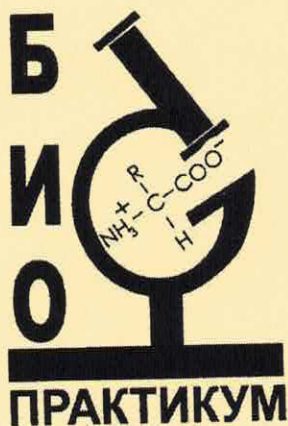


# Выделение ДНК



Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) является основным веществом-носителем наследственной информации. В клетках эукариот большая часть ДНК сосредоточена в ядре и существует в виде комплекса с белками – хроматина. Многие культурные сорта растений (бананы, клубника, киви) полиплоидны, поэтому из их тканей можно легко выделить большое количество ДНК.

Выделение чистой ДНК из живых клеток состоит из нескольких шагов.

Во-первых, необходимо удалить клеточные оболочки. Клеточные стенки бактерий, грибов и растений разрушают механически или с помощью специальных ферментов. При механической обработке следует соблюдать осторожность, так как можно повредить длинные молекулы ДНК. Для растворения клеточной и ядерной мембраны используют различные поверхностно активные вещества, например, лаурилсульфат натрия или раствор щелочи. Чтобы грубо выделить ДНК в домашних условиях, можно воспользоваться моющим средством для посуды или шампунем, желательно с минимальным количеством ароматизаторов.

Далее нужно отделить ДНК от связанных с ней белков. Структура белков, но не нуклеиновых кислот, нарушается в концентрированных солевых растворах, поэтому лизирующие растворы для выделения ДНК содержат соль, чаще всего хлорид натрия.

Наконец, чтобы очистить ДНК из получившегося лизата (разрушенных остатков клеток), используют спирт. ДНК хорошо растворяется в воде, но в спирте выпадает в осадок, при этом отдельные нити ДНК слипаются друг с другом и становятся видны невооруженным глазом. Такой осадок можно вынуть или отделить от жидкости на центрифуге, после чего снова растворить в воде для дальнейшей работы либо высушить для хранения на стекле или бумаге.

Ваша задача – выделить ДНК из предоставленного растительного материала и подготовить ее дальнейшего использования.

## Ход работы

1. Приготовьте в стаканчике лизирующий раствор: добавьте к 10 мл мыльного раствора 1 чайную ложку соли и перемешайте.
2. Положите в пакет кусок банана, выдавите из пакета воздух, застегните пакет и аккуратно разомните его рукой.
3. Добавьте в пакет лизирующий раствор и продолжайте разминать пакет до образования однородной массы, стараясь не создавать избыточную мыльную пену.
4. Вставьте воронку в чистый стаканчик, накройте воронку сложенным в 4 раза кусочком марли и процедите через нее содержимое пакета в стаканчик.
5. Перелейте 5 мл получившегося экстракта из стаканчика в пробирку.
6. Аккуратно долейте по стенке пробирки 5 мл холодного спирта, по возможности не смешивая его с экстрактом банана.
7. Примерно через минуту на границе двух жидкостей в пробирке образуются полупрозрачные нити ДНК, постепенно всплывающие наверх. Перенесите палочкой часть ДНК на предметное стекло, а другую часть – в пробирку с водой. Подпишите полученные препараты.

## Стол № 9

На столе находятся:

- Задание
- 3 раствора БАДов
- Стеклянная мешалка (2)
- 0,1 М водный раствор  $H_2SO_4$
- 0,1 М водный раствор КОН
- Раствор свинцового сахара  $Pb(CH_3COO)_2$
- Раствор перекиси водорода  $H_2O_2$
- Дистиллированная вода (Q)
- Вода из пруда ( $H_2O$ )
- Пипетки Мора с грушей
- Спиртовка и держатель для пробирок

Перед началом проведения реакций наденьте халат, подготовьте свое рабочее место, проверьте наличие на Вашем столе всех обозначенных выше компонентов задания. В процессе выполнения задания сохраняйте порядок на рабочем месте

### **Работа со спиртовкой.**

Разожгите спиртовку. Зафиксируйте пробирку в зажиме. Прогрейте пробирку по всей длине, держа её с помощью зажима таким образом, чтобы отверстие пробирки было направлено в сторону ближайшей стены (т. е. от себя). Затем нагрейте содержимое пробирки в огне спиртовки. Тушить спиртовку путем надевания крышки на ее горлышко

Ваша задача состоит в том, чтобы оценить наличие в биологически активных добавках метаболически активных форм серы и селена – аминокислот цистеина и селеноцистеина.

При работе, пожалуйста, не путайте пипетки, это может привести к ошибочным результатам Ваших экспериментов. Храните пипетки в тех растворах, откуда Вы их взяли.

Для наполнения **пипетки Мора** жидкостью к ней присоединяют резиновую грушу. Грушу сдавливают, нижний конец пипетки опускают в жидкость и разжимают грушу. Жидкость заполняет пипетку. Вынимают нижний конец пипетки из жидкости. Снимают грушу и быстро закрывают верхнее отверстие пипетки указательным пальцем, не давая жидкости вытекать. Держа пипетку строго вертикально, поднимают ее так, чтобы метки оказались на уровне глаз, затем понемногу ослабляют нажим пальца на верхнее отверстие пипетки, чтобы жидкость медленно вытекала. В тот момент, когда нижняя часть мениска опустится до нужной метки, опять плотно закрывают пальцем верхнее отверстие пипетки. Затем нижний конец пипетки помещают в сосуд, в который требуется вылить жидкость, и, подняв палец, дают жидкости свободно вытечь из пипетки.

Для оценки наличия в экстрактах БАДов серы и селена воспользуйтесь реакцией Фоля.

Налейте в пробирку 5 мл исследуемого раствора. Добавьте к ним 1 мл раствора ацетата свинца и 5 капель раствора КОН. Доведите раствор до кипения над спиртовкой, подождите. Наблюдайте признаки реакций.

В результате реакции с серой будет образовываться нерастворимый сульфид свинца. От других продуктов его можно будет отличить по сильному побелению осадка после добавления перекиси водорода. **Наливать  $H_2O_2$  следует по каплям, во избежание слишком бурного протекания реакции.**

Сделайте вывод относительно содержания серы и селена в исследуемых продуктах, предположите возможный химический механизм реакции Фоля