



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

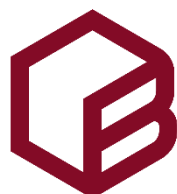


	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

Projekt pt.: „STUDENCI HIPOKRATESA - kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej” w ramach programu Fundusze Europejskie dla Rozwoju Społecznego 2021-2027 współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Plus, nr umowy: FERS.01.05-IP.08-0335/23-00

INSTRUKCJE DO ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH Z BIOCHEMII

*dla kierunku lekarskiego
Politechniki Bydgoskiej
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich*



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



ĆWICZENIE 12

Kwasy nukleinowe

Kwasy nukleinowe (nukleus – jądro) są uniwersalnym materiałem genetycznym wszystkich organizmów zawierającym informację o budowie białek oraz instrukcje o ich syntezie. Ze względu na budowę chemiczną komponentów kwasy nukleinowe możemy podzielić na kwasy deoksyrybonukleinowe (DNA) oraz kwasy rybonukleinowe (RNA). Kwasy nukleinowe zbudowane są z trzech rodzajów składników: zasad azotowych, cukrów – pentoz oraz kwasu ortofosforowego (V) czyli z fosforanowych estrów nukleozydów nazywanych nukleotydami. Związki te tworzą długie polimery zbudowane z czterech monomerów.

W celu poznania poszczególnych składników makrocząsteczek kwasów nukleinowych trzeba przeprowadzić najpierw ich hydrolizę.

1. Skład chemiczny kwasów nukleinowych

Wykonanie:

Hydroliza kwasów nukleinowych

W moździerzu 5 g drożdży rozetrzeć dokładnie z dodatkiem 10 kropli eteru i 10 kropli wody destylowanej. Następnie do moździerza dodać 20 ml 0,4% NaOH. Hydrolizat zobojętnić 2 N NaOH wobec papierka wskaźnikowego. Rozdzielić roztwór do trzech probówek i wykonać następujące próby:

A próba Molisha na cukier

Do pierwszej probówki zawierającej 1 ml otrzymanego roztworu nukleoproteidów dodać 2 krople alkoholowego roztworu α -naftolu i wymieszać. Następnie ostrożnie po ściance probówki nalać 1 ml stężonego kwasu siarkowego tak, aby wytworzyły się dwie warstwy. Na granicy warstw powstaje fioletowa obrączka. Często pojawiający się poniżej zielony pierścień pochodzi od zanieczyszczeń α -naftolu.

B próba na fosforany

Do drugiej probówki nalać 2 ml otrzymanego ekstraktu nukleoproteidów 5 ml roztworu molibdenianu amonu w HNO_3 . Po podgrzaniu do wrzenia powstaje żółty osad fosfomolibdenianu amonu.



C próba na zasady purynowe

Trzecią probówkę zawierającą 1 ml otrzymanego roztworu nukleoproteidów ogrzać do wrzenia i dodać parę kropli 10% roztworu siarczanu (VI) miedzi (II) oraz (ostrożnie!) po ściance probówki, kroplami nasyconego roztworu kwaśnego siarczanu (III) sodu. Powstaje żółty osad. Kwaśny siarczan (III) sodu redukuje sól miedziawą, która strąca puryny.

Uzyskane wyniki opisać w tabeli:

Lp	Składnik	Próba	Wynik
1	cukier	Molisha	
2	fosforany		
3	zasady purynowe		

2. Odróżnianie RNA od DNA

Jednym ze sposobów odróżniania kwasów nukleinowych są reakcje charakterystyczne na wykrywanie pentoz wchodzących w ich skład, a mianowicie: reakcja na wykrywanie pentoz z odczynnikiem Biala (odczynnik orcyłowy) i reakcja Dischego z odczynnikiem dwufenyloaminowym na wykrywanie dezoksyrybozy.

Wypełnić tabelę dotyczącą budowy i funkcji kwasów nukleinowych

Lp	Cecha	DNA	RNA
1	Pentozy		
	Odczynnik Biala		
	Odczynnik Dischego		
2	Zasady azotowe		
3	Występowanie		



4	Budowa przestrzenna		
5	Funkcje		
6	Rodzaje		

3. Izolacja DNA z materiału roślinnego

Kwas DNA jest naturalnym elementem naszej codziennej diety. Dziennie spożywamy 2 g materiału genetycznego – pełne genomy z warzyw, owoców, zbóż.

Do izolacji DNA można użyć dowolną roślinę, np. ziarna pszenicy, cebulę, truskawkę, pomarańczę, kiwi.

Całą procedurę należy wykonywać szybko. Zbyt długie manipulacje powodują degradację DNA, przez co może nie udać się go zobaczyć!!!

Wykonanie:

- Odmierzyć 50 ml wody destylowanej do zlewki.
- Dodać 10 ml płynu do mycia naczyń.
- Dodać czubatą łyżkę soli kuchennej.
- Wymieszać.
- Materiał roślinny przenieść do moździerza (dużego).
- Dodać wcześniej sporządzony roztwór i dokładnie rozetrzeć materiał roślinny.
- Odcedzić przez sitko do zlewki o pojemności 250 ml.
- Do odcedzonego roztworu dolać po ściankach zlewki 5 ml alkoholu izopropylowego.
- Na powierzchni roztworu widać białą warstwę.

Mydło pomoże rozpuścić błony otaczające komórki, dzięki czemu DNA wydostanie się na zewnątrz. Sól rozbija łańcuchy białek, wokół których owinięty jest materiał genetyczny. Gdy jego nici będą swobodnie pływać już w roztworze,



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



potrzebny jest nam ostatni składnik – alkohol izopropylowy. DNA nie rozpuszcza się w tym związku, dlatego zacznie się wytrącać, a my zaobserwujemy ten proces jako pojawiająca się biała chmurka (warstwa, błonka). Możemy obserwować DNA rośliny jak na dłoni.

Opisać wytrącony kwas dezoksyrybonukleinowy.