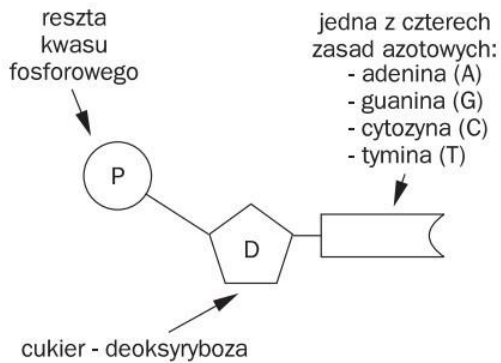
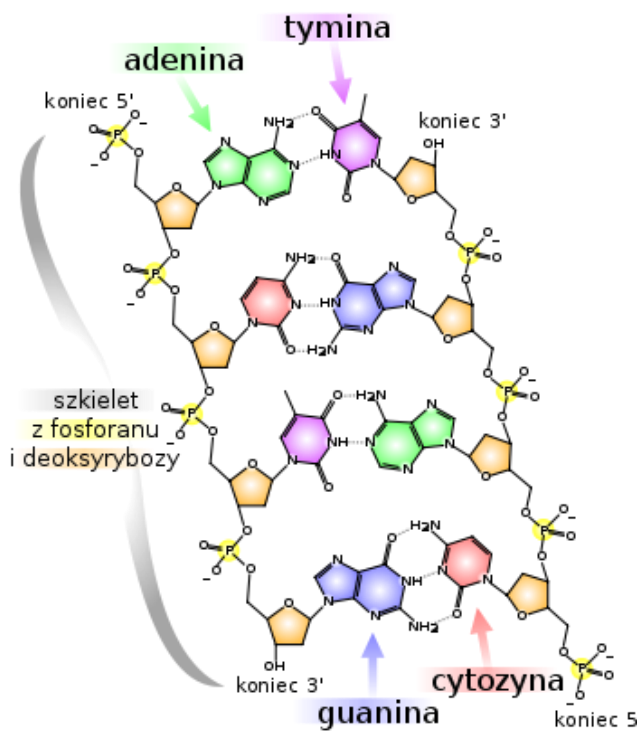


Izolacja DNA



Schemat budowy nukleotydu DNA



Wiązania wodorowe występują pomiędzy nukleotydami i ulegają rozpadowi w temp. 95 °C.

Znanych jest wiele procedur izolacji DNA, w wyniku których otrzymuje się DNA:

- biologicznie aktywne,
- chemicznie stabilne
- wolne od RNA i białek

Część DNA ulega mechanicznym uszkodzeniom.

Natywny DNA występuje w komórkach w kompleksie z białkami, białka te muszą być oddzielone podczas ekstrakcji aby to osiągnąć stosuje się proteinazę K oraz detergenty.

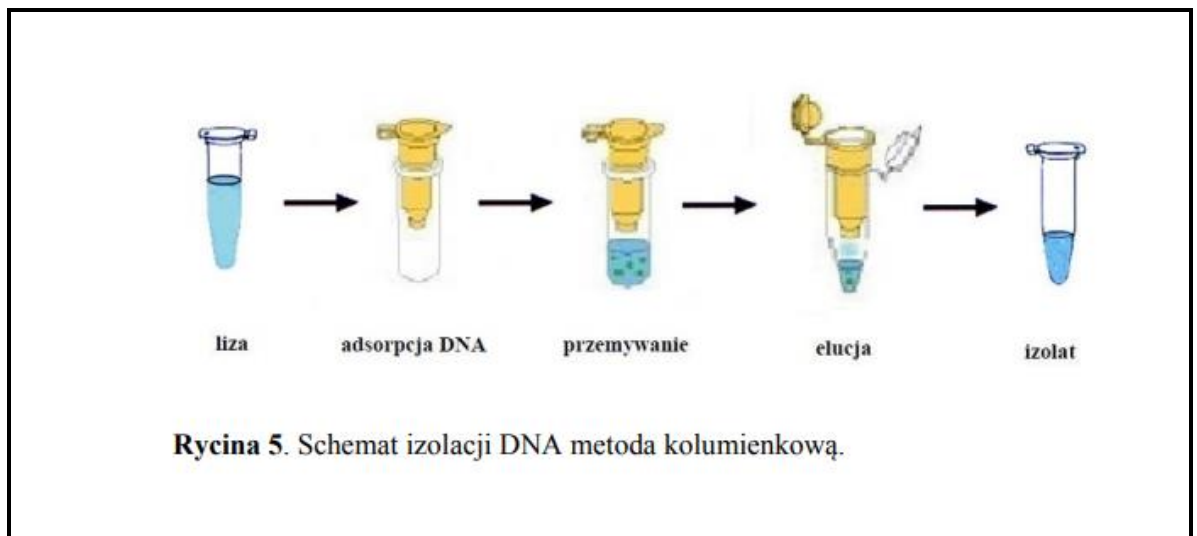
Proteinaza K :

- szerokie spektrum działania
- jest w stanie strawić keratynę
- zrywa wiązania peptydowe
- trawi i usuwa zanieczyszczenia białkowe podczas izolacji kwasów nukleinowych

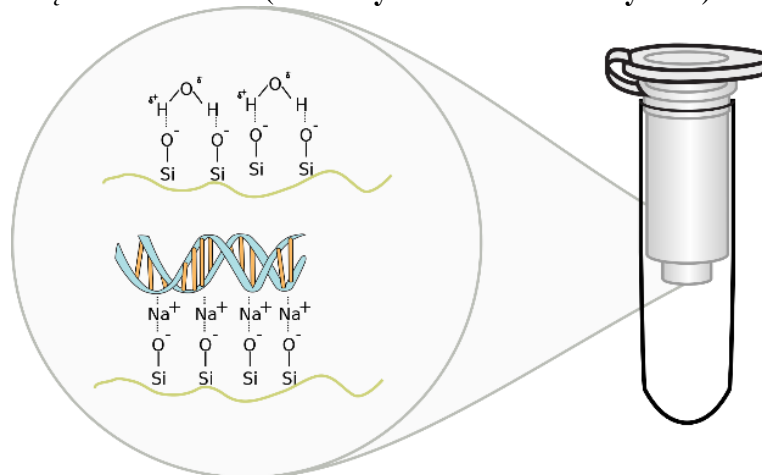
Detergenty w buforze lizującym powodują:

- Zniesienie oddziaływań jonowych pomiędzy naładowanymi dodatnio histonami i innymi białkami a ujemnie naładowanym szkieletem DNA.
- Dezintegrację błony komórkowej oraz jądrowej.

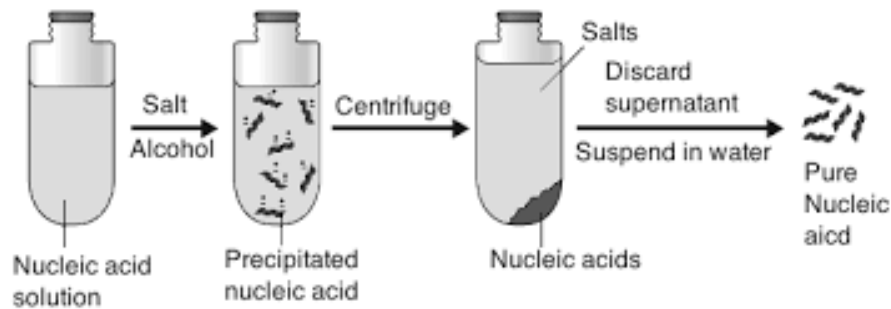
Sherlock AX Zestaw do izolacji genomowego DNA z materiałów o jego śladowej zawartości (plamy krwi, nasienia i śliny, włosy i sierść, tkanki zakonserwowane w parafinie i formalinie, tkanki świeże, krew świeża i mrożona). Procedura z precypitacją DNA.



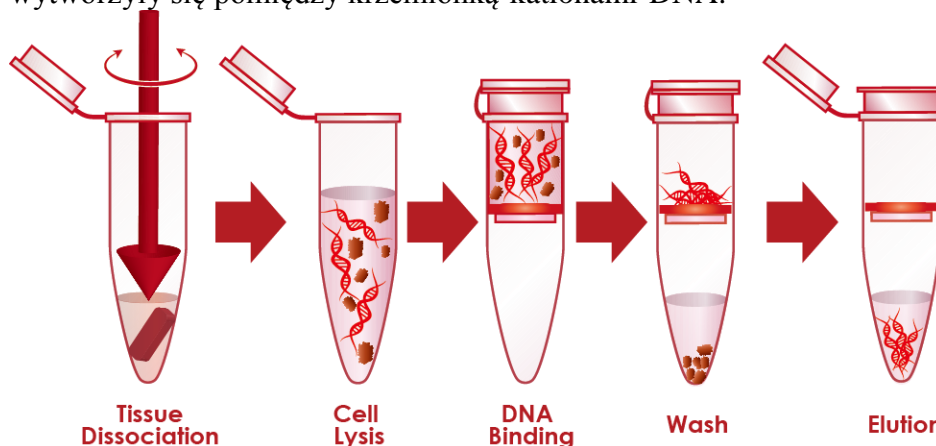
Schemat wiązania się DNA do złoża (**oddziaływania elektrostatyczne**):



precypitacja – zjawisko powstawania osadu w roztworze, w trakcie izolacji DNA umożliwia to zatężenie preparatu oraz jego otrzymanie w żądanym buforze, wykorzystuje się do tego celu min. izopropanol oraz obecne w roztworze kationy;



elucja - proces wymywania za pomocą eluentu (tzw. fazy ruchomej) substancji adsorbowanej wcześniej na fazie stałej (stacjonarnej). W trakcie oczyszczania DNA z wykorzystaniem kolumn, elucja polega na zrywaniu wiązań elektrostatycznych które wytworzyły się pomiędzy krzemionką-kationami-DNA.



OZNACZANIE STOPNIA CZYSTOŚCI DNA

absorbancja - proces pochłaniania energii fali elektromagnetycznej przez substancję. Natężenie światła wiązki przechodzącej przez substancję ulega zmniejszeniu w wyniku „pochłaniania” części światła.

spektrofotometr – aparat do pomiaru absorbancji

maksimum absorbancji:

- Białek – 280nm
- **DNA -260nm**

Czystość DNA:

Stosunek A_{260}/A_{280}

Idealnie czyste DNA: $A_{260}/A_{280} = 1.8$

Zanieczyszczenie białkami: $A_{260}/A_{280} < 1.8$

Zanieczyszczenie fenolem lub RNA: $A_{260}/A_{280} > 1.8$