

3.1 DNA kann gesehen werden!

Hallo nochmal. Heute werden wir um DNA zu extrahieren, und wir werden es sehen. Kannst du es glauben? Visualisieren Sie die DNA!

Die DNA ist im Inneren der Zellen, gut geschützt durch die Kernmembran, durch das Zytoplasma und der Plasmamembran. Wir müssen also nacheinander alle diese Komponenten beseitigen und behalten nur DNA. Wir sagen Ihnen, wie es im Labor der Virologie gemacht wird, aber die zusätzlichen Informationen werden Sie sehen, dass Sie DNA, z. B. von einer Pflanze oder aus allen anderen Zellen zu extrahieren.

In einigen Proben müssen wir zuerst die Zellen zu isolieren, denen uns interessieren. Zum Beispiel müssen wir in einer Blutprobe, die roten Blutkörperchen oder Erythrozyten, löschen, die wie Sie wissen, haben keinen Kern und daher fehlt sie DNA. Hierzu genügt es, das Blut in destilliertem Wasser zu verdünnen, damit die roten Blutkörperchen platzen, wenn sie mit Wasser zu füllen. Nach Zentrifugieren, haben wir ein Sediment von kernhaltigen Zellen.

Der nächste Schritt ist, die Zellmembranen zu brechen und die Komponenten zu disaggregieren. Da die Membranen durch Lipide gebildet werden, ist es am besten verwenden Sie ein Reinigungsmittel oder ein Tensid. Proteine, Lipide und RNA werden mittels einer hypersalinen Lösung aggregiert oder beseitigt mit Proteasen und RNAsen, die sie zu zerstören. Bei jeder dieser Optionen Wenn wir Zentrifugieren, werden die zellulären Überreste im Pellet beibehalten, während der überstand die DNA enthält.

Gut. Haben wir die DNA von den anderen zellulären Bestandteilen getrennt, aber er wird begleitet von Restmengen von Lipiden, Proteinen, salzen, Reinigungsmitteln und anderen Reagenzien verwendet. Um sie zu entfernen, ist eine Mischung aus Phenol und Chloroform/Isoamyl Alkohol häufig verwendet. Nach dem Zentrifugieren, sehen wir eine niedrigere organische Phase, der Proteine enthält, die durch Phenol abgebaut werden und eine obere, wässrige Phase mit der DNA von der Chloroform und Isoamyl Alkohol aufbewahrt, während Lipide in der Oberfläche bleiben. Wir entfernen Sie vorsichtig die obere wässrige Phase, die die DNA enthält.

Das letzte Problem, das uns begegnet ist, wie die DNA in der Chloroform zu konzentrieren. Gut, fällt die DNA mit kaltem Isopropanol, also durch das Hinzufügen dieses Reagens und Invertieren der Röhre ein paar Male sehen wir eine Art wie Baumwolle Material. Dies ist genau die DNA. Wenn wir Zentrifugieren, wird die DNA der Pellet einbehalten, dass wir mit Ethanol waschen, alle Spuren von Isopropanol und vorherige Reagenzien zu entfernen. Nach dem Trocknen haben wir unsere Probe DNA bereit, mit ihm zu arbeiten. Bravo!!!

Dieses Verfahren ist nützlich beim Umgang mit Proben, aber wenn das Volumen der Proben zu handhaben hoch ist, oder gibt es kleine Mengen von Zellen in das Ausgangsmaterial (und daher wenig DNA), ist es praktischer, kommerzielle Mini-Spalten verwenden, die isolieren und reinigen DNA mit hoher Leistung. Es gibt auch Spalten für die Isolierung und Reinigung von RNA.

Wenn wir die Nukleinsäure gereinigt haben, ist es in der Regel in einem ausreichenden Puffer oder in doppelt destilliertem Wasser aufgelöst. Schätzen wir seine Konzentration in einem Spektralphotometer durch Beurteilung der Beziehung zwischen der Absorption bei 260 nm und bei 280 nm. Reine DNA haben eine Extinktion größer als oder gleich auf 1,8, wenn es verbleibende Proteine, wird der Wert niedriger sein.

Wir haben bereits unsere DNA. Nun lasst uns mit ihm zu arbeiten! Treffen Sie mich im folgenden Video.

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit.