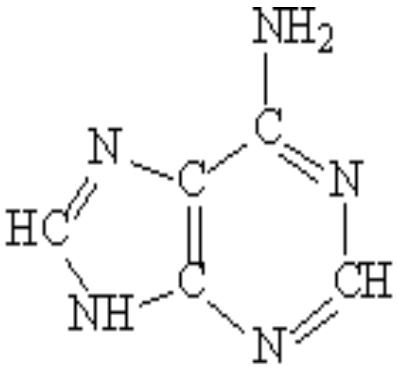
Выделение и визуализация нуклеиновых кислот и белков

Нукле́иновая кисло́та (от лат. *nucleus* — ядро) — высокомолекулярное органическое соединение, биополимер (полинуклеотид), образованный остатками нуклеотидов.

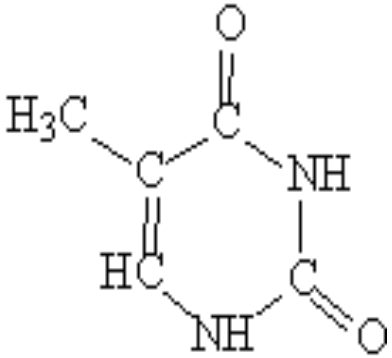
Существует два типа нуклеиновых кислот — дезоксирибонуклеиновые (ДНК) и рибонуклеиновые (РНК). Мономерами в нуклеиновых кислотах служат нуклеотиды. Каждый из них содержит азотистое основание, пятиуглеродный сахар (дезоксирибоза — в ДНК, рибоза — в РНК) и остаток фосфорной кислоты.

Нуклеиновые кислоты ДНК и РНК присутствуют в клетках всех живых организмов и выполняют важнейшие функции по хранению, передаче и реализации наследственной информации.

В ДНК входят четыре вида нуклеотидов, отличающихся по азотистому основанию в их составе, — аденин (А), гуанин (Г), цитозин (Ц) и тимин (Т).

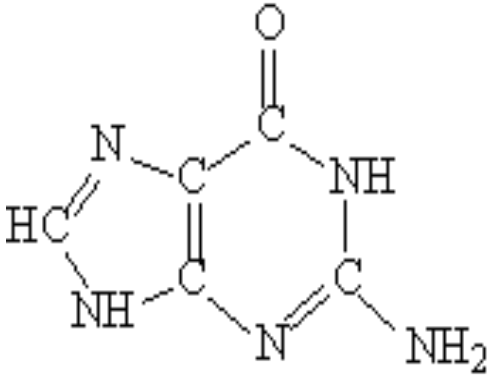


Аденин

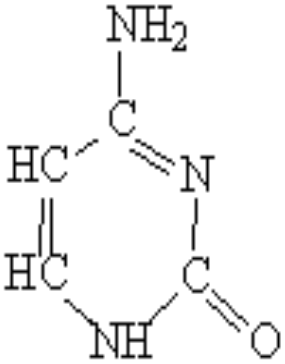


Тимин

Пары, связанные водородными связями, жестко определены: фрагмент **А** всегда взаимодействует с **Т**, а **Г** – с **Ц**. Пара **А-Т** связана двумя водородными связями, а пара **Г-Ц** – тремя связями.

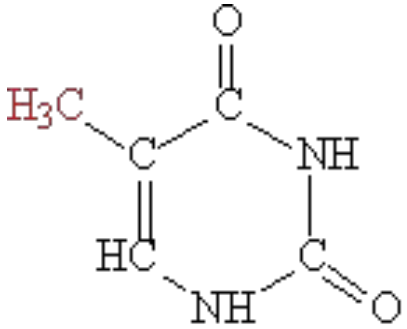


Гуанин

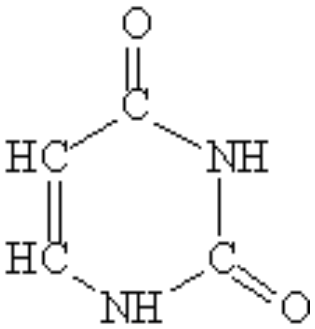


Цитозин

Структура РНК во многом напоминает ДНК, отличие в том, что в основной цепи фрагменты фосфорной кислоты чередуются с рибозой, а не с дезоксирибозой (рис.). Второе отличие – к боковому обрамлению присоединяется гетероцикл урацил (**У**) вместо тимина (**Т**), остальные гетероциклы **А**, **Г** и **Ц** те же, что у ДНК. Урацил отличается от тимина отсутствием метильной группы, присоединенной к циклу, на рисунке эта метильная группа выделена красным цветом.



Тимин



Урацил

Одна из основных функций нуклеиновых кислот состоит в детерминации синтеза белков. Информация о структуре белков, закодированная в нуклеотидной последовательности ДНК, должна передаваться от одного поколения к другому, и поэтому необходимо ее безошибочное копирование, т. е. синтез точно такой же молекулы ДНК (репликация).

При изучении химического состава и строения нуклеиновых кислот перед исследователем всегда стоит задача выделения их из биологических объектов.

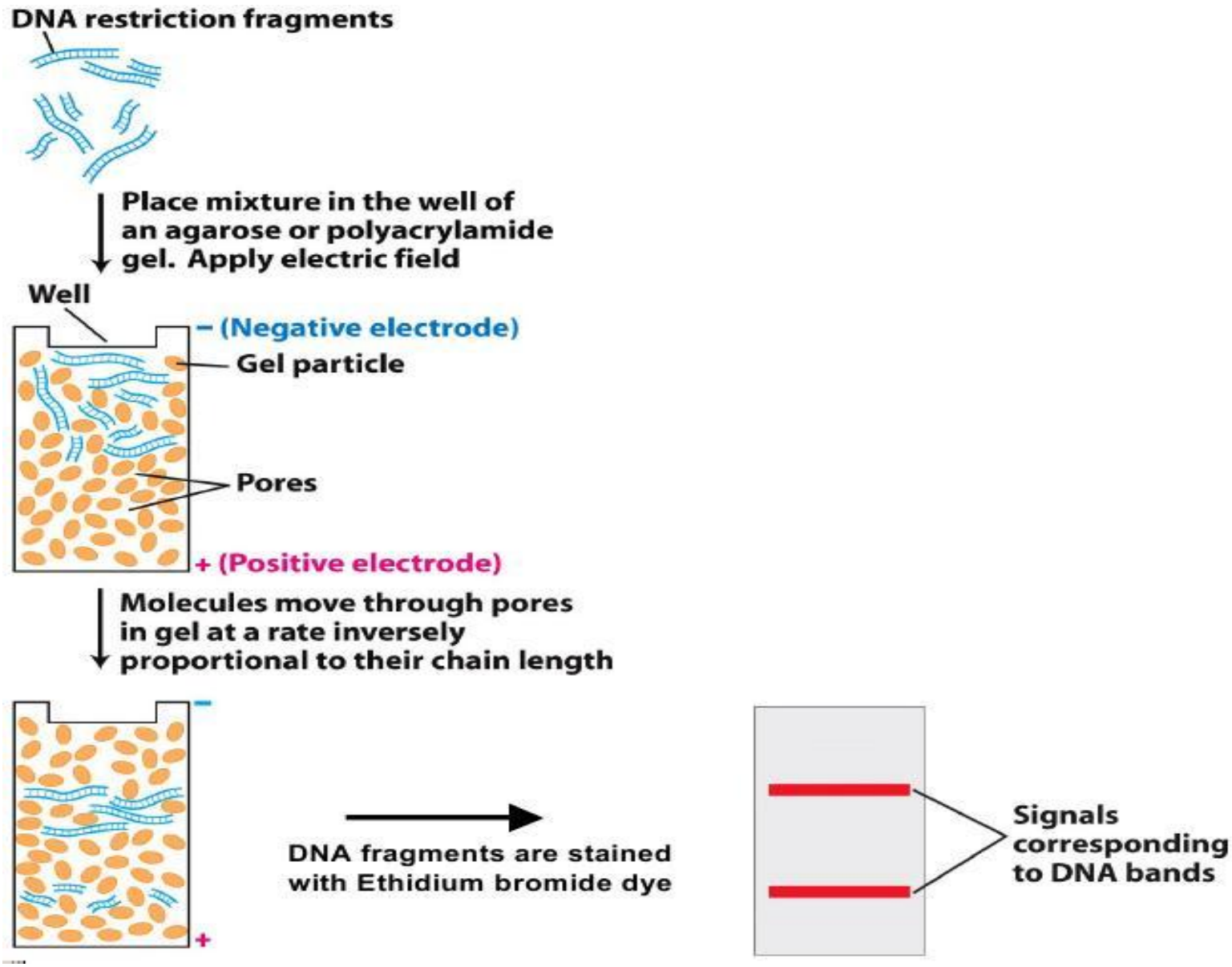
Нуклеиновые кислоты являются составной частью сложных белков – нуклеопротеинов, содержащихся во всех клетках животных, бактерий, вирусов, растений.

Нуклеиновые кислоты обладают сильно выраженными кислыми свойствами (обусловлены остатками ортофосфорной кислоты в их составе) и при физиологических значениях pH несут отрицательный заряд. Этим объясняется одно из важных свойств нуклеиновых кислот – способность к взаимодействию по типу ионной связи с основными белками(гистонами), ионами металлов (преимущественно с Mg^{2+}), а также с полиаминами (спермин, спермидин) и путресцином.

Поэтому для выделения нуклеиновых кислот из комплексов с белками необходимо прежде всего разрушить эти сильные и многочисленные электростатические связи между положительно заряженными молекула и белков и отрицательно заряженными молекулами нуклеиновых кислот.

Для этого измельченный путем гомогенизации биоматериал обрабатывают крепкими солевыми растворами (10% раствор хлорида натрия) с оследующим осаждением нуклеиновых кислот этанолом.

В настоящее время для выделения нуклеиновых кислот в нативном состоянии пользуются более «мягким» фенольным методом, основанным на обработке нейтрального забуференного раствора нуклеопротеинов фенолом. Обычно эту процедуру проводят в присутствии веществ, вызывающих денатурацию белкового компонента, например до-децилсульфата (ДСН) или салицилата натрия, затем смесь подвергают центрифугированию. При этом денатурированный белок попадает в фенольную фазу, а нуклеиновые кислоты остаются в водной среде, из которой их осаждают на холоде добавлением 2–3 объемов этанола.

Этим методом удается получить достаточно очищенные препараты нуклеиновых кислот.

Визуализация НК