

核 酸

● 分子構造：

核苷酸 核酸 雙螺旋 三級構造 Palindrome
質體 RNA 基因表現

● 功能性質：

參加重要生理功能 Central Dogma 變性與復性
鹼基組成的影響 雜合反應 Intron 與 exon

● 研究技術： N4

核酸之純化 限制酶 核酸轉印法 基因操作
基因庫建構 PCR DNA 定序 定點突變 RFLP

PCR 基因放大連鎖反應



Mullis (1993)

染色体

PCR 可以把 指定的基因片段 數量放大

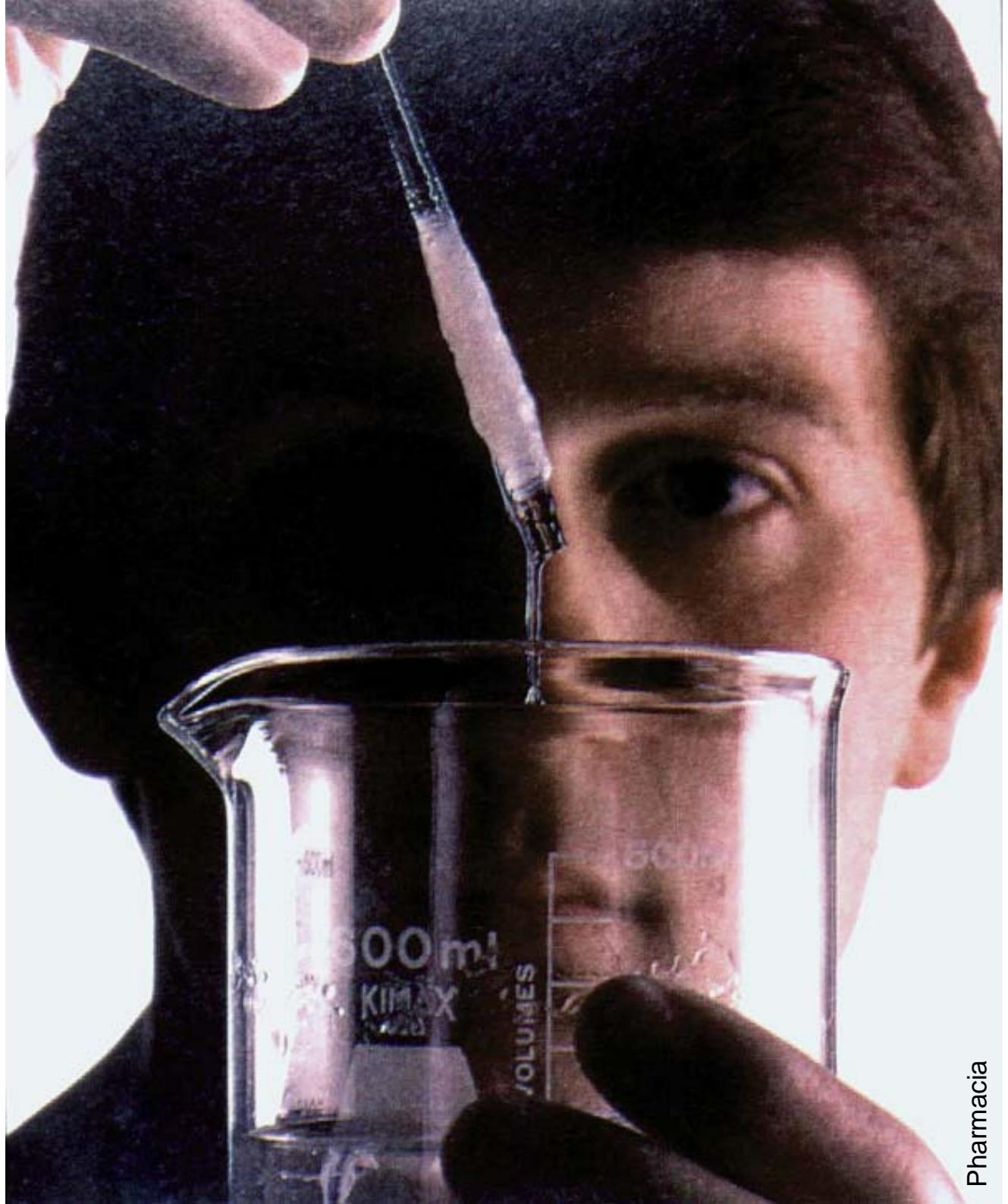
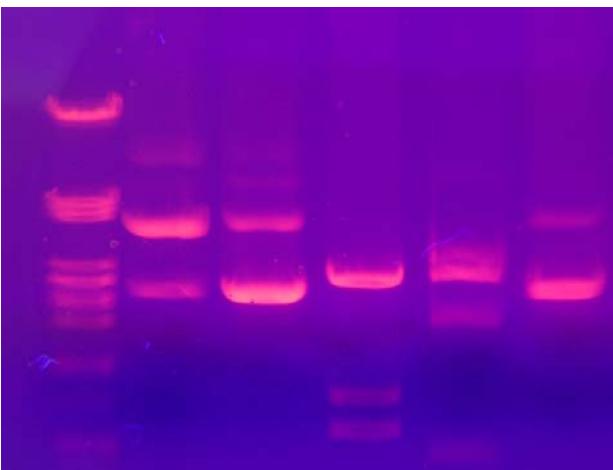


生物親緣鑑定

抽取核酸先用乙醇沉澱

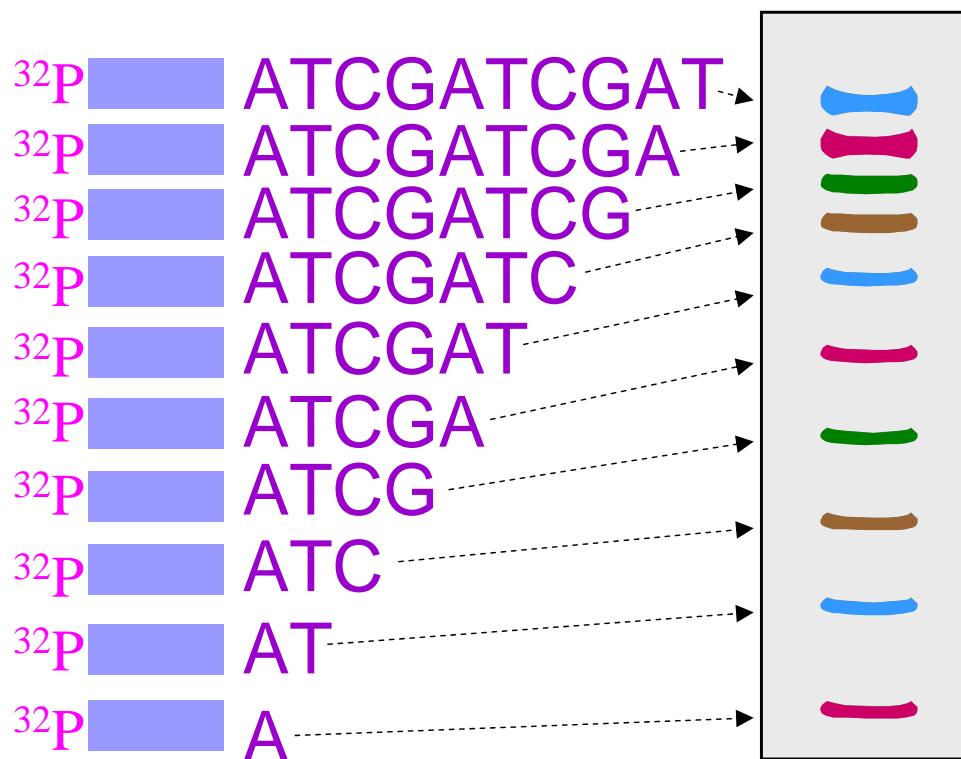
- (1) 打破細胞
- (2) 加入乙醇
- (3) 以玻棒撈取 DNA
- (4) 乾燥後溶出 DNA
- (5) 以限制酶切開 DNA
- (6) 以電泳檢視

Wikipedia

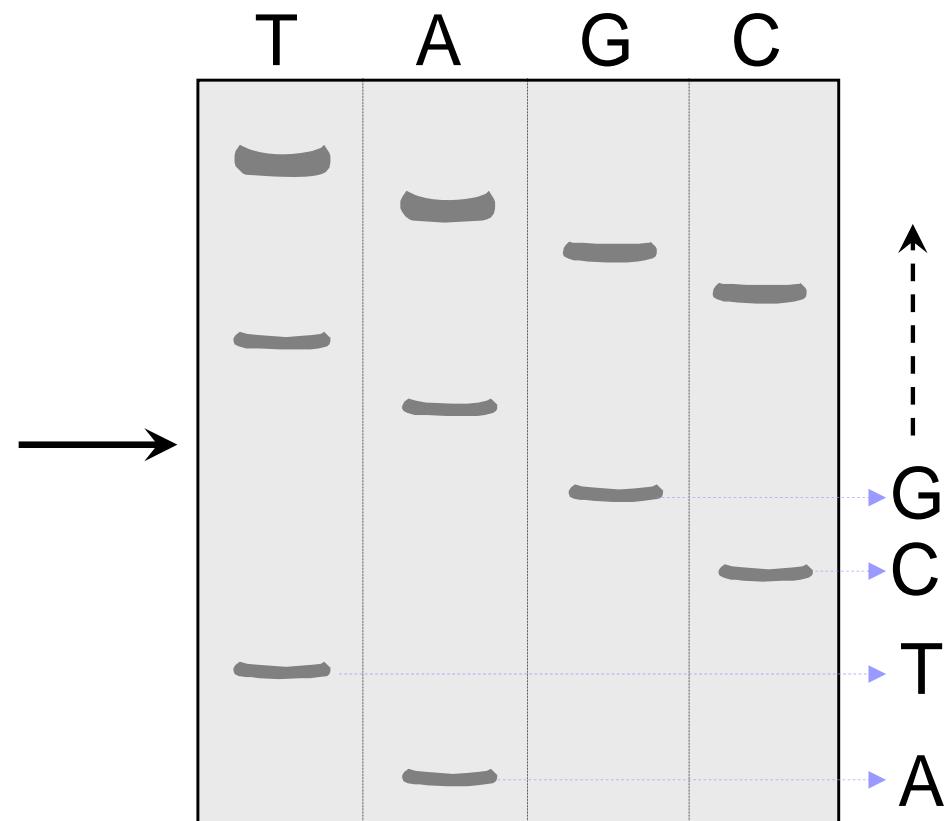


核酸定序原理

膠體電泳可以分開各種不同長度的核酸，在電泳膠片依序排開：



Polyacrylamide Gel Electrophoresis



但這樣的圖譜不能判別出各核酸端點的核苷酸種類

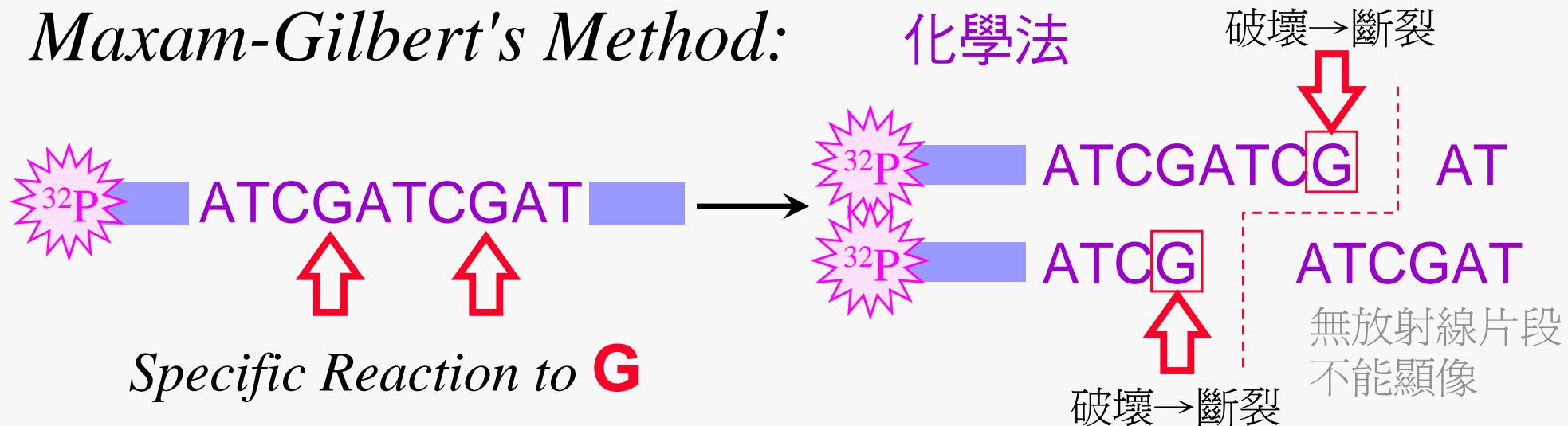


若能把尾端核苷酸相同的片段提出，跑在同一行，則比較這樣的四行，即可讀出序列。

做出不同長短核酸的方法

Maxam-Gilbert's Method:

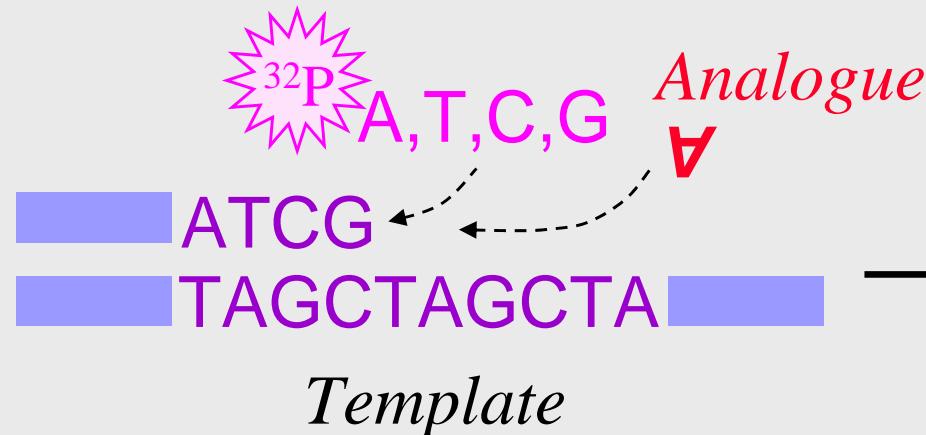
化學法



Specific Reaction to G

Sanger's Method:

生合成法



Template

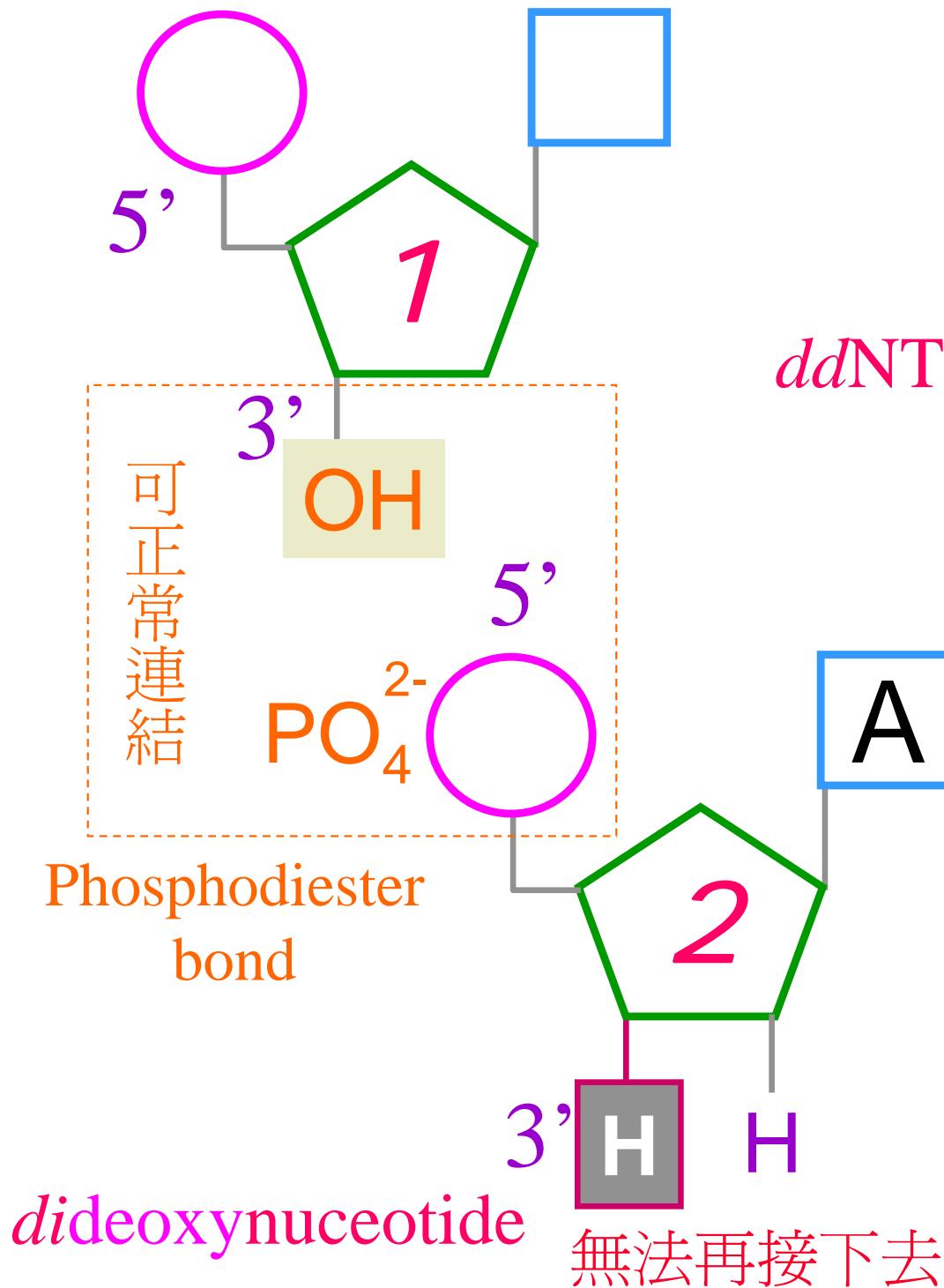


or

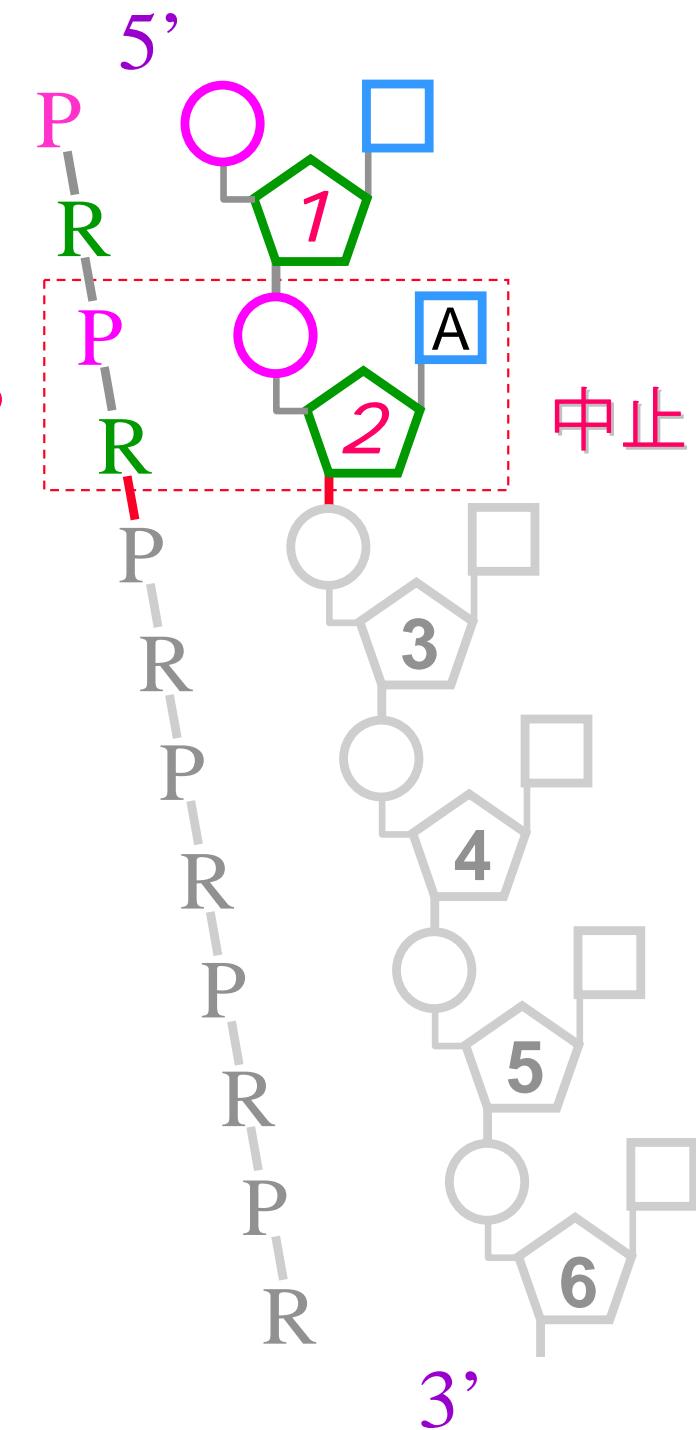
產生各種片段

中止合成

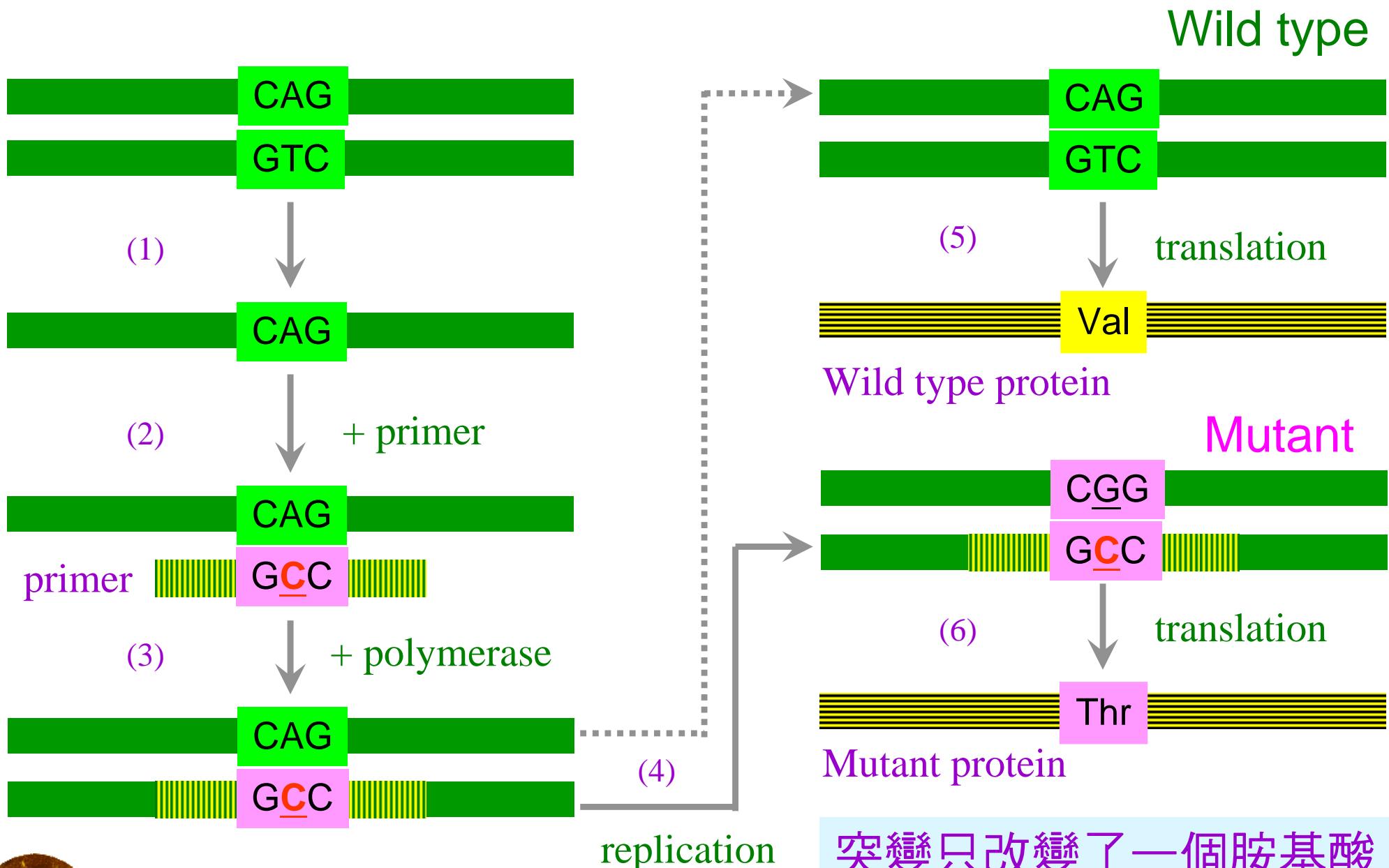
生合成核酸定序法的反應



ddNTP



Site-directed mutagenesis 定點突變



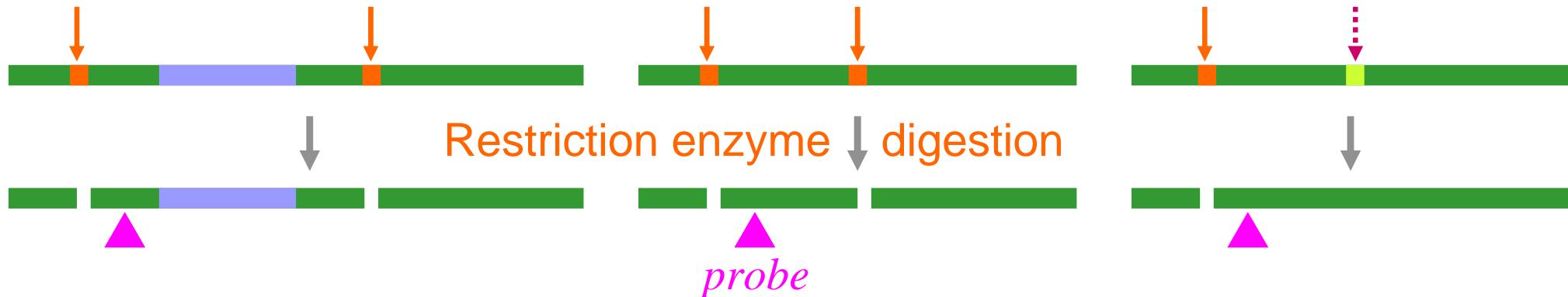
Smith (1993)

突變只改變了一個胺基酸

Val → Thr

RFLP 限制酶圖譜多形性

Gene insertion/duplication ← Original gene → Single base mutation



Electrophoresis

