

TÉMA	NUKLEOVÉ KYSELINY
<b>Úloha 31:</b>	<b>Izolácia DNA zo sleziny</b>
<b>Reagencie:</b>	1. 1 M chlorid sodný 2. 0,4 % hydroxid sodný 3. morský piesok
<b>Materiál:</b>	slezina, centrifúga, centrifugačné skúmavky, drevená špajľa, trecia miska
<b>Postup:</b>	1 g sleziny rozotrieme v trecej miske s morským pieskom. Potom pridáme 25 ml chloridu sodného a miešame 15 minút. Viskozita roztoku stúpa postupom extrakcie DNA. Suspenziu centrifugujeme 10 minút pri 3000 ot/min (1000 g). Viskózný supernatant <b>pomaly</b> vlejeme do 50 ml destilovanej vody. Vytvorí sa sieťka vlákna vyžrážanej DNA, ktorú navinieme na drevenú špajľu. Ďalej pokračujeme dôkazovou skúškou na DNA ( <b>úloha 33</b> )
<b>Úloha 32:</b>	<b>Izolácia RNA z droždia</b>
<b>Princíp:</b>	<i>Po rozrušení bunkovej steny kvasiniek sa RNA extrahuje 0,5 % roztokom NaOH a po úprave pH sa zráža ľadovým etanolom.</i>
<b>Reagencie:</b>	1. dietyléter 2. 0,4 % roztok hydroxidu sodného 3. 5 % roztok kyseliny octovej 4. 50 % roztok kyseliny octovej 5. vychladený etanol 6. morský piesok
<b>Materiál:</b>	pekárenské droždie, trecia miska, centrifúga, centrifugačné skúmavky
<b>Postup:</b>	Zmes 10 g pekárenského droždia, 1 ml destilovanej vody a 1 ml dietyléteru rozotrieme s malým množstvom morského piesku v trecej miske. Do homogenátu pridáme 25 ml 0,4 % NaOH a pokračujeme v rozotieraní ešte asi 15 minút. Pomocou 5 % kyseliny octovej (~ 3 ml) upravíme pH na 6. Zmes centrifugujeme 10 minút pri 3000 ot/min (1000 g). Supernatant zlejeme do kadičky a upravíme jeho pH na 3,5 pomocou 50 % roztoku kyseliny octovej. Odmeriame objem supernatantu a pridáme k nemu rovnaký objem vychladeného etanolu. Vytvorená zrazenina predstavuje ribonukleoproteín. Počkáme 5 min a centrifugujeme 10 min pri 3000 ot/min (1000 g). Supernatant zlejeme a zrazeninu použijeme v <b>úlohe 34</b> .
<b>Úloha 33:</b>	<b>Dôkaz zložiek DNA</b>
<b>Princíp:</b>	<i>2-deoxypentózy, podobne ako väčšina ostatných monosacharidov, poskytujú zahrievaním v kyslom prostredí deriváty furalu a niektoré ďalšie chromogénne látky, ktoré dávajú s aromatickými amínmi (ale tiež s tiolovými zlúčeninami) charakteristické sfarbenie.</i>
<b>Reagencie:</b>	1. 0,4 % roztok hydroxidu sodného 2. difenylamín (1 g v 100 ml ľadovej kyseliny octovej a 2,75 ml koncentrovanej kyseliny sírovej) 3. vzorka DNA (z <b>úlohy 31</b> )
<b>Materiál:</b>	skúmavky, stojan na skúmavky, vodný kúpeľ, mikropipety
<b>Postup:</b>	Do skúmavky vložíme malé množstvo (10 až 100 µg) vyžrážaného deoxyribonukleoproteínu (získaného v úlohe 31) a rozpustíme v 1 ml 0,4 % NaOH. K roztoku pridáme 1 ml difenylamínu a reakčnú zmes necháme 10 minút vo vriacom vodnom kúpeli. Vzniká modré sfarbenie, charakteristické pre 2-deoxy-

	pentózy (2-deoxyribózy).
<b>Pozorovanie:</b>	Zaznamenáme farebnú zmenu.
<b>Úloha 34:</b>	<b>Dôkaz zložiek RNA</b>
<b>Reagencie:</b>	1. 0,4 % roztok hydroxidu sodného 2. difenylamín 3. vzorka RNA (z <b>úlohy 32</b> )
<b>Materiál:</b>	skúmavky, stojan na skúmavky, vodný kúpeľ, mikropipety
<b>Postup:</b>	Do centrifugačnej skúmavky k zrazenine RNA z úlohy 32 pridáme 1 ml 0,4 % NaOH. Po rozpustení zrazeniny prelejeme roztok do sklenenej skúmavky a pridáme 1 ml difenylamínu. Roztok necháme 10 minút vo vriacom kúpeli. Vzniká zelené sfarbenie.
<b>Pozorovanie:</b>	Zaznamenáme farebnú zmenu.