

Муниципальное общеобразовательное учреждение  
«Кукнурская средняя общеобразовательная школа» Республики Марий Эл

**Выделение ДНК из биологического материала  
в условиях школьной лаборатории**

исследовательская работа

Выполнила: Ямбулатова Татьяна  
Анатольевна, обучающаяся 10 класса  
МОУ «Кукнурская средняя  
общеобразовательная школа»  
Руководитель: Виноградова Галина  
Яковлевна, учитель химии и биологии  
МОУ «Кукнурская средняя  
общеобразовательная школа»

2023 г.

## **Оглавление**

Введение.....	3
1. Литературный обзор .....	5
2. Методика исследований и результаты.....	10
3. Выводы и заключение .....	12
4. Список литературы .....	14
Приложение 1 .....	15
Приложение 2. ....	16

## Введение

Как передаётся информация внутри живых существ? Как от одного поколения в другое передается информация о зарождении именно зелёной лягушки, а не красного жасмина? Как и где она хранится? На чём она «путешествует»? Ответ известен: эта удивительная «информационная молекула» называется ДНК. Эта информация, «путешествующая» в молекуле ДНК от матери и отца к их потомству, является «инструкцией», которая позволяет механизму в оплодотворенной клетке строить новый живой организм.

В будущем я хотела бы связать свою жизнь с медициной, и задумалась над вопросом, можно ли увидеть ДНК как материю, и изучить доступный метод выделения нуклеиновых кислот в условиях школьной лаборатории. Все вышесказанное определило тему исследования: «Выделения ДНК из биологического материала в условиях школьной лаборатории».

**Актуальность темы** исследования определяется тем, что в настоящее время с развитием точных наук и техники менялись методы и уровни изучения живой материи. Наряду с классической генетикой, появились такие важные направления, как цитогенетика, генетика человека, генетика микроорганизмов, биохимическая, эволюционная генетика, космическая генетика, молекулярная генетика и многое др. Научные методы, позволяющие выделять ДНК, слишком трудны как в техническом, так и в теоретическом плане. В условиях школьных лабораторий невозможно найти нужное оборудование для проведения работы. А так хочется собственными глазами увидеть ДНК!

В современном информационном пространстве изображение двойной спирали ДНК можно узнать сразу. Полиграфическая продукция, ТВ, интернет, школьный кабинет биологии. Но гораздо больший интерес вызывает возможность практического получения легендарной молекулы, да еще и своей собственной. Именно эта возможность явилась определяющей при выборе нами темы исследования.

**Цель исследования:** разработать оптимальный алгоритм практической работы по выделению ДНК из клеток организма человека.

**Объект исследования:** клетки человеческого организма.

**Предмет исследования:** молекулы ДНК.

**Гипотеза:** Изучение этой молекулы в курсе химии и биологии средней школы не только теоретически, но и практически, возможно.

**Задачи:**

изучить и проанализировать различные источники информации;

выдвинуть гипотезу о возможности получения в условиях школьной лаборатории молекулы ДНК;

определить и разработать условия для исследования генетического материала человека;

составить алгоритм выделения ДНК из эпителиальных клеток организма человека.

**Методы исследования:**

теоретические (изучение, анализ, обобщение и систематизация различных источников информации – литературных, интернет-ресурсов);

эмпирические (исследовательский эксперимент, измерение, наблюдение, описание).

**Практическая значимость исследования** состоит в том, что полученную информацию по результатам исследовательской работы можно использовать на факультативных занятиях и элективных курсах.

## 1. Литературный обзор

### 1.1. Строение молекулы ДНК

ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) – своеобразный чертеж жизни, сложный код, в котором заключены данные о наследственной информации. Эта сложная макромолекула способна хранить и передавать наследственную генетическую информацию из поколения в поколение. ДНК определяет такие свойства любого живого организма как наследственность и изменчивость.

Закодированная в ней информация задает всю программу развития любого живого организма. Генетически заложенные факторы предопределяют весь ход жизни как человека, так и любого другого организма. Искусственное или естественное воздействие внешней среды способны лишь в незначительной степени повлиять на общую выраженность отдельных генетических признаков или сказаться на развитии запрограммированных процессов. Несмотря на то, что она кодирует всю информацию, из которой состоит наш организм, сама ДНК состоит всего лишь из четырёх строительных блоков или нуклеотидов: аденина, гуанина, тимина и цитозина. Азотистые основания одной из цепей соединены с азотистыми основаниями другой цепи водородными связями согласно принципу комплементарности: аденин соединяется только с тимином (А-Т), гуанин – только с цитозином (Г-Ц). Именно эти пары и составляют «перекладины» винтовой «лестницы» ДНК (рис. 1, 2, 3).

### СТРОЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

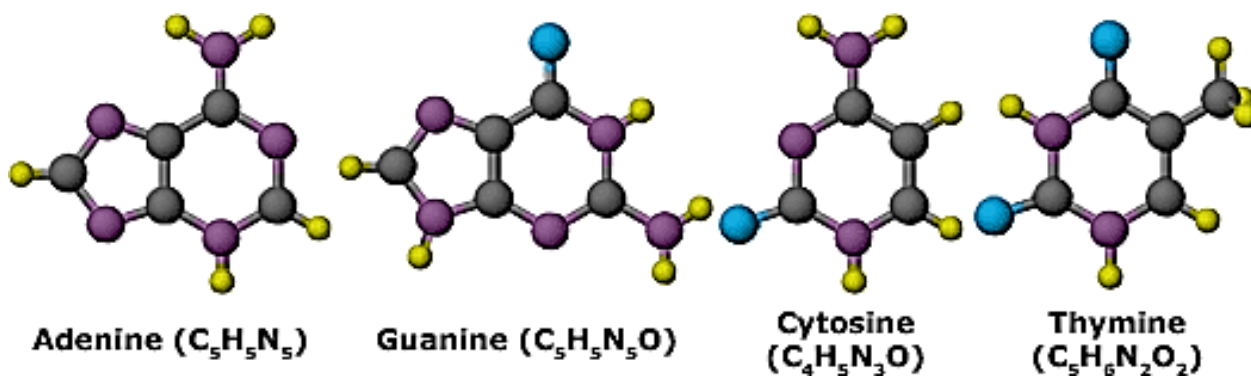


Рис. 1. Азотистые основания: аденин, гуанин, цитозин, тимин

С химической точки зрения Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) относится к нуклеиновым кислотам. ДНК – это длинная полимерная молекула, состоящая из повторяющихся блоков – нуклеотидов. Каждый нуклеотид состоит из азотистого основания, сахара (дезоксирибозы) и фосфатной группы. Связи между нуклеотидами в цепи образуются за счёт дезоксирибозы (С) и фосфатной (Ф) группы (фосфодиэфирные связи).

**Азотистые основания** бывают двух типов: пиримидиновые основания – урацил (только в РНК), цитозин и тимин, пуриновые основания – аденин и

гуанин.

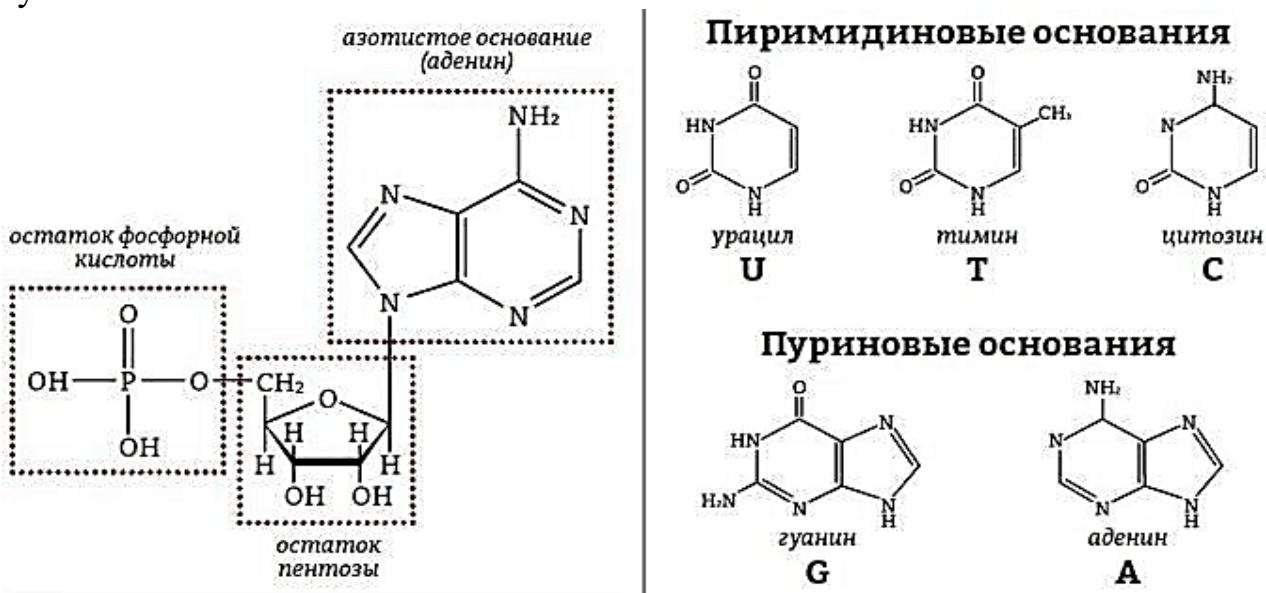


Рис. 2. Структура нуклеотидов (слева), расположение нуклеотида в ДНК (снизу) и типы азотистых оснований (справа): пиримидиновые и пуриновые

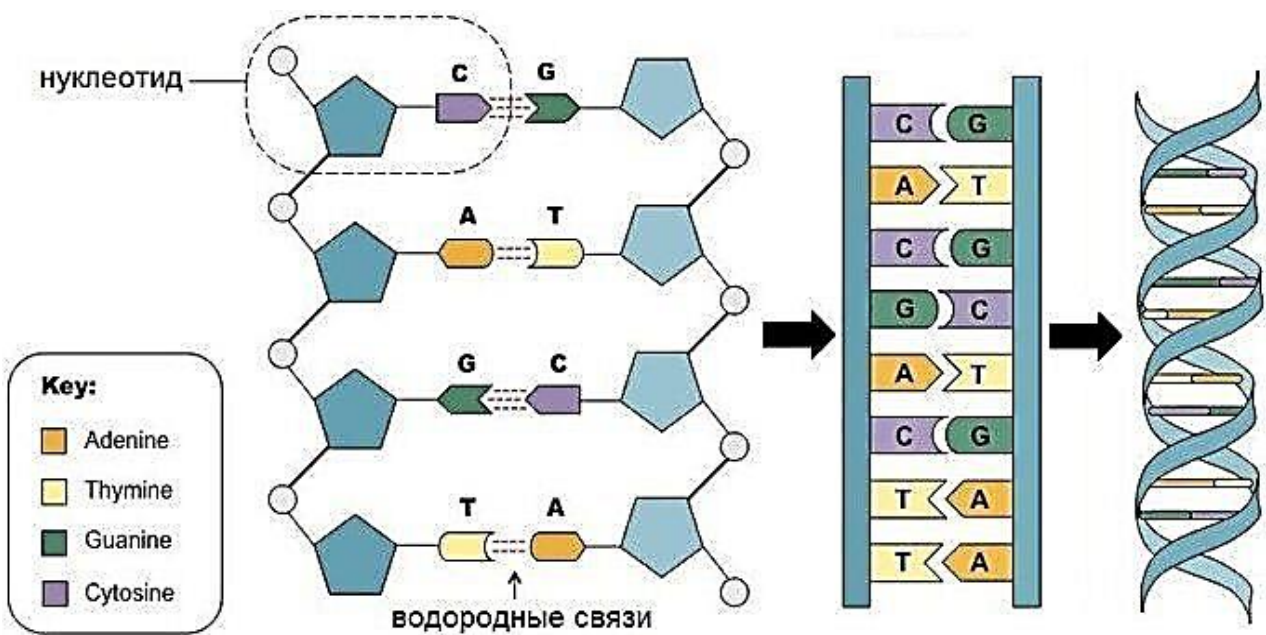


Рис. 3.

Наука не стоит на месте, и в настоящее время внесены значительные дополнения и коррективы в представления о строении ДНК, разработанные в середине XX в. Уотсоном и Криком. Без изменения этих данных история изучения ДНК была бы неполной и незаконченной.

Прежде всего, установлено, что ДНК обладает полиморфизмом, т. е. способностью молекулы принимать различные конфигурации. На данный момент описано шесть таких форм.

№	Форма	Структура	Характеристика
1	А		А-форма представляет собой структуру, схожую для РНК-ДНК дуплексов. Она обнаружена в среде с высокой концентрацией ионов $K^+$ и $Na^+$ и низким содержанием влаги.
2	В		В-форма имеет стандартную структуру, соответствующую модели Уотсона-Крика. Это основной тип ДНК.
3	Z		Z-форма представляет собой спираль с чередованием лево- и правозакрученности. В ДНК человека имеются участки, которые потенциально способны переходить в Z- форму. В 1993 г. установили, что в организме человека существуют условия, которые стабилизируют Z-форму.
4	С		С-форма менее спирализованная, чем В- форма, т. е. имеет меньше нуклеотидов на один оборот спирали, чем остальные разновидности.
5	Д		Д- и Е-формы — крайние варианты С- формы имеют наименьшее число пар оснований на виток — 8 или 7,5. Они обнаружены только в молекулах ДНК, не содержащих гуанина.
6	Е		

**Вывод:** История изучения одной молекулы перевернула прежние представления о наследственности и передаче генетических признаков из поколения в поколение. Установлено, что некоторые из конфигураций ДНК могут переходить друг в друга: А-В; Z-В. Ученые полагают, что взаимные переходы А- и В-форм регулируют работу генов.

Исследования, направленные на поиск материального носителя наследственности, определили собой рождение новой науки – молекулярной генетики.

Методом проб и ошибок была установлена важнейшая роль ДНК в переносе наследственной информации. Отброшены ошибочные теории о том, что генетическую роль в организме выполняют белки, отвергнута бесперспективная и упрощенная тетрауклеотидная схема строения нуклеиновых кислот.

В начале 50-х гг. Д. Уотсоном и Ф. Криком разработана модель строения молекулы ДНК, разъясняющая, как происходит копирование генетического материала. Вскрыты механизмы этого процесса.

Значительные достижения молекулярной генетики обеспечили прочную основу для таких перспективных направлений, как геновая инженерия и биотехнология, планирование генов и многоклеточных организмов.

## **1.2. О перспективах изучения ДНК**

Интерес к строению ДНК, возникший в последнее время, вполне оправдан. Многие учёные во всём мире уделяют этой тематике огромное внимание.

Так, к примеру, академик Академии медико-технических наук, член Нью-Йоркской Академии наук, биогенетик П. П. Гаряев экспериментально подтвердил возможность перепрограммирования ДНК и создания биокомпьютера на генетических структурах. Член Ассоциации Исследования Сознания и Института Изучения Человеческого Будущего, доктор философии и психологии Р. А. Уилсон также утверждал, что будущее эволюции человека в его метапрограммирующем (кибернетическом) сознании. Группа учёных Калифорнийского института технологий во главе с инженером по биомолекулярным разработкам Найлзом Пирсом сумела создать систему, производящую ДНК и позволяющую учёным определять часть ДНК искомой формы с тем, чтобы затем, запустив молекулярную программу, собрать в пробирке целую молекулу. Сенсационные открытия русских и американских учёных дали понять, что болезни можно лечить информационно, стирая с генов и клеток «неправильную» информацию. По мнению Рэя Курцвела, специалиста по разработке инновационных технологий, которого газета «Wall Street Journal» назвала «неутомимым гением» - полная расшифровка человеческого генома сделает возможным «выключать» развитие болезней и поворачивать старение вспять.

Изучение генетики человека, несмотря на всю сложность, важно не только с точки зрения науки. Трудно переоценить и прикладное значение проводимых исследований. Достижения в этой области оказывают заметное влияние на другие отрасли наук о человеке - медицину, психиатрию, психологию, педагогику. Значение развития генетики человека, очевидно. Можно с полной уверенностью сказать, что, например, в молекулах ДНК клеток человека запрограммирована генетическая информация, контролирующая каждый миг нашей жизни. Это касается здоровья, нормального развития, продолжительности жизни, наследственных болезней, сердечно-сосудистых заболеваний, злокачественных опухолей, предрасположенности к тем или иным инфекционным заболеваниям, старости и даже смерти. [б.с.143]

Правильно и образно сказал об этом в свое время в романе «Лезвие бритвы» писатель Иван Ефремов: «Наследственная память человеческого организма - результат жизненного опыта неисчислимых поколений, от рыбьих наших предков до человека, от палеозойской эры до наших дней. Эта инстинктивная память клеток и организма в целом есть тот автопилот, который автоматически ведет нас через все проявления жизни, борясь с болезнями, заставляя действовать сложнейшие автоматические системы нервной, химической, электрической и неведь какой еще регулировки. Чем больше мы узнаем биологию человека, тем более сложные системы мы в ней открываем».[5.с.239]

Особый интерес вызвала следующая информация об уникальной молекуле жизни:

- ДНК человека составляет менее 1% от веса клетки. И, тем не менее, чтобы воспроизвести самым мелким шрифтом ту огромную информацию, которая содержится в молекулах ДНК всего лишь одной нашей клетки, понадобилась бы тысяча книг по 1000 страниц в каждой! Вот таков размер генома человека – «Энциклопедии», написанной только четырьмя буквами!

- число отдельных молекул ДНК в клетке равно числу хромосом. Длина такой молекулы составляет около 8 см. Подобных гигантских полимеров пока не выявлено ни в природе, ни среди искусственно синтезированных химических соединений. У человека длина всех молекул ДНК, содержащихся во всех хромосомах одной клетки, составляет примерно 2 метра. Следовательно, длина молекул ДНК в миллиард раз больше их толщины. Так как организм человека состоит примерно из  $5 \times 10^{13}$ -  $10^{14}$  клеток, то общая длина всех молекул

ДНК в организме равна  $10^{11}$  км (это почти в тысячу раз больше расстояния от Земли до Солнца!

- наша ДНК – сложнейший закодированный язык. Молекула ДНК, состоящая, к примеру, всего из 100 пар нуклеотидов, может теоретически кодировать  $4^{100}$  «текстов»![1, с.24]

В процессе углубления в проблему, анализируя и сравнивая изученные источники информации нас все в большей степени охватывало

желание своими глазами увидеть, поближе познакомиться с таким замечательным объектом нашего исследования. Возникла необходимость в практическом извлечении молекулы ДНК из клеток человеческого организма.

## **2. Методика исследований и результаты**

### **Исследовательская работа «Выделение ДНК»**

**Цель:** разработать оптимальный алгоритм практического выделения ДНК из клеток организма человека.

**Задачи:**

- определить и разработать условия для исследования генетического материала человека;
- составить алгоритм выделения ДНК из эпителиальных клеток организма человека.
- осуществить выделение кристаллов молекулы
- рассмотреть выделенные кристаллы под микроскопом

**Оборудование:** пробирки, одноразовые шприцы, водяная баня, термометр, стакан со льдом, цифровой микроскоп, предметные стекла, клетки для исследования

**Реактивы:** физиологический раствор, буфер для лизиса моющее средство «Ферри», детергенты ананасовый сок, таблетки панкреатина, этанол 95%.

**Ход работы**

ДНК, как известно, есть в каждой клетке. Значит, выделить ее можно из любой ткани. Во всех тканях организма ДНК одинакова. Отличаются ткани тем, что в одних из них помимо вещества наследственности больше ничего нет (молоки селедки), а в других, таких, как костная ткань, содержание ДНК относительно невелико. Для исследования мы выбрали клетки эпителиальной ткани человека, собранные с внутренней поверхности слизистой оболочки щек (мало межклеточного вещества и достаточное количество самих клеток). В слюне содержатся клетки эпителия внутренней поверхности щек — это надежный источник ДНК. Важным преимуществом является безболезненность и простота сбора данного типа биоматериала.

**Ход работы:**

• **Сбор материала**

1. Для эксперимента использовали 15мл пробирку, в которую добавили 3мл физиологического раствора. Подписали своими инициалами.

2. Осторожно пожевали внутренние поверхности своих щек в течение 30 секунд.

3. Набрали физиологический раствор из 15мл пробирки в рот и тщательно прополоскали его в течение 30 секунд. Физиологический раствор необходим для того, чтобы клетки не полопались раньше времени: давление

внутреннего содержимого на клеточную мембрану изнутри уравнивается давлением соляного раствора снаружи.

4. Аккуратно выплюнули воду обратно в пробирку. Мы собрали материал в две пробирки. В одной в качестве детергента использовали ананасовый сок, в другой раствор панкреатина.

- Лизис

1. Нашли на столе 15мл пробирку с надписью «лизис». Используя одноразовый шприц, добавили 2мл буфера для лизиса в свою пробирку. В качестве буфера использовали средство для мытья посуды «Ферри», разведенное в 4 раза. Данное средство, согласно рекламе, легко отмывает самую жирную посуду и вполне годится для того, чтобы разрушить липидную мембрану как самой клетки, так и ее ядра. В результате такой обработки все клеточное содержимое оказывается в растворе, он делается вязким, тягучим и более прозрачным, чем была клеточная суспензия. Изменение консистенции раствора – верный признак того, что лизис прошел успешно.

5. Закрыли пробирку крышкой и аккуратно перевернули пробирку 5 раз.

- Удаляем белки.

В исследуемой смеси содержится большое количество белков, образующих прочные комплексы с ДНК. Чтобы очистить ДНК от остаточных белков, используем ферменты, способные разрушать эти молекулы. Для данного процесса можно использовать свежесжатый сок ананаса. Также можно использовать таблетки панкреатина, которые содержат фермент, расщепляющий белки.

1. Взяли маленькую пробирку с соком ананаса. Добавили 5 капель (250 мкл) к своему образцу 1.

2. В другой образец добавили истолченный и растворенный в теплой воде таблетку панкреатина.

3. Закрыли пробирки и несколько раз перевернули ее, чтобы перемешать содержимое.

4. Поместили свою пробирку в штатив или стакан на водяную баню, нагретую до 50С на 10 минут. По истечении этого времени вынули пробирки и поместили для охлаждения в стакан со льдом.

- Высвобождение ДНК.

1. Взяли пробирку с холодным спиртом (изопропанол или этанол 95%). При использовании спиртов меньшей концентрации ДНК в кристаллическое состояние не перейдет. Наполнили одноразовый шприц холодным спиртом.

2. Держа пробирку со своим образцом под углом 45, добавили туда 10мл (два объема) спирта так, чтобы он медленно стекал по стенке пробирки. Нижние слои спирта частично смешиваются с раствором ДНК, при этом начинается процесс кристаллизации нуклеиновых кислот. Закрыли пробирку крышкой.

3. Поставили пробирку прямо перед собой в стакан со льдом или штатив, и оставили ее на 5 минут не трогая.

4. Через 5 минут снова посмотрели на пробирку. Обратили внимание на границу слоев спирта и воды.

5. Медленно перевернули пробирку 5 раз, чтобы ускорить осаждение ДНК. Обратили внимание на плавающие в пробирке нити, белые или прозрачные. Это и есть наша ДНК! В обоих образцах выделение ДНК получилось одинаковым. В качестве детергентов, хорошо себя показал и ананасовый сок и панкреатин.

Чистые кристаллы ДНК похожи на клубки спутанных нитей. Не надо забывать, что мы видим именно кристаллы вещества, а не его макромолекулы.

6. Рассмотрели свою ДНК под микроскопом. Для этого деревянной палочкой выловили «нити». Можно использовать для отделения ДНК мелкое сито. Поместили «нити» на предметное стекло и рассмотрели под цифровым микроскопом. Сделали фото ДНК. Увеличение школьного микроскопа не позволит увидеть структуру молекулы и определить, какие гены она содержит, но наша ДНК стала нам намного ближе.

### **3. Выводы и заключение**

Нуклеиновые кислоты представляют собой генетический материал всех живых организмов вплоть до самых простых вирусов.

Выяснение структуры ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоты) – открыло новую эпоху в биологии, позволило понять, каким образом живые организмы хранят информацию, необходимую для регуляции их жизнедеятельности и каким образом передают эту информацию своему потомству.

Исследования последних лет доказали, что любая живая клетка, в том числе и клетка человеческого организма, представляет собой целостную систему, все составные элементы которой обнаруживают тесное взаимодействие между собой и окружающей средой, оказывающей на гены огромное влияние.

Закономерности генетики в большинстве случаев носят универсальный характер. Они одинаково важны для растений, для животных. Велико их значение и для человека.

Мы считаем, что изучение генома человека важно не только для сохранения его здоровья и разработки новых методов лечения, но и для понимания генетической составляющей его поведения и характера, интеллектуальных способностей, для восстановления истории возникновения человека.

Таким образом, знания о ДНК имеют огромное значение для человечества в окружающей нас действительности. Многие из нас и не догадывались о том, что выделить из клеток, увидеть своими глазами и

потрогать сравнительно чистый препарат ДНК - это не фантастика, а вполне реальная и посильная задача для любого заинтересованного человека.

Предлагаемый нами алгоритм выделения ДНК из эпителиальных клеток организма человека в процессе эксперимента можно усовершенствовать и изменять.

Вывод: Выделить из клеток, увидеть своими глазами и потрогать сравнительно чистый препарат ДНК – это не фантастика, а вполне реальная и посильная задача для любого заинтересованного человека.

#### 4. Список литературы

1. Альтер, А. Удивительная генетика / перевод Погорелова М. – Издательство: Питер, 2018 г. – 48 с.
2. Артамонова, В. Как увидеть ДНК. (Школьный клуб) / В. Артамонова Химия и жизнь, 2002, № 2 – С. 48-49.
3. Великов, В. А. Молекулярная биология. Практическое руководство. / В.А. Великов – Саратов: Издательство «Саратовский источник», 2013. – 84 с.
4. Докинз, Р. Эгоистичный ген / Ричард Докинз; пер. с англ. Н. Фоминой. – М.: АСТ: CORPUS, 2013. – 509 с.
5. Ефремов, И.А. Лезвие бритвы / И.А. Ефремов – Издательство: М.: Молодая гвардия, 1964 г. – 640 с.
6. Крейг, В. Расшифрованная жизнь. Мой геном, моя жизнь / перевод Образцова Л., Образцов П. – М.: Лаборатория знаний, 2020 г. – 464 с.
7. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии / ред. К. Уилсон и Дж. Уолкер; пер. с англ. 4-е изд. – М.: Лаборатория знаний, 2021 г. – 848 с.

#### Электронные ресурсы

1. Буферные растворы: приготовление и использование [Электронный ресурс]//ФБ (FB.ru) – URL: <http://fb.ru/article/44036/bufernyie-rastvoryi-prigotovlenie-iispolzovanie>
2. Выделение ДНК: гены на ладони/ Учебное руководство [Электронный ресурс]//Школьные материалы (zadocs.ru) – URL: <https://zadocs.ru/biolog/27490/index.html>
3. Лаборатория на кухне (выделение в домашних условиях ДНК) [Электронный ресурс]// Портал для абитуриентов и их родителей (Examen.ru) – URL:<http://www.examen.ru/add/manual/school-subjects/natural-sciences/genetics/stati-2201/laboratoriya-na-kuxne-vyidelenie-v-domashnix-usloviyax-dnk>.
4. Генетика [Электронный ресурс]//Биомолекула (biomolecula.ru) – URL: <https://biomolecula.ru/themes/genetika>.
5. Информационный портал о генетике [Электронный ресурс]//Genetics-info – URL: <https://genetics-info.ru/>
6. Современные представления о гене и возможностях генетики [Электронный ресурс]//Популярно о генетике (populargenetik.ru) – URL: <http://populargenetic.ru/>
7. Элементы [Электронный ресурс]//Элементы (elementy.ru) – URL: <https://elementy.ru/>

### Алгоритм выделения ДНК из эпителиальных клеток организма человека

#### Шаги 1 и 2: сбор и лизис клеток.

- 1) Возьмите с вашего стола 15 мл пробирку, содержащую 3мл физиологического раствора.
- 2) Осторожно пожуйте внутренние поверхности ваших щек в течение 30 секунд. Не надо кусать щеки до крови!
- 3) Наберите воду из 15 мл пробирки в рот и тщательно полощите его в течение 30 секунд. Не глотайте воду!
- 4) Аккуратно выплюньте воду обратно в пробирку.
- 5) Найдите на вашем столе 15 мл пробирку с надписью «лизис». Добавьте 2 мл буфера для лизиса (моющее средство «Ферри») в вашу пробирку.
- 6) Закройте пробирку крышкой и аккуратно переверните пробирку 5 раз (не трясите ее). Посмотрите на пробирку. Вы заметили какие-то изменения? Если да, запишите их.

#### Шаг 3: удаление белков.

- 1) Возьмите с вашего стола маленькую пробирку с протеазой (ананасовый сок или панкреатин), добавьте 5 капель протеазы (250 мкл) к вашему образцу.
- 2) Закройте пробирку и несколько раз переверните ее, чтобы перемешать содержимое.
- 3) Поместите вашу пробирку в штатив или стакан на водяную баню, нагретую до 50С на 10 минут. По истечению этого времени выньте пробирки.

#### Шаги 4 и 5: сделайте вашу ДНК видимой.

- 1) Возьмите пробирку с холодным спиртом.
- 2) Держа пробирку с вашим образцом под углом 45, добавьте туда 10 мл спирта так, чтобы он медленно стекал по стенке пробирки. Закройте крышку на пробирке.
- 3) Поставьте пробирку прямо перед вами в стакан со льдом, оставьте ее на 5 минут не трогая.
- 4) Через 5 минут снова посмотрите на пробирку. Обратите внимание на границу слоев воды и спирта. Вы видите что-нибудь? Запишите свои наблюдения.
- 5) Медленно переверните пробирку 5 раз, чтобы ускорить осаждение ДНК. Обратите внимание на плавающие в пробирке нити, белые или прозрачные. **Это ваша ДНК!**

Шаг 1. Сбор материала



Шаг 2. Лизис



Шаг 3. Удаление белков





Шаг 4. Высвобождение ДНК



## Шаг 5. Рассматривание и фотографирование ДНК под цифровым микроскопом



Фотографии ДНК

