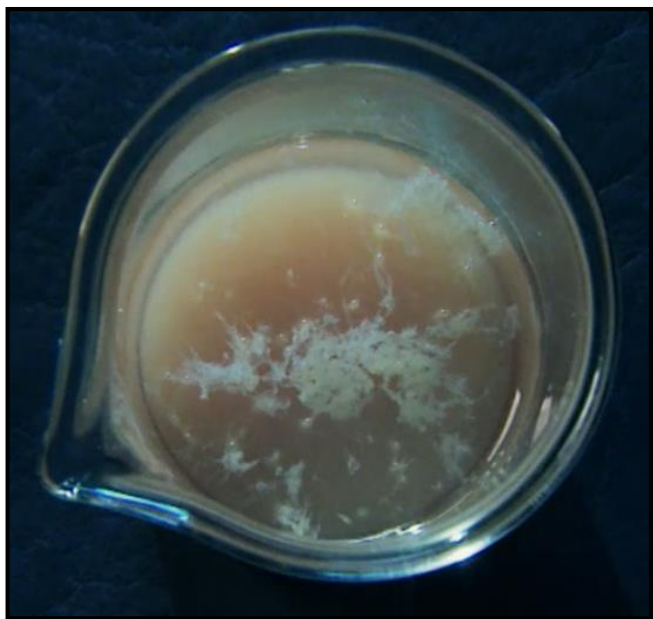
Nákres 1: Vzhled vláken DNA pod mikroskopem

### TABULKA:

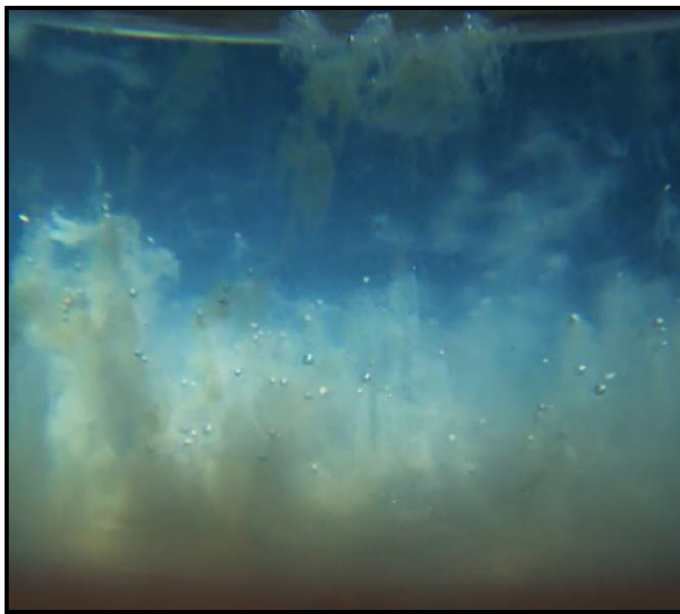
Tabulka 1: Přidávaná činidla

PŘIDÁVANÁ CHEMIKÁLIE	DOPLŇTE, JAKÝ VÝZNAM (ÚČINEK) MÁ PŘÍDAVEK JEDNOTLIVÝCH ČINIDEL PŘI IZOLACI DNA
1. CHLORID SODNÝ	
2. MYCÍ PROSTŘEDEK	
3. ŠAMPON S LÁTKOU EDTA	
4. PRACÍ PRÁŠEK S ENZYMEM PROTEÁZOU	
5. ALKOHOL PROPAN-2-OL	

## FOTODOKUMENTACE:



Fotografie 1: Vlákna DNA na hladině



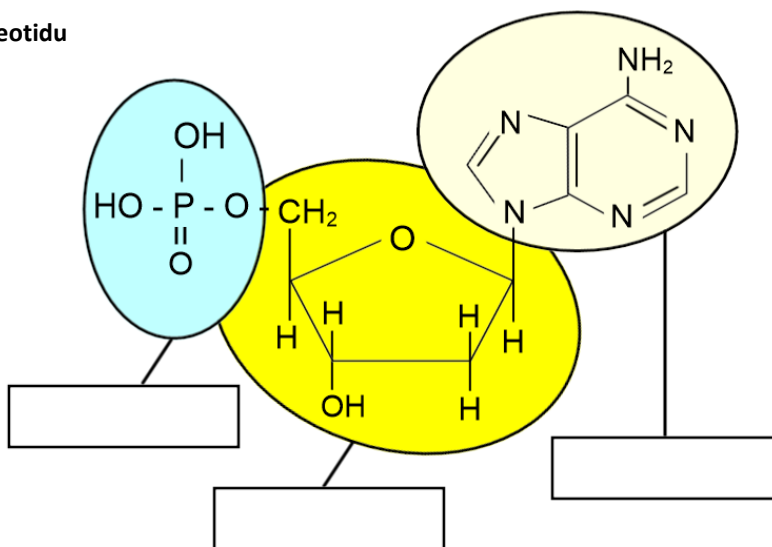
Fotografie 2: Vysrážená vlákna DNA po izolaci

## ZÁVĚR:

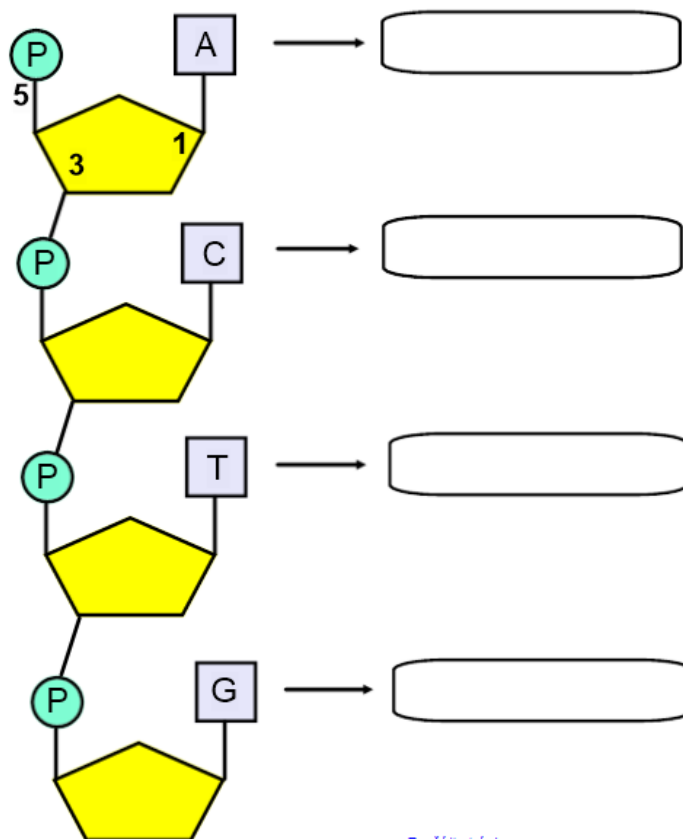
## SHRNUTÍ:

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. 8 jednotlivé složky ve vzorci nukleotidu.

Obrázek 8: Vzorec nukleotidu



3. Na obrázku č. 9 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.

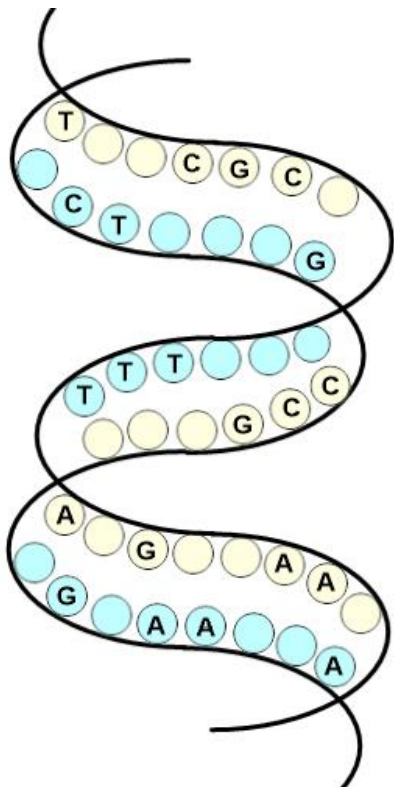


[Rozšířit stránku](#)

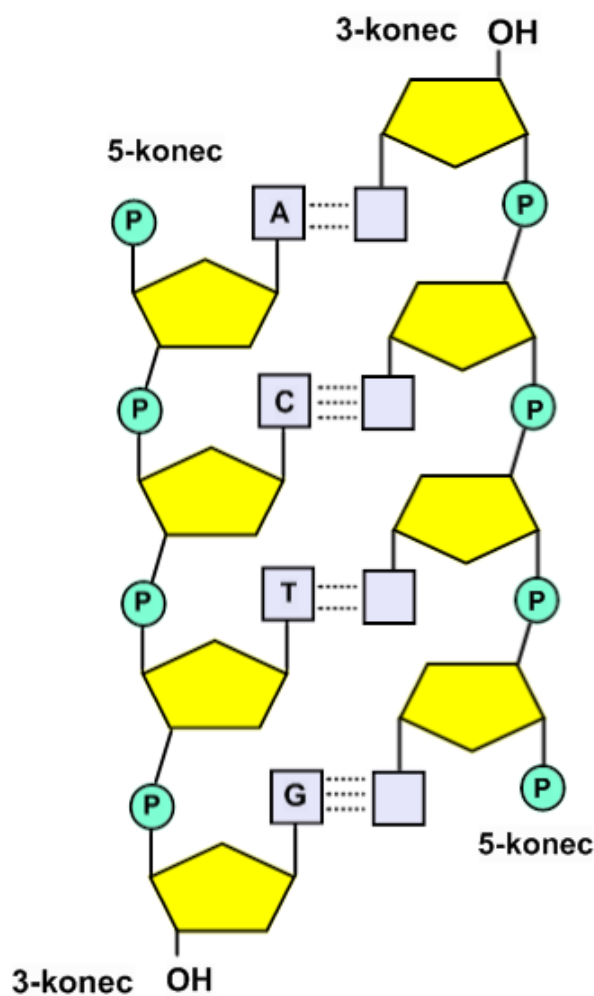
Obrázek 9: Zjednodušené schéma části polynukleotidového řetězce

4. Na obrázku č. 10 jsou znázorněny dvě protichůdná vlákna molekuly DNA. Tato vlákna jsou k sobě poutána vodíkovými můstky, které vznikají mezi doplňkovými, tzv. komplementárními bázemi. Doplňte do volných čtverečků pravého vlákna zkratky příslušných komplementárních bází.

5. Doplňte do prázdných kolonek v obrázku č. 11 správné zkratky jednotlivých nukleových bází.



Obrázek 11: Zjednodušené schéma dvouvláknité molekuly DNA



Obrázek 10: Zjednodušené schéma provázanosti dvou polynukleotidových vláken v molekule DNA

## SEZNAM ZDROJŮ:

- [01] Obrázek 1: Wikimedia Commons: Úložiště volně využitelných souborů: DNA molekula života - česky.jpg c2010 [citováno 10.07.2013] dostupný z [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA\\_molekula\\_%C5%BEivota\\_-\\_%C4%8Desky.jpgp](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA_molekula_%C5%BEivota_-_%C4%8Desky.jpgp)>
- [02] Fotografie 1: Z vlastních zdrojů
- [03] Fotografie 2: Z vlastních zdrojů
- [04] Obrázek 2: Z vlastních zdrojů
- [05] Obrázek 3: Z vlastních zdrojů
- [06] Obrázek 4: Z vlastních zdrojů
- [07] Obrázek 5: Z vlastních zdrojů
- [08] Obrázek 6: Z vlastních zdrojů
- [09] Obrázek 7: Z vlastních zdrojů
- [10] Obrázek 8: Z vlastních zdrojů
- [11] Obrázek 9: Z vlastních zdrojů
- [12] Obrázek 10: Z vlastních zdrojů
- [13] Obrázek 11: Z vlastních zdrojů

## METODICKÝ LIST:

<b>Název školy</b>	Gymnázium a Jazyková škola Zlín s právem státní jazykové zkoušky Zlín
<b>Autor</b>	Ing. Pavel Horčic
<b>Vzdělávací oblast</b>	Člověk a příroda
<b>Vzdělávací obor</b>	Chemie
<b>Tematický okruh</b>	Nukleové kyseliny – izolace molekul DNA
<b>Druh učebního materiálu</b>	Laboratorní cvičení – žák
<b>Cílová skupina</b>	Žák, 14 – 15 let
<b>Anotace</b>	Pracovní list je určen do výuky laboratorních cvičení z chemie náplň: deoxyribonukleová kyselina, její chemické složení, nukleotidy