

Obsah

Kapitola 1: Studium vazby různých isoform proteinu p73 na DNA	9
I. Příprava rekombinantních proteinů p73 pomocí eukaryotického bezbuněčného expresního systému (in vitro transkripce/translace, IVTT)	9
II. Separace rekombinantních proteinů p73 připravených pomocí IVTT na SDS-PAGE a jejich následná detekce pomocí Western blotu	12
III. Studium vazby dvou isoform proteinu p73 na nadšroubovicovou a lineární DNA pomocí imunoprecipitace na magnetických kuličkách	22
Kapitola 2: Elektrochemická detekce poškození DNA a monitorování látek poškozujících DNA	25
I. Detekce poškození DNA na rtuťových elektrodách – HMDE modifikovaná scDNA jako senzor pro stanovení látek poškozujících DNA	25
II. Detekce poškození DNA na uhlíkových elektrodách	26
III. Kontrola štěpení DNA na agarózovém gelu	27
Kapitola 3: Využití elektroaktivních značek pro identifikaci nukleotidových sekvencí	29
I. Analýza nukleotidových sekvencí pomocí DNA značené terminální transferázou	29
II. Analýza nukleotidové sekvence metodou primer extension	32
Kapitola 4: Využití spektroskopie cirkulárního dichroismu při sledování konformačních přechodů DNA	34
I. Kooperativní přechod	34
II. Nekooperativní přechod	35
III. Termální denaturace kvadruplexů DNA	37
Kapitola 5: Analýza proteinů a komplexů proteinů s DNA	38
I. Elektroforéza proteinů v přítomnosti SDS – SDS PAGE	38
II. Stanovení koncentrace proteinů podle Bradfordové	41
III. Přímé stanovení koncentrace proteinů při 280nm	43
IV. EMSA - Gelová retardační analýza	44