

Štěpení nukleové kyseliny hydrolýzou

Řetězec nukleové kyseliny můžeme štěpit buď enzymaticky či neenzymaticky.

K **alkalické hydrolýze** polynukleotidu je třeba 2'-OH skupina, neboť prvním jejím krokem je přesun vazby z C5' následujícího nukleotidu na C2' téhož nukleotidu. Tím se přeruší osa polynukleotidu a přechodně se vytvoří cyklický 2',3'-fosfát, jenž se dále degraduje na směs 2' a 3'-fosfátů. Z toho vyplývá, že zahřátím v alkalickém prostředí se hydrolyzuje pouze RNA, zatímco DNA je **alkalirezistentní**.

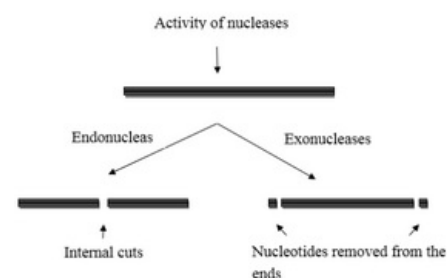
Mírnou **kyselou hydrolýzou** (pH asi 3) se selektivně štěpí β -glykosidová vazba purinových nukleotidů. Výsledkem je apurinový polynukleotid. Působením hydrazinu lze připravit apyrimidinovou nukleovou kyselinu.

V silně kyselém prostředí a při vyšší teplotě (HCl o konc. 6mol.l^{-1} , 175°C) se RNA i DNA štěpí na jednotlivé složky. Navíc se cytosin deaminuje na uracil, což je třeba vzít v úvahu při stanovení poměru bazí v polynukleotidu.

Pro stanovení primární sekvence nukleových kyselin je potřebnější **enzymová hydrolýza**, kterou katalyzují **nukleázy**. Rozeznávají se 3'- a 5'-**exonukleázy**, podle toho, od kterého konce polynukleotidu postupně odštěpují mononukleotidy. **Endonukleázy** štěpí vazby v určitém místě uvnitř řetězce, takže produktem bývají nestejně dlouhé oligonukleotidy.

Endonukleázy jsou specifické vzhledem k pentóze, existují **ribonukleázy (RNázy)** a **deoxyribonukleázy (DNázy)**. Dalším kritériem specifity nukleázy je polovina fosfodiesterové vazby, kterou štěpí. Nukleázy štěpící vazbu blíže C3' uvolňují nukleosid-3'-fosfáty. **Restrikční endonukleázy** štěpí dvoušroubovici DNA v místě s centrální symetrií v sekvenci nukleotidů.

Fosfodiesteráza z hadího jedu je 3'-exonukleáza štěpící a-vazby v RNA i DNA. Fosfodiesteráza z hovězí sleziny je 5'-exonukleáza štěpící b-vazby polynukleotidu. Pankreatická RNáza je endonukleáza, která štěpí v RNA b-vazby, pokud na a-vazbu daného fosfátu se napojuje pyrimidinový nukleotid. Z plísně byla izolována RNáza T štěpící b-vazby těch fosfátů, kde na a-vazbě je připojen purinový nukleotid.



Difference-Between-Endonuclease-and-Exonuclease-3

Odkazy

Související články

- Struktura nukleových kyselin
- Základní složky nukleových kyselin
- Primární struktura nukleových kyselin
- Metody sekvencování
- Sekundární struktura DNA
- Denaturace nukleových kyselin, molekulární hybridizace
- Sekundární struktura RNA
- Topologie DNA
- Interakce DNA s proteiny
- Bakteriální chromozom
- Eukaryotické chromosomy
- DNA mitochondrií
- Polymorfismus délky restrikčních fragmentů

Další kapitoly z knihy ŠTÍPEK, S.: Stručná biochemie uchování a exprese genetické informace:

Struktura nukleových kyselin: Základní složky nukleových kyselin • Primární struktura nukleových kyselin • Řetězec nukleové kyseliny lze štěpit neenzymovou nebo enzymovou hydrolýzou • Metody sekvencování •

Sekundární a vyšší struktura nukleových kyselin: Sekundární struktura DNA • Denaturace a reasociace řetězců nukleových kyselin, molekulární hybridizace • Sekundární struktura RNA • Topologie DNA; • Interakce DNA s proteiny, struktura chromosomu • Bakteriální chromosom • Eukaryotické chromosomy • DNA mitochondrií

Biosyntéza nukleových kyselin: Replikace DNA • Transkripce

Biosyntéza polypeptidového řetězce - translace: Transferové RNA (tRNA) • Aktivace aminokyselin, syntéza aminoacyl-tRNA • Funkce ribozómů v translaci • Translace u prokaryotů • Struktura ribozómů • Iniciace translace • Elongace peptidů • Terminace translace • Inhibitory bakteriální translace • Translace u eukaryotů • Struktura ribozómů • Iniciace eukaryotické translace • Elongace eukaryotické translace • Terminace eukaryotické translace • Inhibitory eukaryotické translace

Genetický kód

Biosyntéza nukleových kyselin a proteosyntéza v mitochondriích: Replikace mitochondriální DNA • Mitochondriální transkripce • Mitochondriální translace

Řízení genové exprese a proteosyntézy: Řízení genové exprese a proteosyntézy u prokaryot • Regulace na úrovni transkripce • Regulace sigma-faktory • Jacobův-Monodův operonový model • Regulační význam cAMP u

bakterií • Variace operonového řízení genů • Tryptofanový a arabinosový operon • Řízení terminace transkripce • Regulace bakteriální proteosyntézy na úrovni translace • Řízení genové exprese a proteosyntézy u eukaryot • Regulace na úrovni uspořádání genů • Regulace na úrovni transkripce • Regulace posttranskripčních úprav pre-mRNA • Regulace na úrovni translace • Řízení rychlosti degradace mRNA • Regulace funkce proteinu kotranslačními a posttranslačními úpravami

Posttranslační úpravy a targeting proteinů: Signální sekvence polypeptidu, volné a vázané ribozómy • Posttranslační glykosylace proteinů • Targeting nezávislý na glykosylaci proteinů • Targeting mitochondriálních proteinů • Targeting jaderných proteinů • Rozhodovací mechanismus k destrukci nefunkčních proteinů • Receptorem zprostředkovaná endocytóza

Biochemie virů: Reprodukce DNA virů • Reprodukce RNA virů • Interferony

Biochemie genového inženýrství: Štěpení DNA na definovaném místě řetězce • Účinné dělení fragmentů DNA elektroforézou • Identifikace restrikčních fragmentů • Syntéza umělé DNA • Pomnožení a exprese izolovaného nebo umělého genu v hostitelské buňce

Zdroje

- ŠTÍPEK, Stanislav. *Stručná biochemie : Uchování a exprese genetické informace*. 1. vydání. Medprint, 1998. 92 s. s. 12-13. ISBN 80-902036-2-0.