



KARTA PRACY

W jakich postaciach występują w komórce kwasy nukleinowe (DNA i RNA)?

W celu wizualizacji kwasów nukleinowych (DNA i RNA) powszechnie stosuje się metodę elektroforezy w żelu agarozowym. Agarozą jest wielocukrem pozyskiwanym z czerwonych alg i w postaci zastygniętego żelu służy jako „sito molekularne” do separacji cząsteczek DNA lub RNA w polu elektrycznym.

Elektroforeza to ruch jonów i makromolekuł (np. DNA, RNA) w żelu agarozowym, pod wpływem przyłożonego napięcia elektrycznego. W wyniku elektroforezy dochodzi do „wędrówki” DNA obdarzonego ujemnym ładunkiem elektrycznym. DNA jest długą cząsteczką, stąd migruje powoli. „Wędrujące DNA” można obserwować w świetle UV.

PRZYGOTUJ PRÓBKĘ DNA DO NANIESIENIA NA ŻEL AGAROWY

woda	5 μ l
bufor obciążający	2 μ l
genomowe DNA	3 μ l

Wymieszaj zawartość próbki

PRZEPROWADŹ ELEKTROFOREZĘ BADANYCH PRÓB

1. Próby przygotowane do rozdziału (10 μ l) nanieś do studzienek żelu.
2. Zamknij pokrywę aparatu i podłącz aparat do zasilacza prądu. Kierunek przepływu prądu jest od katody (-) do anody (+). Uruchom aparat do elektroforezy i zdefiniuj parametry rozdziału. Napięcie ustaw na 60 V do momentu „wyjścia” prób ze studzienek. Następnie zwiększ napięcie do 90 V. Rozdział prowadź przez ok. 1 godzinę – barwniki muszą osiągnąć $\frac{3}{4}$ długości żelu.
3. Po zakończeniu rozdziału umieść żel na płycie transiluminatora i obserwuj w świetle UV.
4. Określ jakość genomowego DNA rozdzielonego w żelu agarozowym wg następujących kategorii:
 - +++ – bardzo dobra, zintegrowany prążek bez wyraźnych smug
 - ++ – częściowo zdegradowane DNA - rozmyty prążek
 - + – zdegradowane DNA - smuga, brak widocznego prążka