

Sadržaj

1. Struktura i funkcija molekule DNA	1
2. Tvari koje se upotrebljavaju u protokolima za izolaciju DNA iz tkiva	7
2.1. Deterdženti	7
2.2. Uklanjanje proteina, lipida i ugljikohidrata	8
2.3. Kako očuvati DNA tijekom izolacije	10
2.4. Taloženje DNA	11
2.5. Problem mehaničke degradacije DNA	13
3. Određivanje koncentracije i čistoće DNA s pomoću spektrofotometra	14
3.1. Procjena koncentracije DNA	14
3.2. Procjena čistoće uzoraka DNA	15
4. Postupci s tkivima iz kojih izoliramo DNA, pohranjivanje i prenošenje	19
5. Metoda izolacije DNA iz tumorskoga tkiva fenolom i kloroformom	21
5.1. Najčešći problem metode izolacije DNA fenolom i kloroformom i njegovo rješenje	25
6. Metoda izolacije DNA iz tumorskoga tkiva isoljavanjem	26
6.1. Najčešći problem metode isoljavanja proteina i njegovo rješenje	28
7. Usporedba metoda izolacije DNA fenolom i kloroformom i izolacije DNA isoljavanjem	30
7.1. Usporedba dvaju protokola	30
7.2. Usporedba rezultata spektrofotometrijskoga mjerenja	31
8. Izolacija DNA iz pune krvi metodom isoljavanja	36
9. Metode izolacije DNA s pomoću komercijalnih kitova	42
10. Metode izolacije DNA iz tkiva fiksiranog formalinom i uklopljenog u parafin	44
11. Izolacija RNA iz tkiva i stanica: fenol-gvanidin tiocijanat-kloroform kisela ekstrakcija	46
12. Lančana reakcija polimerazom (PCR)	48
12.1. Primjer optimizacije PCR metode za egzon 15 gena APC čovjeka	52
12.2. Primjer optimizacija PCR metode za mikrosatelitni biljeg za gen CDH1 čovjeka	53

13. Elektroforeza DNA u agaroznom gelu	55
14. Elektroforeza DNA u gelu poliakrilamida	60
15. Imunohistokemijska metoda otkrivanja proteina	64
15.1. Proizvodnja monoklonskih protutijela	64
15.2. Metoda peroksidaza – antiperoxidaza.....	67
16. Otkrivanje proteina metodom <i>Western blot</i>.....	70
17. Uporabljene kemikalije, njihova priprema i tehnička pomagala.....	72
17.1. Puferi, otopine i kemikalije koje se rabe u izolaciji DNA i RNA	72
17.2. Kemikalije uporabljene u lančanoj reakciji polimeraze	74
17.3. Kemikalije uporabljene u elektroforezi na agaroznom gelu	74
17.4. Kemikalije uporabljene u PAGE	75
17.5. Kemikalije uporabljene za imunohistokemiju	75
17. 6. Kemikalije uporabljene za <i>Western blot</i>	76
17.7. Ostale kemikalije.....	76
17.8. Tehnička pomagala i pribor.....	77
Popis kratica i mjernih jedinica	79
Literatura	81
Kazalo pojmova	87