

## Kwasy nukleinowe

### 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, przenieść je do moździerza. Dodać równą ilość pyłu szklanego homogenizować, rozcierając zawartość pestylką przez około 5 min. Następnie dodać do otrzymanej mieszaniny  $2,5 \text{ cm}^3$   $2 \text{ mol/dm}^3$  NaCl i rozcierać ją dalej przez około 3 min. Uzyskaną zawiesinę przenieść do szklanej długiej probówki i wytrząsać intensywnie przez 10 min.

Homogenną mieszaninę ogrzać przez 7 min. we wrzącej łaźni wodnej ciągle mieszając bagietką (ostrożnie). Po upływie tego czasu probówkę ochłodzić pod bieżącą wodą i przelać jej zawartość do probówki wirówkowej. Wirować w wirówce laboratoryjnej przez 15 min.

Otrzymany supernatant przelać do nowej probówki wirówkowej i dodawać do niego kroplami 60% kwas chlorowy (VII) w objętości  $3 \text{ cm}^3$ . Odstawić na 15 min. Po tym czasie zawartość probówki wirować w wirówce laboratoryjnej przez 15 min.

Supernatant odrzucić, a otrzymany osad RNA rozpuścić w  $6 \text{ cm}^3$  wody destylowanej i przelać do długiej probówki.

**Hydroliza otrzymanego RNA.** Do rozpuszczonego osadu powoli dodawać  $3 \text{ cm}^3$   $5 \text{ mol/dm}^3$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  i odstawić na 30 min. W otrzymanym hydrolizacie wykonać próby na obecność pentoz, fosforu i zasad azotowych.

### Oznaczanie poszczególnych składników RNA

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

**Wykrywanie pentoz.** Do  $1 \text{ cm}^3$  kwaśnego hydrolizatu z zadania 1 dodać  $1 \text{ cm}^3$  odczynnika Tollensa lub do  $1 \text{ cm}^3$  kwaśnego hydrolizatu z zadania 1 dodać  $1 \text{ cm}^3$  odczynnika Biala. Próbę ostrożnie ogrzać nad palnikiem.

W celu wykrycia pozostałych składników hydrolizat zobojętnić, dodając ok.  $2 \text{ cm}^3$   $2 \text{ mol/dm}^3$   $\text{NH}_3\text{aq}$ .

**Wykrywanie fosforu.** Do  $1 \text{ cm}^3$  zasadowego hydrolizatu dodawać  $0,5 \text{ cm}^3$  stęż.  $\text{HNO}_3$  i  $1 \text{ cm}^3$  molibdenianu amonu. Ogrzać ostrożnie nad palnikiem aż do zagotowania mieszaniny i utrzymywać ją w stanie wrzenia przez około 3 min.



**Wyrzwanie zasad azotowych.** Do 2 cm<sup>3</sup> zasadowego hydrolizatu dodać 5 kropli 0,1 mol/dm<sup>3</sup> AgNO<sub>3</sub> przy stałym mieszaniu. Następnie dodać około 1 cm<sup>3</sup> 2 mol/dm<sup>3</sup> NH<sub>3</sub>.aq. Zasady purynowe tworzą nierozpuszczalne w roztworze amoniaku sole srebrowe i wytrącają się.

| Próba                      | Wynik |
|----------------------------|-------|
| Wykrywanie pentoz          |       |
| Wykrywanie fosforu         |       |
| Wyrywanie zasad purynowych |       |

Lublin, 24.02.2025

