

Izolace DNA v kuchyni

Deoxyribonukleová kyselina, označovaná DNA (z anglického deoxyribonucleic acid), je často diskutována, ale málokdo si uvědomuje, že samotná izolace je snadná i v domácích podmínkách. Samozřejmě pro další práci s DNA je již potřeba laboratorní vybavení. Nicméně získání DNA v takovém množství, že je okem viditelná a její uchování pro případné další experimenty by mohlo žáky či studenty zaujmout. Cílovou skupinou by mohli být zájemci o biologii, či biochemii s kreativním přístupem.

Postup izolace lze různě modifikovat a používat odlišné čisticí prostředky a alkoholické nápoje, které mohou změnit celkovou výtěžnost. Lze také modifikovat postupy při izolaci DNA z masa nebo ovoce. Lze využít efektu mrazení nebo je možné ho vynechat a podobně. Praktickou část lze spojit s výkladem o dosažených technikách práce s DNA a budoucích možnostech.

Využité přístroje:

kuchyňské vybavení

Cílová skupina/náročnost:

2. ročník SŠ a odpovídající ročníky gymnázií

Autor:

Mgr. Jaroslav Pavelka, Ph.D.

Všechny uvedené texty, obrázky a videa jsou vlastní, není-li uvedeno jinak. Autory Youtube embed videí lze nalézt při kliknutí na znak Youtube ve videu během přehrávání.

K plnohodnotnému využití této studijní opory je nutný přístup k on-line zdrojům a materiálům.

Tento materiál vznikl z finanční podpory Evropského sociálního fondu a státního rozpočtu České republiky v rámci projektu „Popularizace vědy a badatelsky orientované výuky“, reg .č. CZ.1.07/2.3.00/45.0007.

1 Základní informace o projektu

Název

Izolace DNA v kuchyni

Anotace programu/zaměření/hlavní cíl

Deoxyribonukleová kyselina, označovaná DNA (z anglického deoxyribonucleic acid) je často diskutována, ale málokdo si uvědomuje, že samotná izolace je snadná i v domácích podmínkách. Samozřejmě pro další práci s DNA je již potřeba laboratorní vybavení. Nicméně získání DNA v takovém množství, že je okem viditelná a její uchování pro případné další experimenty by mohlo žáky či studenty zaujmout. Cílovou skupinou by mohli být zájemci o biologii, či biochemii s kreativním přístupem. Postup izolace lze různě modifikovat a používat odlišné čisticí prostředky a alkoholické nápoje, které mohou změnit celkovou výtěžnost. Lze také modifikovat postupy při izolaci DNA z masa nebo ovoce. Lze využít efektu mrazení, nebo je možné ho vynechat a podobně. Praktickou část lze spojit s výkladem o dosažených technikách práce s DNA a budoucích možnostech.

Cílová skupina

Cílovou skupinou by měli být studenti 1-2 ročníku čtyřletého gymnázia nebo 5-6 ročníku osmiletého gymnázia se zájmem o přírodní vědy, nicméně úloha je natolik jednoduchá, že ji lze provádět i na základních školách v rámci nepovinného předmětu i zájmových biologických kroužků.

Pomůcky

Materiál pro získání DNA – rybí, hovězí či vepřové maso, kuřecí játra, plod kiwi a podobně, dále mixer, prostředek na vysrážení DNA, jako například líh (líh z lékárničky, lihový čistič, vodka, rum apod. případně isopropanol), nějaký detergent (Jar, Pur, apod.), dále mrazák, filtra kávu, nebo jemné sítko, misky, nebo hluboké talíře, (raději plastové), nůž, dřevěná špejle, teploměr (0-100°C).

Časová náročnost

Odhad je 2 – 4 vyučovací hodiny.

2 Motivační rámec projektu

DNA je inspirací sama o sobě, ale i populární kultura se jí často zabírá. Seriály jako „Sběratele kostí“, filmy jako „Jurský park“ nebo filmy založené na fantastických mutacích, např. série „X - Meni“, přivádí mnohé mladé, aby uvažovali o možnostech, které práce s DNA nabízí i v reálném světě. Je velké množství věcí, které stále nevíme. Neznáme funkci všech genů, řízení všech procesů v těle, také se zkoumá, jak jsou mnohé děje v organismu vůbec aktivovány. Možnosti v medicíně jsou dané, ale etika zásahů do lidského i zvířecích genomů ježhavé téma. GMO potraviny u mnohých vyvolávají paniku, přitom konzumují odrůdy kukuřice připravené mnohem dramatičtějšími zásahy do celkového genomu někdy na počátku dvacátého století, jen o tom nevědí. Schopnost vlastního rozhodování je dána mírou získaných informací. Budoucnost mohou zodpovědně ovlivňovat ti, kteří sami budou studovat, a jejich zájem o DNA může spustit právě jednoduchý pokus izolace z potravin.

Nabízené téma již bylo opakovaně zpracováno, snaha byla ho podat poněkud jiným způsobem. Ale je vhodné se podívat na další kvalitně zpracované materiály:

http://www.conatex.cz/veda/PDF/6_chemie_stredni%20skola/05_vyzkum/5.3_DNA.pdf

http://www.gymnasiumkladno.cz/soubory/bio_kucharka.pdf

http://www.projekt-trojlistek.info/metodiky/chemie-metodika_5-01%20DNA%20ve%20zkumavce.pdf

<http://sumavak.anafra.net/genetikafinal.pdf>

<http://www.vedanasbavi.cz/orisek-izolace-dna>

http://zeaxantin.rajce.idnes.cz/Extrakce_DNA_z_bananu/

3 Poznámky k využití přístrojů

Projekt je úmyslně koncipován způsobem, aby zahrnoval výlučně zařízení a vybavení v běžné domácnosti. Nejsložitějším zařízením je tedy mixér a mrazák. Podstatou je, aby si každý účastník pokusu uvědomil, že i řada zdánlivě složitých záležitostí je řešitelná díky znalostem pomocí improvizací.

4 Vzor pracovního protokolu

Vzorprotokolu

Miloš Lihumilný

Datum:XXXXX

Gymnázium Grad

Téma: Izolace DNA v běžné kuchyni.

Úvod:

Teorie a princip úlohy (*popsat velmi stručně význam izolace DNA a potřebu znát více způsobů kvůli dalšímu možnému zpracování. Je možno zmínit význam DNA pro život na naší planetě*).

Materiál a pomůcky:

Seznam nutných věcí k provedení experimentu.

Provedení:

1. Výběr vhodného organického materiálu.
2. Vybavení laboratoře - kuchyně
3. Pracovní postup:

Popis jednotlivých kroků v pokusu a vlastní práce a vlastních modifikací, a zejména uvedení skutečně použitých poměrů

Výsledky:

Dokumentace výsledku – fotografie vysrážené DNA v roztoku a po namotání na špejli. Pokus o odhad izolovaného množství.

Diskuse:

V této části je nutno vyhodnotit získané výsledky a uvést předchozí práce, které se vztahují k tomuto tématu.

Zde by bylo vhodné uvést laboratorní postupy a komerčně dodávané kity (sady) pro izolaci. Je možno vhodně využít hledání na internetu, např. Google Scholar. Vlastní výsledky je nutno popsat, zdůvodnit, proč k nim zřejmě došlo, a pokud možno porovnat s podobnými údaji, které už byly popsány, nebo je porovnat s výsledky dalších členů skupiny.

Závěr:

Krátce shrnout hlavní výsledky pokusu.

Sada otázek na přemýšlení

Proč je nutno uchovávat genetickou informaci?

Mohl by být jiný systém v přirozené genetické databázi?

Jak se asi stalo, že většina DNA v našich chromozómech zřejmě nic nekóduje? Byl by život možný bez DNA?

Jak dochází k mutacím a co se při nich děje na DNA? Jak se projevuje karcinogenní efekt?

Testovali jsme mutageny v potravě, mohou mutace způsobovat i jiné vlivy? Jsou také mutageny pro člověka ty mutageny, které mohou ovlivnit mouchy?

Co by se stalo s námi vytvořenými mutanty v přírodě? Zkuste se zamyslet, zda některá konkrétní mutace by mohla být za nějakých podmínek výhodná. Příklad: na ostrově uprostřed oceánu bez predátorů je výhodné nemít křídla, protože létací hmyz zaneše vítr nad vodu, kde se utopí.

5 Postup izolace DNA

- 1) V první řadě je nutno vybrat materiál, který obsahuje DNA. Můžeme použít nějakou zeleninu, syrová kuřecí játra, plod kiwi, jahody. Pokud vezmeme krev, raději např. husí, protože krvinky savců jsou kromě bílých bezjaderné.
- 2) Do vybraného materiálu o objemu asi 100 ml (1/2 hrnečku) přidáme dvě kávové lžičky kuchyňské soli a 200 ml (asi dva hrnečky) vody a rozmixujeme v mixéru na kašovitou hmotu. Výsledek přecedíme přes sítko, nebo filtr na kávu (v nálevce) do připravené nádoby.



Vybraný materiál byl rozmixován s trochou soli a přecezen přes jemné sítko.

Přidáme 2 lžičce Jaru, nebo Puru (asi 25-35 ml) a zamícháme a necháme 5-15 minut stát. Alternativně necháme materiál zmraznout v mrazáku a získáme směs pomocí drcení a škrábáníkusem utěrky s pískem na mytí, např. Toro, tento postup je ale velmi pracný, ovšem pomůžeme rozbití buňky.



Byly přidány dvě lžičce Puru a tři lžičce ananasového džusu hry a stejné množství zmrazeného lihu, pro lepší vysrážení byla směs nalita do uzavíratelné nádoby a 30 min zamrazena.

Pokud tuto pracovní cestu odmítneme, musíme buňky narušit jinak, zejména jsou vhodné nějaké trávicí enzymy. V našich podmínkách bude nejlepší použít ananasový džus, protože ananas obsahuje směs enzymů nazývanou „bromelin“, která buňky naruší (přidáme asi tři polévkové lžičky, jemně zamícháme a necháme 15 minut stát), případně šťávu z čerstvého ananasu, protože džusy mohou být různě ředěné a upravované – na závěr praktik je možno ananas ve skupině sníst – vysvětlíme, proč se normálně v laboratoři nejí a nepije. U ovocných plodů můžeme natrávení obejít zahřátím na 60 stupňů Celsia (v takovém případě budeme muset ještě teplotu stanovit pomocí teploměru), nádobu s nejmenou nakrájeným plodem, např. kiwi, ponoříme do lázně a necháme stát přibližně 15 minut.

3) Pokud je směs teplá, zchladíme ji v lednici na pokojovou teplotu a nalijeme do směsi alkohol nebo izopropanol, nejlépe dopředu uchovávaný na mrazáku. Nalijeme přibližně stejné množství, jako máme směsi. Alkohol zůstane nahoře. Díky soli dojde k vysrážení normálně rozpuštěné DNA v místech, kde se voda a alkohol stýkají. Vysrážení můžeme také pomoci vložení nádoby na cca 20 – 30 minut do mrazáku.

4) Vysrážené dlouhé molekuly DNA můžeme z roztoku vyjmout pomocí dřevěné špejle, případně je na špejli namotat. Pokud chceme DNA uchovat, je pro to nejlepší použít další nádobku s alkoholem.



Vysrážená DNA byla zachycena na sítku a nabrána na špejli a uchována v lihu v malé nádobce.

Na další pokusy s DNA však potřebujeme už náročnější přístroje a zařízení, která v běžné kuchyni nenajdeme.

Můžeme zkusit zvýšit výtěžnost a experimentovat s různými druhy mycích prostředků teplotami a prodlužováním, případně zkracováním některých kroků.

Literatura

Romanovský, A. Obecná biologie : celost. vysokošk. učebnice pro stud. přírodověd. a pedagog. fakult. Praha : SPN, 1985

Rosypal, Stanislav. Úvod do molekulární biologie. 4.,rozš. vyd. Brno : Stanislav Rosypal, 2006,

Rosypal, Stanislav. Přehled biologie. Praha : Scientia, 1994.

Doporučený multimediální materiál

Izolace DNA v domácích podmínkách (česky)

(video viz. on-line kurz)

-

Izolace DNA v domácích podmínkách (anglicky)

(videa viz. on-line kurz)

6 Metodický list

Téma	Izolace DNA	
Tematický celek	Bádáme v kroužku biologie na SS	
Motivační rámec	DNA v nás a kolem nás	
Počet žáků	5-15	
Věk žáků	14-17	
Pomůcky	Kuchyňské vybavení	
Stručný popis aktivity svyužitím přístroje	Izolace DNA z ovoce nebo masa za použití mixéru, mrazáku,alkohololu, soli, čisticích prostředků a nádobí.	
Vhodné místo	<i>kuchyně</i>	
Cíle aktivity	<i>Žáci budou schopni využít domácí zařízení a izolaci DNA a naučí se základní věci o přítomnosti, funkci, významu nositelky genetické informace.</i>	
Rozvíjené kompetence	Improvizace, schopnost využít předmětů pro jiné funkce, než byly určeny, chápání některých biologických principů a zákonitostí.	
Předchozí znalosti	<i>Základní úroveň biologie.</i>	
Mezipředmětové vztahy	Biochemie	
Časový plán	Fáze činnosti s přístrojem	Metody a formy, motivace
	Mixér - 5 min	Vysvětlení významu rozbití tkání
	Mrazák 2 min (vzorek v mrazáku 20 min)	Objasnění procesu srážení v chladu

7 Závěrečné tipy

Doporučený multimediální materiál

Popis izolace DNA v laboratoři (anglicky)

(videa viz. on-line kurz)