

Grupa.....

Wrocław, .....

Imię i nazwisko studenta:

Imię i nazwisko prowadzącego:

.....

.....

### Ćwiczenie nr 3.

#### Izolacja DNA

##### ***Zadanie 1. Izolacja DNA z owoców (kiwi, jabłko)***

###### **Odczynniki:**

1. Pokrojone, obrane owoce
2. Bufor do lizy (10 mM Tris/HCl o pH=8.0, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1% Triton X-100)
3. 3 M NaCl
4. Schłodzony 96 % etanol
5. szklana bagietka
6. lejek, sączeek
7. Probówka szklana
8. Moździerz
9. termoblok

###### **Przebieg doświadczenia:**

1. Utrzeć owoce w moździerzu (jedna osoba na całą grupę).
2. Przygotować bufor do ekstrakcji: do probówki dodać 5 ml buforu do lizy i 2,5 ml 3 M NaCl, wolno wymieszać (każdy zespół).
3. Przenieść ok 5 ml rozartego homogenatu owoców do probówki.
4. Roztwór wymieszać i inkubować 15 min w temp. 60°C w termobloku.
5. Przesączyć przez sączeek umieszczony w lejku.
6. Na ściankę probówki nanieść 1 ml schłodzonego etanolu.
7. Obserwować wytrącanie się DNA.

##### ***Zadanie 2. Izolacja DNA z owoców ( kiwi, jabłko) metodą domową:***

###### **Odczynniki:**

1. pokrojone, obrane owoce
2. sól kuchenna
3. płyn do naczyń
4. schłodzony alkohol
5. lejek, filtr do kawy,
6. moździerz,

7. małe słoiki
8. woda
9. Inkubator - duża miska napełniona do połowy wysokości wrzącą wodą z czajnika, temperatury wody nie trzeba kontrolować, powinna przez czas wykonywania doświadczenia ochłodzić się do ko 50-60°C, podczas ćwiczeń zastosujemy termoblok.

### **Przebieg doświadczenia:**

Wykonuje jedna osoba na całą grupę ( nie musi być ciągle ta sama):

1. Kiwi obrać, pokroić w kawałki.
2. Owoce utrzeć w moździerzu.
3. Przygotować bufor do lizy: do 100 ml wody dodać ½ łyżeczki soli i łyżkę I płynu do naczyń, mieszać aż sól się nie rozpuści, ale delikatnie, aby roztwór się nie spenił.
4. Dodać bufor do rozgniecionych owoców i jeszcze całość rozgniatać.
5. Całość przenieść do małego słoika.
6. Ostrożnie włożyć słoik z homogenatem do inkubatora i pozostawić całość na 15 minut .
7. Otrzymany homogenat przesączyć przez filtr do kawy ułożony w lejku do pustego słoika.
8. Rozdzielić homogenat dla każdego zespołu po łyżce do małych szklanych kieliszków (tu do probówki).
9. Na ściankę słoika nanieść 1 ml schłodzonego etanolu, można użyć do tego słomki lub szklanej bagietki, tak aby roztwory się nie wymieszały.
10. Obserwować wytrącanie się DNA.

### ***Zadanie 3.***

Wyjaśnij w jakim celu podczas izolacji DNA stosujemy:

A. detergent

-

.....

.....

B. NaCl

-

.....

.....

C. etanol

-

.....

.....

**Zadanie 4.** Chromatyna , jej skład i budowa. Uzupełnij:

W komórkach eukariotycznych podstawową jednostką chromatyny jest .....

Białka towarzyszące DNA w tworzeniu struktury chromatyny to .....

Opisz budowę jednostki chromatyny w której uczestniczą te białka:

.....

Chromatyna w jądrze komórkowym przyjmuje różne stopnie upakowania. Chromatyna najściślej upakowana nazywana jest ..... Chromatyna o nieco luźniejszej strukturze to .....

Jakie znaczenie dla odczytu informacji genetycznej ma stopień upakowania chromatyny?

.....

.....

Wymień etapy upakowania DNA w jądrze komórkowym:

1. ....

2. ....

3. Włókno chromatyny o szerokości 30nm. Tworzą je.....

.....

4. ....

.....

5. Fragment chromosomu w formie skondensowanej zbudowany

.....

.....

6. ....

.....

Co to jest centromer?

.....

.....

Co to jest telomer?

.....

.....