



## Лабораторна робота № 1

**Тема:** Виділення дезоксирибонуклеїнової кислоти та її ідентифікація

**Мета заняття:** навчитися виділяти та ідентифікувати ДНК та РНК у біоматеріалі.

**Обладнання:** халати, зошити, біоматеріал (печінка, м'ясо, рослинні проби), 5-% NaCl, 0,4% NaOH, миючий засіб, засіб для очищення контактних лінз, етиловий спирт, дефініламін, пісок, дистильована вода, метиловий зелений, 1 н соляна кислота, суміш фуксіна з сірчаною кислотою, ступки, центрифуга, міксер, фільтри, пробірки, колби.

### Хід роботи

#### **Завдання 1.** Виділення ДНК з біоматеріалу (I спосіб)

Виділення молекул ДНК з біоматеріалу можна провести декількома способами. Один з них доступний навіть у домашніх умовах. До 1-2 г біоматеріалу (мясний фарш, печінка чи насіннєвий матеріал) додають невелику кількість води та відносно велику кількість звичайної повареної солі. Цю суміш ретельно збивають у міксері, а потім пролежують. До отриманого розчину додають 2 столові ложки миючого засобу та знов ретельно перемішують. Дати відстоятися на протязі 5-10 хвилин та помістити у пробірку невелику кількість розчину, додати рідину для очищення контактних лінз, знову ретельно перемішати. Струсити. Обережно зверху долити шар етилового спирту та поступово розмішувати скляною паличкою. Нитки ДНК повинні намотатися на скляну паличку і стати помітними. Вони мають вигляд довгих дуже тонких ниток безбарвного кольору,

#### **Завдання 2.** Виділення ДНК з біоматеріалу (II спосіб)

1 г біоматеріалу (краще печінки) розтирають впродовж 10-15 хвилин у фарфоровій ступці зі 100 г піску поступово додаючи невеликими порціями 15 мл 5% розчину NaCl. Потім цю масу центрифугують на протязі 10-15 хвилин. Центрифугат переносять у колбу ємністю 100-150 мл, та повільно перемішуючи скляною паличкою додають 80-90 мл дистильованої води. Нерозчинна в воді ДНК випадає в осад та при перемішуванні скляною паличкою намотується на неї у вигляді ниток. Паличку з нитками обережно переносять у чисту пробірку де розчиняють ДНК в 1-2 мл 0,4% розчину NaOH. До 5-10 крапель розчину додають рівний осяг дефініламінового реактиву, перемішують та поміщають у киплячу водяну баню на 5-10 хвилин. Суміш поступово приймає синій колір.



## ВП 3 ЗАГАЛЬНОЇ ГЕНЕТИКИ



### Завдання 3. Виділення ДНК з біоматеріалу (III спосіб)

Візьміть будь-які свіжі ягоди (полуниця, банан, ківі). Добре пропийте їх та висушіть, почистіть їх від зайвих елементів та розімніть до однорідної маси у ступці. До 100 мл води додайте 1 ложку солі (NaCl) та 2 ложки миючого засобу. Додайте цей розчин до розтертого біоматеріалу продовжуючи розтирати. Відфільтруйте отриманий розчин в пробірку та додайте до розчину охолоджений (!) етиловий спирт. Состерігайте за змінами у розчині та виникненні ниток та хлопів ДНК.

### Завдання 4. Фарбування отриманого ДНК

Толуїдиновий синій фарбує як ДНК, так і РНК. Суміш піроніна з метиловим зеленим фарбує РНК піроніном в червоний колір, а ДНК метиловим зеленим – в зелений колір. Метиловий зелений фарбує лише високо полімерну ДНК, що стало основою для розробки кількісних мікроспектрофотометричних методів.

Фарбування нуклеїнових кислот за Фелінгом – специфічна реакція, яка широко використовується гістологами та цитологами для фарбування клітинних ядер та хромосом. Для здійснення цієї реакції тканинний зріз після видалення води вміщують в 1 н розчин соляної кислоти та витримують в цьому розчині за температури 50-60<sup>0</sup> С впродовж 10 хвилин. Потім зріз вміщують на 15-90 хвилин у суміші фуксіну з сірчаною кислотою, після чого промивають. Ядерний матеріал забарвлюється у яскравий пурпуровий колір.

В лабораторних зошитах зафіксувати результати проведених дослідів. Зробити висновки.