

Moleküler biyolojik çalışmalarda ilk adım: Nükleik asitlerin ekstraksiyonudur. Nükleik asitler genetik bilginin saklanması, çoğaltılması (replikasyon), rekombinasyonu (genetik çeşitliliği), transmisyonu (aktarılması) işlevlerinin yerine gelmesini sağlar

Nükleik asitler iki gruba ayrılır: DNA (Deoksiribonükleik asit) RNA (Ribonükleik asit)

Her nükleotid üç alt birimden oluşur Nitrojen içeren heterosiklik ve aromatic bir halka olan bazlar (Pürin ve Pirimidin bazları), Beş karbonlu pentoz şekeri, Bir molekül fosforik asit.

Deoksiriboz şekeri DNA yapısında, riboz şekeri ise RNA yapısında yer almaktadır. Her iki şeker arasındaki başlıca fark 2 nolu karbona bağlı hidroksil (-OH) grubundaki oksijenin deoksiriboz şekerinde eksik olmasıdır.

<b>DNA</b>	<b>RNA</b>
Çekirdek, mitokondri ve kloroplastta bulunur.	Çekirdek, çekirdekçik, sitoplazma, ribozom, mitokondri ve kloroplastta bulunur.
Yapısında <b>deoksiriboz</b> şekeri bulunur.	Yapısında <b>riboz</b> şekeri bulunur.
A, G, S, <b>T</b> nükleotidlerinden oluşur.	A, G, S, <b>U</b> nükleotidlerinden oluşur.
Kendine özgü bazı Timindir.	Kendine özgü bazı Urasildir.
Kalıtımı sağlar. Protein sentezinde emir verir.	Protein sentezinde görevi vardır.
Çift sarmallı yapıya sahiptir.	Tek sarmallı yapıya sahiptir.
Hidroliz enzimi <b>DNA</b> azdır.	Hidroliz enzimi <b>RNA</b> azdır.
Kendini eşler.	Kendini eşleyemez. DNA tarafından yapılır.
<b>DNA polimeraz</b> enzimi tarafından sentezlenir.	<b>RNA polimeraz</b> enzimi tarafından sentezlenir.

Bu kapsamda yapılacak çalışmalarda ekstraksiyon bufferların yapılabilmesi için bazı hesaplamaların bilinmesi gereklidir.

**Molarite**, bir litre çözeltide çözülmüş halde bulunan maddenin mol sayısı.

Molarite (M)= mol/lt. Birimi **molardır**. M simgesiyle gösterilir.  $M= n / V$

**Yüzde miktar:** Total hacim içerisindeki miktar % olarak ifade edilmektedir.

%W/V : Suda çözünen katılar için kullanılır. **100 mL %1.5 'lik agaroz hazırlanması**

%V/V : Dilüte edilen solüsyonlar için kullanılır. **100 mL %70'lik etil alkol hazırlanması**

Yüksek konsantrasyonlu bir çözeltiden düşük konsantrasyonlu bir çözelti hazırlanmak istendiğinde

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

M1: Bilinen hacim (molarite). V1: Bilinen miktar (ml). M2: İstenen hacim (molarite). V2: İstenen miktar (ml)

Kantitatif terimlerle ilgili yaygın olarak kullanılan birimler, önek ve semboller

<b>Kat</b>	<b>Önek</b>	<b>Sembol</b>
$10^{18}$	Exa	E
$10^{15}$	Peta	P
$10^{12}$	Tera	T
$10^9$	Giga	G
$10^6$	Mega	M
$10^3$	Kilo	k
$10^2$	Hekto	h
$10^1$	Deka	da
$10^{-1}$	Desi	d
$10^{-2}$	Santi	c
$10^{-3}$	Mili	m
$10^{-6}$	Mikro	$\mu$
$10^{-9}$	Nano	n
$10^{-12}$	Piko	p
$10^{-15}$	Femto	f
$10^{-18}$	Atto	a

Konvansiyonel ve uluslararası sistemdeki (SI) hacim ünitelerinin birbirine dönüşümleri

Konvansiyonel		SI	
1 litre (L)	$10^3$ mL	=1 dm <sup>3</sup>	=10 <sup>-3</sup> m <sup>3</sup>
1 mililitre (mL)	1 mL	=1 cm <sup>3</sup>	=10 <sup>-6</sup> m <sup>3</sup>
1 mikrolitre (µL)	$10^{-3}$ mL	=1 mm <sup>3</sup>	=10 <sup>-9</sup> m <sup>3</sup>
1 nanolitre (nL)	$10^{-6}$ mL	= 1 nm <sup>3</sup>	=10 <sup>-12</sup> m <sup>3</sup>

### DNA İzolasyonu

- Funguslarda DNA ekstraksiyonunda çok farklı yöntemler kullanılmaktadır.
- CTAB veya SDS bufferlar tercih edilmektedir.
- DNA izolasyonun için fungus izolatları PDB (Potato Dextrose Broth, Difco) ortamı içeren erlenmayerlerde 150 rpm ( $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) 7 gün süreyle geliştiril veya PDA ortamında gelişen fungus miselleri spatul ile toplanarak eppendorf tüp içerisine konulur.
- 

### SDS buffer 100 ml

- 200 mM Tris-HCl pH:8.5,
- 25 mM NaCl,
- 25 mM EDTA,
- % 0.5 SDS

Konsantrasyon tayininde elde edilen genomik DNA jelde veya spektrofotometrik olarak tespit edilir.

DNA saflığı belirlemede 260/280 nm sonucuna bakılır.

- Saf bir DNA 260/280=1.8 olmalıdır.
- 260/280>1.8 ise RNA kontaminasyonu
- 260/280< 1.8 ise protein kontaminasyonu