

Studentská aktivita: Izolace vlastní DNA

Přeložila Karla Webrová

Pomůcky

- Mikropipety nebo Pasteurovy pipety se stupnicí
Pokud nemáte mikropipety, můžete použít jednorázové Pasteurovy pipety se stupnicí, které s dostatečnou přesností pro tento pokus umožňují přenést objem menší než 1 ml.
- Jednorázové očkovací kličky nebo vatové tyčinky na stěry
- Malá falcon zkumavka nebo skleněná zkumavka se zátkou
Falcon zkumavky jsou zkumavky se stupnicí a šroubovacím uzávěrem. Pokud je nemáte, použijte klasické skleněné zkumavky.
- Vodní lázeň (optimální teplota 40°C)
- Dezinfekční roztok
- Lytický roztok
- Roztok proteinázy K
- Roztok octanu sodného
- Studený ethanol nebo isopropanol (nechte v lednici dokud nebude potřeba)

Postup

1. Do zkumavky kápněte 1 ml lytického roztoku.
2. Důkladně otřete kličku nebo tyčinku o vnitřní stěnu tváře a jazyk.
3. Vložte kličku nebo tyčinku do zkumavky s lytickým roztokem a krouživými pohyby promíchejte, aby se buňky uvolnily.
4. Kličku nebo tyčinku dejte do dezinfekce.
5. Krok 2-4 opakujte ještě dvakrát, abyste získali dostatečné množství buňek.
Pokaždé použijte novou kličku nebo tyčinku.
6. Přidejte 20 μ l (1 kapka, pokud používáte Pasteurovy pipety) proteinázy K do zkumavky.
7. Zkumavku uzavřete a několikrát překlopte.
8. Směs zahřejte ve vodní lázni nebo ponechte 10 minut při pokojové teplotě.
9. Přidejte 100 μ l octanu sodného.
10. Zkumavku uzavřete a protřepejte.
11. Přidejte 3 ml studeného ethanolu.
12. Zkumavku uzavřete a velmi pomalu několikrát překlopte.
13. Vaše DNA se objeví jako bělavá vláknitá sraženina.

Podklady pro:

McLusky S, Malagrida R, Valverde L (2013) Studentská aktivita: Izolace vlastní DNA. *Science in School* 26. www.scienceinschool.org/2013/issue26/obesity/czech

Bezpečnostní upozornění:

Roztoky mohou dráždit oči a pokožku, proto při práci používejte laboratorní plášť, ochranné brýle a rukavice. Sliny mohou být infekční; manipulujte pouze s vlastní kličkou nebo tyčinkou a po použití vydezinfikujte (15 minut).

Likvidace: tekutiny je možné vylít do umyvadla s velkým množstvím vody. Vydezinfikované použité kličky nebo tyčinky lze vyhodit do běžného odpadu.

Otázky k diskuzi

- Co je to “lýza”? Jaký má význam při izolaci DNA?
- Lytický pufr obsahuje detergent zvaný SDS. Jakým způsobem podle vás detergent na buňku působí?
- DNA je v buňce těsně navinutá na různé bílkoviny. Ve kterém kroku se DNA z těchto bílkovin uvolňuje?
- Jaký poznatek o rozpustnosti DNA vyplývá z posledního kroku?
- Jak můžeš dokázat, že bílá sraženina je opravdu DNA?

Rozšiřující aktivity

- Porovnej tuto metodu izolace DNA s jednodušší metodou, ve které se používá mražený hrášek (Madden, 2006) nebo kiwi^{w2}. Jak se od sebe liší? Která z nich funguje lépe. Dokážeš vysvětlit proč? Která z těchto metod se více podobá práci profesionálních genetiků?
- Jestli DNA obsahuje geny způsobující obezitu se z pouhé izolace nedozvíme. Jaké další testy je třeba udělat? Zjistěte více o technikách používaných v genetickém výzkumu.
- Rodiče, kteří jsou nositelé vážných dědičných poruch jako cystická fibróza nebo hemofilie si v mnoha zemích mohou před zavedením nechat otestovat embrya, aby zabránili narození takto nemocných dětí. Myslíš si, že by stejnou možnost měli mít i rodiče, jejichž DNA obsahuje “rizikové” geny pro obezitu? Mají tvoji spolužáci stejný názor?

Podklady pro:

McLusky S, Malagrida R, Valverde L (2013) Studentská aktivita: Izolace vlastní DNA. *Science in School* 26. www.scienceinschool.org/2013/issue26/obesity/czech