

Seminar 23.

Strukture nukleinskih kiselina

Rješenja zadatke 22.

1.	A	11.	B+C
2.	D	12.	B
3.	B	13.	A
4.	C	14.	B
5.	C	15.	D
6.	C	16.	F
7.	B	17.	D
8.	D	18.	A
9.	A	19.	A
10.	B	20.	C

Zadatak 1.

- E. Chargaff je prvi dokazao da je u dvostrukoj DNA zavojnici $[A]=[T]$ a $[G]=[C]$, te se to naziva Chargaffovim pravilom. Koristeće ovo pravilo odredite:
- Postotak svih baza u dvostrukoj DNA zavojnici koja ima 20% timina.
 - U jednolančanoj RNA nalazi se 20% U. Što možete zaključiti o koncentracijama ostalih baza?

Rješenje zadatka 1.

- Kako je $T=20\%$, to je $A=20\%$, to u DNA ima 40% parova baza (pb) A-T, i 60% G-C pb, odnosno $G = 30\%$, a $C = 30\%$.
- Za jednolančanu RNA iz navedenog podatka ne može se ništa zaključiti jer Chargaffovo pravilo ne vrijedi za jednostruke niti niti DNA niti RNA.

Zadatak 2.

Zbog čega su samo G-C i A-T parovi baza mogući u dvostrukoj DNA zavojnici?

Rješenje zadatka 2.

Parovi A-T i G-C su otprilike jednakih dimenzija. Par od dva purinska nukleotida bi bio prevelik, a par od dva pirimidinska nukleotida bi bio premalen.

Zadatak 3.

Napišite komplementarni slijed, u uobičajenom 5'→3' smjeru za sljedeće sekvence:

- a) GATCAA
- b) TCGAAC
- c) ACGCGT
- d) TACCAT

Rješenje zadatka 3.

- a) 5'-TTGATC-3'
- b) 5'-GTTCGA-3'
- c) 5'-ACGCGT-3'
- d) 5'-ATGGTA-3'

Zadatak 4.

Izraženo u frakciji molova, sastav jedne niti (lanca) dvostruke DNA zavojnice je $[A]=0,30$, a $[G]=0,24$.

- a) Kolika je koncentracija $[T]$ i $[C]$ na istoj DNA niti?
- b) Kolike su koncentracije $[A]$, $[G]$, $[C]$ i $[T]$ na suprotnoj niti?

Rješenje zadatka 4.

- a) $[T] + [C] = 1 - (0,3 + 0,24) = 0,46$
- b) $[T] = 0,30$, $[C] = 0,24$, a $[A] + [G] = 0,46$

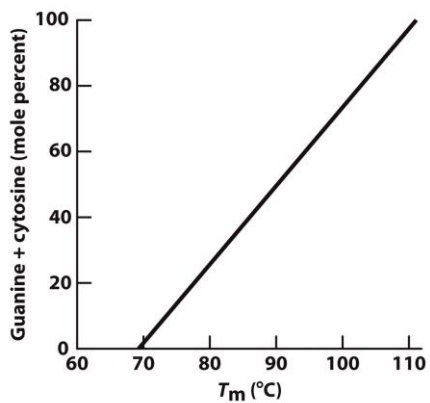
Zadatak 5.

Zbog čega toplina denaturira odnosno mekša (tali) DNA u otopini?

Rješenje zadatka 5.

Termička energija uzrokuje da se niti dvostruke zavojnice počnu jače kretati a time se kidaju vodikove veze između komplementarnih parova baza kao i van der Waalsove sile koje djeluju između naslaganih baza. Kako dolazi do kidanja i slabljenja veza niti se odvajaju te dolazi do mekšanja (taljenja) DNA.

Zadatak 6.



Na grafu je prikazan odnos između postotka G-C parova baza i temperature mekšanja. Objasnite ovaj odnos!

Rješenje zadatka 6.

G-C parove baza povezuju tri vodikove veze, a A-T parove baza povezuju dvije vodikove veze. Zbog toga će veća količina G-C parova baza imati više vodikovih veza a time i čvršću dvostruku zavojnicu.

Zadatak 7.

Humani genom sadrži 3 milijarde nukleotida koji su poredani u različitim slijedovima. Koja je minimalna sekvenca (slijed nukleotida) koja će se samo jednom ponoviti u humanom genomu?(Naputak: razmatrajte slijed samo na jednoj niti (lancu) i pretpostavite da je vjerojatnost da se bilo koji nukleotid pojavi u slijedu podjednak)

Rješenje zadatka 7.

Vjerojatnost da se bilo koja sekvenca pojavi je 4^n , pri čemu je 4=broj nukleotida, a n =broj nukleotida u slijedu.

Vjerojatnost da će se određeni slijed od 15 nukleotida pojaviti u sekvenci je $1/4^{15} = 1/1\,073\,741\,824 \times 3 \times 10^9 \sim 3$, a vjerojatnost da se određeni slijed od 16 nukleotida pojavi je $1/4^{16} \times 3 \times 10^9 = 0,7$, a to znači da će se određeni slijed od 16 nukleotida u humanom genomu vjerojatno pojaviti samo jedanput.

Zadatak 8.

Dvostruka DNA zavojnica u otopini se povezuje s kationima kao što je to npr. Mg^{2+} . Zašto je to potrebno?

Rješenje zadatka 8.

Kako su fosforilne skupine negativno nabijene one se moraju neutralizirati kationima.

Zadatak 9.

Pri pH 7,0 histoni imaju nabijene bočne skupine aminokiselina:

H2A = 13 Lys, 13 Arg, 2 Asp, 7 Glu

H2B = 20 Lys, 8 Arg, 3 Asp, 7 Glu

H3 = 13 Lys, 18 Arg, 4 Asp, 7 Glu

H4 = 11 Lys, 14 Arg, 3 Asp, 4 Glu

Odredite naboj u histonskom oktameru. Ako se ovaj oktamer obavije sa 150 parova baza, koliki će biti ukupni naboj ovog kompleksa?

Rješenje zadatka 9.

Ukupni naboj u oktameru histona:

Naboj u H2A = $13+13-2-7=17$

Naboj u H2B = $20+8-3-7= 18$

Naboj u H3 = $13+18-4-7 = 20$

Naboj u H4 = $11+14-3-4=18$

Naboj u oktameru je: $2x(17+18+20+18) = +146$

Naboj u 150 parova baza je $2 \times (-150) = -300$

Ukupan naboj u kompleksu: $-300 + 146 = -154$

Zadatak 10.

Aminokiseline proteina su određene slijedom od tri baze. Izračunajte dužinu segmenta B-DNA koja kodira 60 kD protein. Koliko zavoja bi imala ova DNA sekvenca?

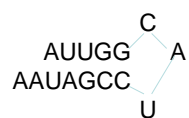
Rješenje zadatka 10.

Prosječna masa aminokiseline u proteinu je 110D, a to znači da 60 kD protein ima: $60\ 000\ \text{D} / 110\ \text{D/aminokiselini} = 545$ aminokiselina. Za 545 aminokiselina potreban je slijed od $545 \times 3 = 1635$ nukleotida. Kako je udaljenost između baza $3,4\ \text{Å}$, ovaj segment B-DNA bi bio dug:
 $1635 \times 3,4 = 5595\ \text{Å}$
Zavoji se pojavljuju svakih 10 parova baza, odnosno svakih $34\ \text{Å}$ te ovaj segment ima: $5595/34 = 163,5$ zavoja.

Zadatak 11.

Za RNA slijed AUUGGCAUCCGAUAA nacrtajte sekundarnu strukturu koja bi imala maksimalni broj parova baza.

Rješenje zadatka 11.



Zadatak 12.

Kako na krivulju mekšanja (taljenja) DNA utječe dodatak:

- a) Male količine nepolarnog otapala npr. etanola?
- b) Smanjenje ionske jakosti otopine?
- c) Zašto se DNA lakše denaturira pri pH 11?

Rješenje zadatka 12.

- a) Nepolarano otapalo utječe na hidrofobne sile koje povezuju nepolarne baze, pa prema tome nepolarano otapalo destabilizira dvostruku zavojnicu. Dodatkom etanola došli bi do smanjenja točke mekšanja (T_m) DNA.
- b) Smanjenjem ionske jakosti došlo bi do povećanja odbijanja između negativno nabijenih fosfatnih skupina te bi i to utjecalo na smanjenje (snižavanje) T_m .
- c) Pri visokom pH dolazi do kidanja vodikovih veza pa se niti DNA odvajaju.