



Kwasy nukleinowe

Zadanie 1. Ekstrakcja RNA z drożdży

Celem zadania jest wyekstrahowanie RNA z komórek drożdżowych i identyfikacja poszczególnych składników nukleotydu.

Homogenizacja drożdży i ekstrakcja kwasu RNA. Odważyć 5 g drożdży na sączku bibułowym, przenieść je do moździerza. Dodać równą ilość pyłu szklanego homogenizować, rozcierając zawartość pistlem przez około 5 min. Następnie dodać do otrzymanej mieszaniny 2,5 cm³ 2 mol/dm³ NaCl i rozcierać ją dalej przez około 3 min.

Uzyskaną zawiesinę przenieść do szklanej długiej probówki i wytrząsać intensywnie przez 10 min.

Homogenną mieszaninę wstawić do łaźni wodnej o temp. 90°C na 7 min., ciągle mieszając bagietką. Po upływie tego czasu probówkę ochłodzić ostrożnie pod bieżącą wodą i przelać jej zawartość do probówki wirówkowej.

Wirować przez 15 min. z użyciem siły 2000 x g.

Otrzymany supernatant przelać do probówki i dodawać do niego kroplami kwas chlorowy (VII) w objętości 3 cm³. Odstawić na 15 min.

Zawartość probówki przenieść do probówki wirówkowej i wirować przez 15 min. z użyciem siły 2000 x g.

Supernatant odrzucić, a otrzymany osad RNA rozpuścić w 6 cm³ wody destylowanej i przelać do długiej probówki.

Hydroliza otrzymanego RNA. Do rozpuszczonego osadu powoli dodawać 3 cm³ 5 mol/dm³ H₂SO₄ i odstawić na 30 min. W otrzymanym hydrolizacie wykonać próby na obecność pentoz, fosforu i zasad azotowych.

Zadanie 2. Oznaczanie poszczególnych składników RNA

Celem zadania jest oznaczanie poszczególnych składników nukleotydu dla potwierdzenia składu RNA. Wyniki zanotować w tabeli.

Wykrywanie pentoz. Do 1 cm³ kwaśnego hydrolizatu z zadania 1 dodać 1 cm³ odczynnika Biala lub do 1 cm³ kwaśnego hydrolizatu z zadania 1 dodać 1 cm³ stęż. HCl oraz 0,5 cm³ odczynnika Tollensa. Próbę ogrzać we wrzącej łaźni wodnej.

W celu wykrycia pozostałych składników hydrolizat zobojętnić, dodając ok. 2 cm³ 2 mol/dm³ NH₃.aq.



Wykrywanie fosforu. Do 1 cm³ zasadowego hydrolizatu dodawać 0,5 cm³ stęż. HNO₃ i 1 cm³ molibdenianu amonu. Ogrzać ostrożnie nad palnikiem aż do zagotowania mieszaniny i utrzymywać ją w stanie wrzenia przez około 3 min.

Wyrwanie zasad azotowych. Do 2 cm³ zasadowego hydrolizatu dodać 5 kropli 0,1 mol/dm³ AgNO₃ przy stałym mieszaniu. Następnie dodać do otrzymanego roztworu około 1 cm³ 2 mol/dm³ NH₃.aq. Zasady purynowe tworzą nierozpuszczalne w roztworze amoniaku sole srebrne i wytrącają się.

Próba	Wynik
Wykrywanie pentoz	
Wykrywanie fosforu	
Wyrwanie zasad purynowych	