

Veterinarska fakulteta v Ljubljani

13. vaja
Nukleinske kisline

18. 4. 2005 , Ljubljana

Uvod:

Nukleinske kisline predstavljajo oziroma so nosilci bioloških informacij. Sestava celic, organizma, delovanje ve je odvisno od teh genetskih navodil. DNK predstavlja genetski zapis pri živih bitjih, RNA pa je nosilec informacij pri nekaterih virusih.

Osrednja dogma je, da zaporedje nukleotidov v dna kodira ominokislinsko zaporedje v proteinu. Nukleinske kisline delimo na DNA in RNA, oboja sta linearna polimera. Glavni sestavni del so nukleotidi adenin, citozin, gvanin, timin in uracil samo pri RNA. A in G sta purina ostali pa so pirimidini. Med sabo pa se lahko vežejo samo A in T ter C in G. Molekula DNA je levosučna dvojna vijačnica, usmerjenost vijačnic pa je antiparalelna. Baze so med sabo povezana z vodikovimi vezmi in hidrofobnimi vezmi – tvorijo hidrofobni del molekule. OH skupine fosfatnih skupin pa so obrnjene proti vodnemu okolju. Ta dvojna vijačnica je veliko daljša kot celica sam zato je potrebno da je zelo zvita. Učinkovito zvijanje omogočijo histoni (H2A, H2B, H3, H4 in H1 ki je distančnik med nukleosomi)

RNA služi predvsem pri procesu prepisovanja DNA. V glavnem delimo RNA na mRNA, tRNA in rRNA..

Izolacija DNA.

Potrebno je da izberemo primerno tkivo (priželjc, vranica, trebušna slinovka), pazimo da molekule mehansko ne poškodujemo, izogibamo se segrevanju nad 80 stopinj in izogibamo se ekstremnim pH.

Rezultati & razprava:

Potek izolacije je opisan na projekcijah.

Če je količnik A260 in A280 1.8 pomeni da je DNA čista. V našem primeru je bila čistost 1.71, kar pomeni ,da so bile prisotne še druge biološke molekule.

Nukleinske kisline imajo maksimalno absorpcijo pri 260 nm. Pri 280 nm pa imajo maksimalno absorpcijo proteini.

Vrhovi grafu pričajo o čistosti. Lepši in izrazitejši kot so vrhovi boljše je izolirana nukleinska kislina.