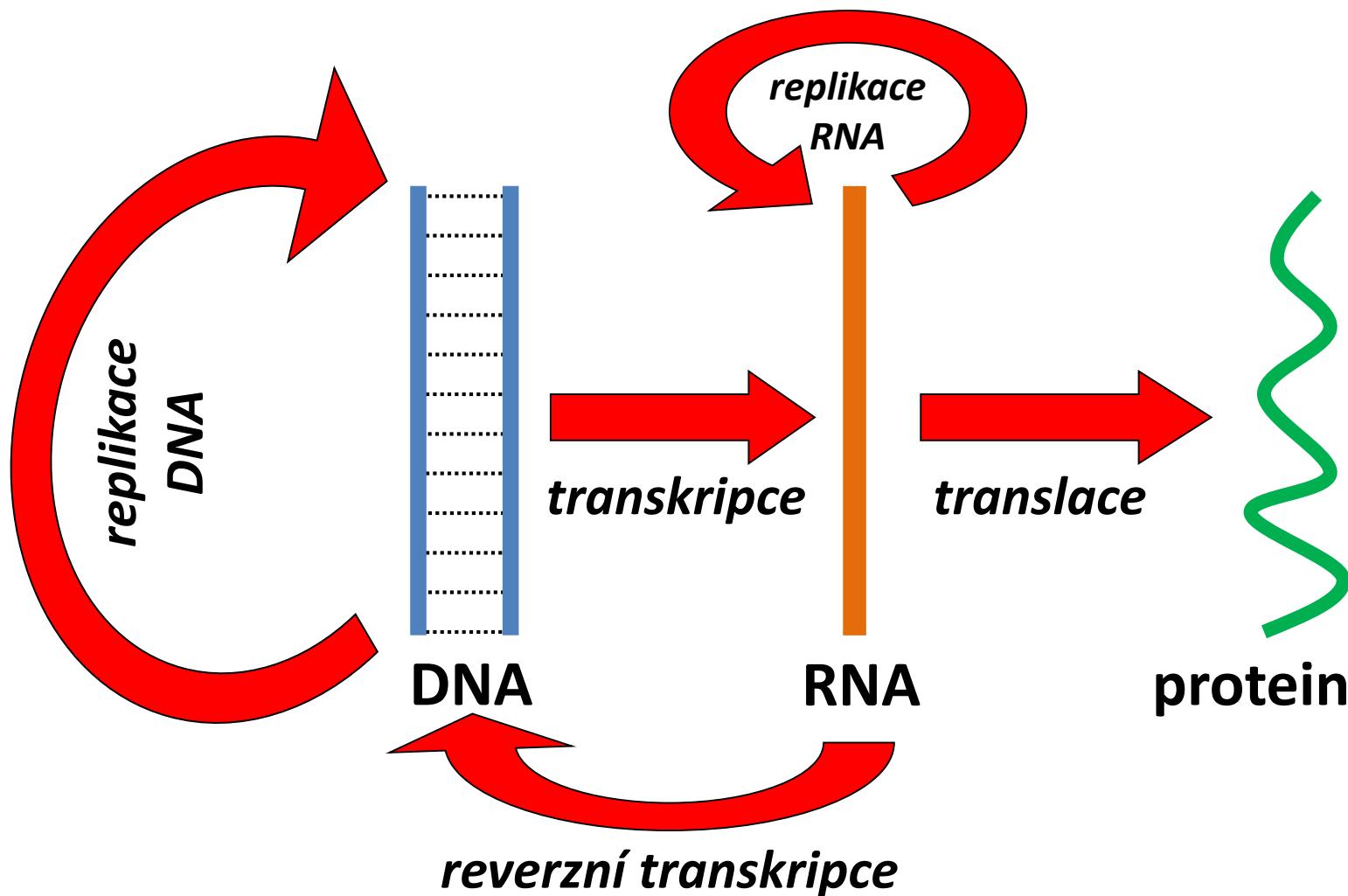


Replikace a exprese genetické informace I.

Eduard Kočárek

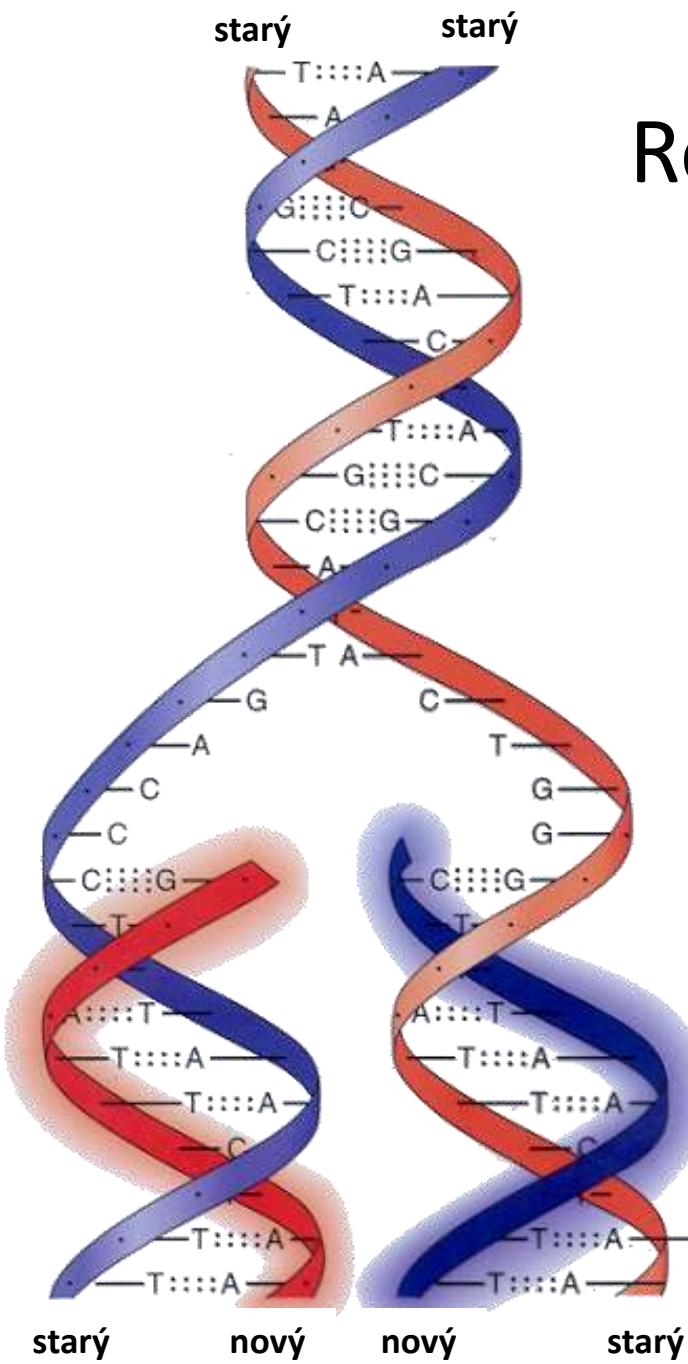
2025/2026

Ústřední (centrální) dogma molekulární biologie
postuluje přenos genetické informace mezi
molekulami nukleových kyselin a proteinů



Replikace DNA

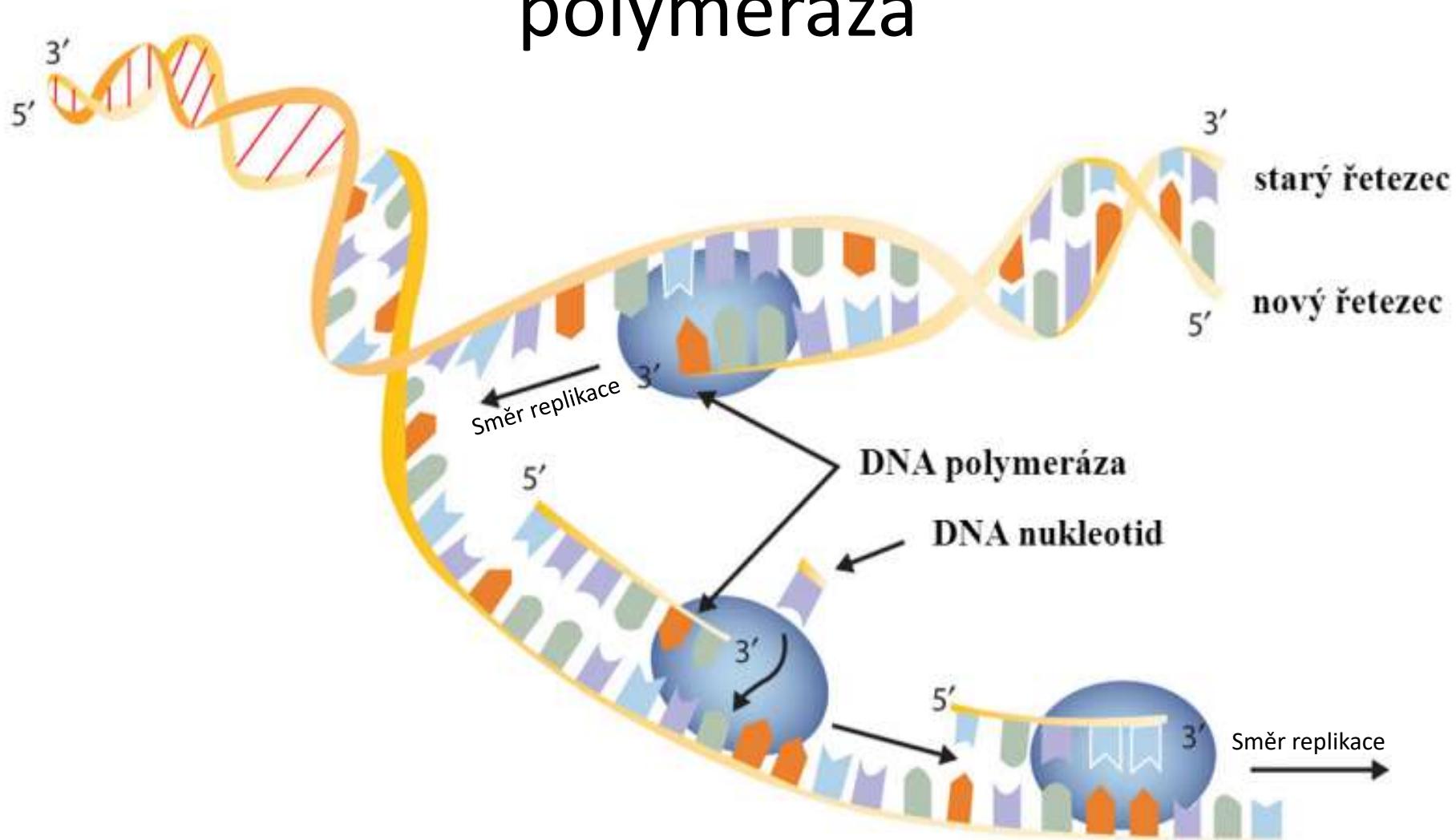




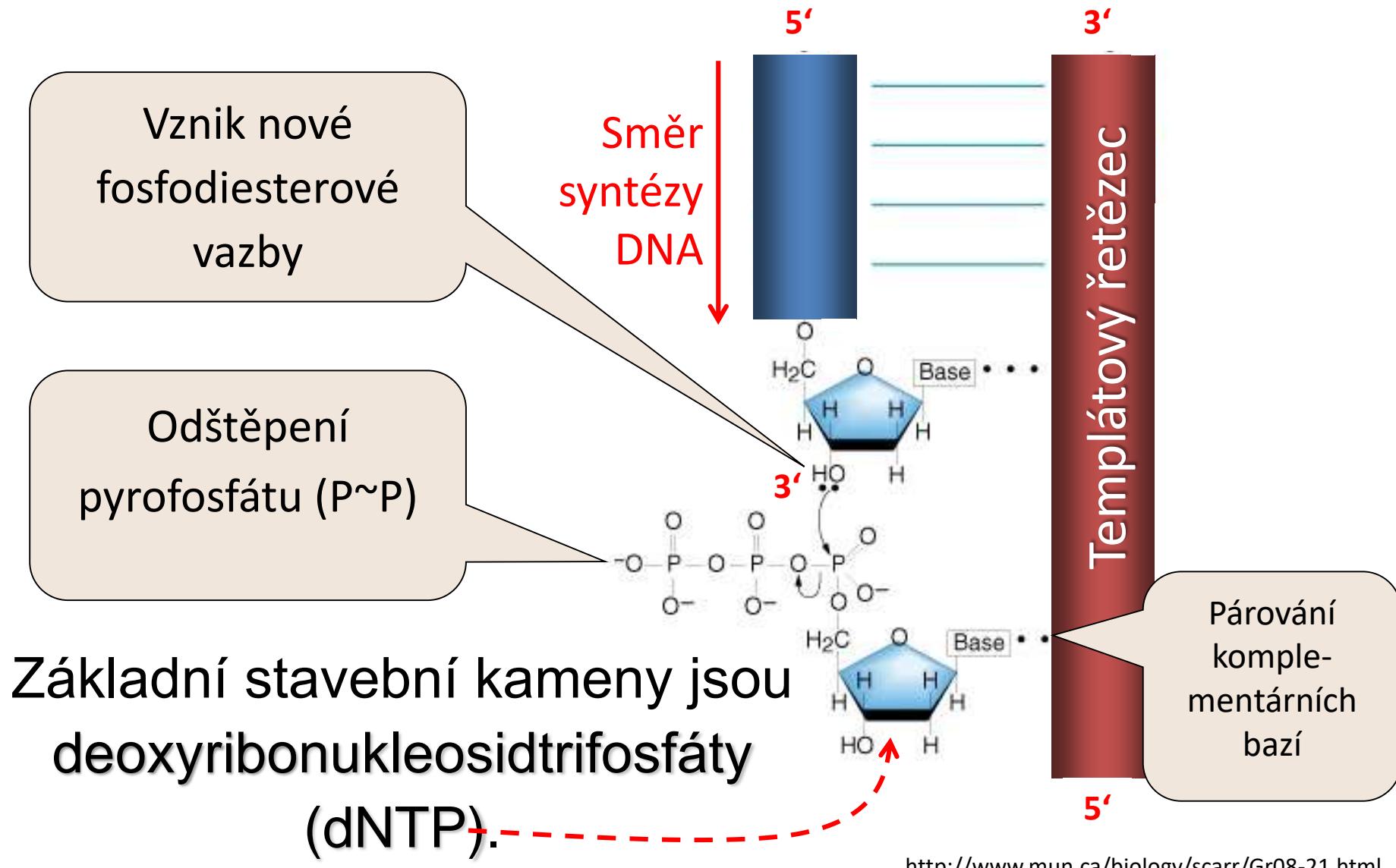
Replikace aneb syntéza DNA

- Semikonzervativní proces (dceřiná dvoušroubovice DNA je tvořena jedním novým a jedním starým řetězcem).
- Staré řetězce slouží jako předloha (templát) pro syntézu nových řetězců.
- Replikace jaderné DNA předchází buněčné dělení.

Replikaci katalyzuje enzym DNA-polymeráza



Biochemie syntézy DNA



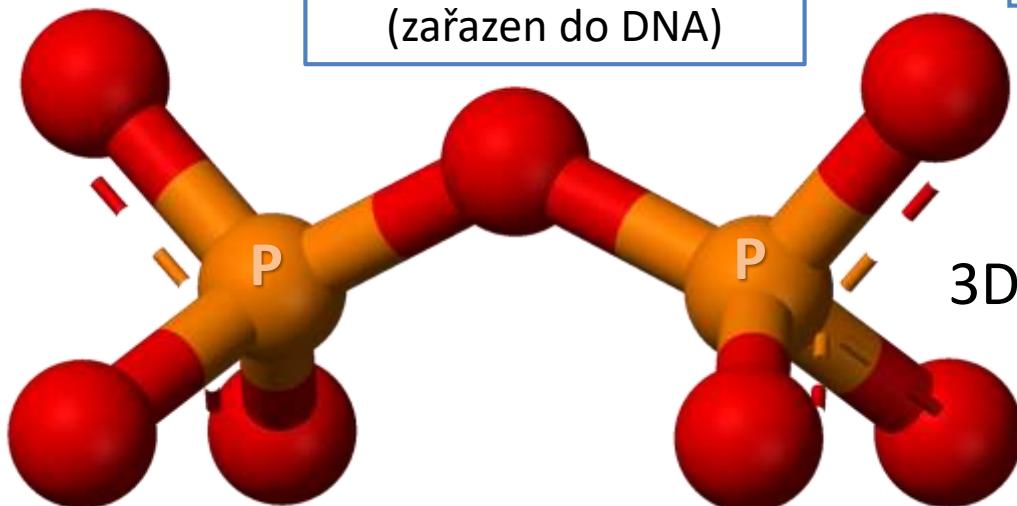
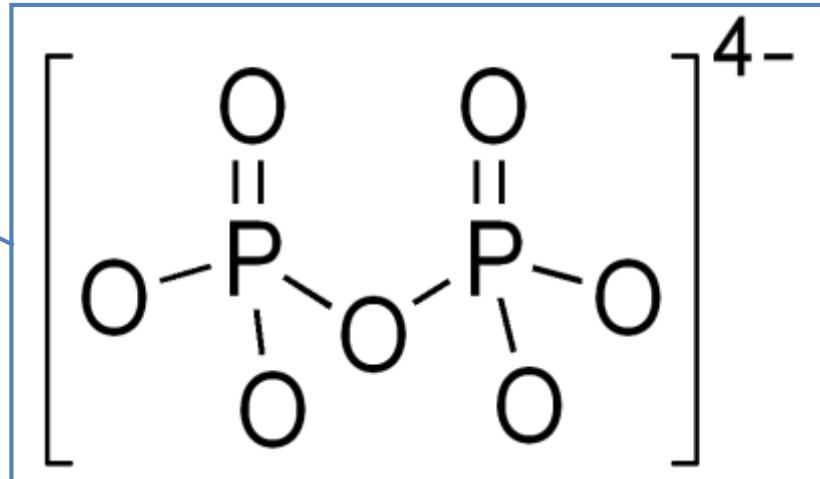
Zařazení nového nukleotidu a odštěpení pyrofosfátu (PP_i)

Základní reakce při syntéze DNA:



Nukleosidtrifosfát

Nukleosidmonofosfát
(zařazen do DNA)



3D model molekuly pyrofosfátu

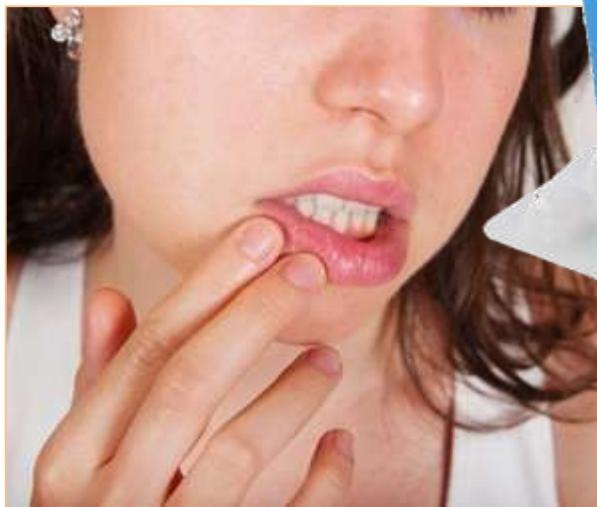
By Benjah-bmm27 - Own work, Public Domain,
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2058383>

By Kemikungen - Own work, Public Domain,
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=8110584>

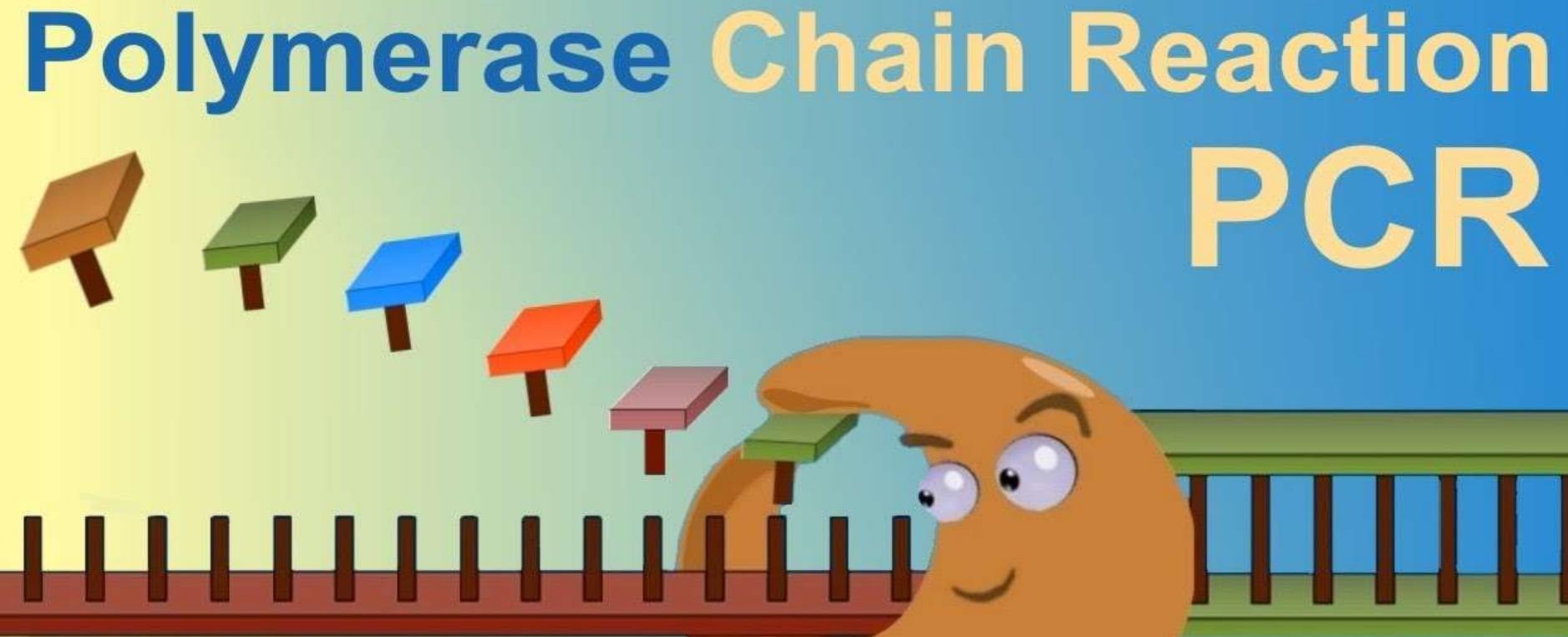
Nukleotidy jako léčiva

- Syntetické deriváty nukleotidů mohou zastavovat replikaci DNA, proto se používají zejména při léčbě:
 - Virových infekcí
 - Nádorových onemocnění (jako cytostatika)

Např. **aciklovir** se používá k léčbě oparů způsobených herpes viry.



PCR neboli replikace DNA *in vitro*
("Klonování DNA *in vitro*")



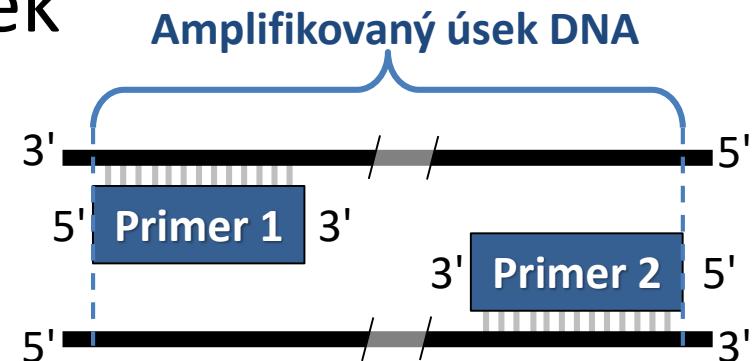
Polymerázová řetězová reakce

Kdy používáme PCR?

- Kdykoli, kdy potřebujeme namnožit určitý úsek DNA, tj.:
 - Máme málo DNA (např. v případě DNA z biologických stop).
 - Tento úsek nás zajímá, protože v něm předpokládáme výskyt poruchy (neboli mutace) zodpovědné za vyšetřovanou chorobu.
 - Potřebujeme odhalit přítomnost nádorových buněk ve vzorku.
 - Hledáme původce infekční choroby (virus, bakterii) – **PCR test na COVID19!**
- Protokol PCR je součástí mnoha dalších moderních molekulárně genetických technik (např. sekvenování).

K PCR potřebujeme:

- Vzorek DNA
- Tepelně odolnou DNA polymerázu = Taq DNA polymerázu (izolována z bakterie *Thermus aquaticus* žijící v horkých pramenech)
- Nukleosidtrifosfáty (dATP, dTTP, dGTP, dCTP)
- Primery (krátké jednořetězcové úseky DNA) – vymezují amplifikovaný úsek
- Přístroj zvaný **termocykler**



Termocykly pro PCR

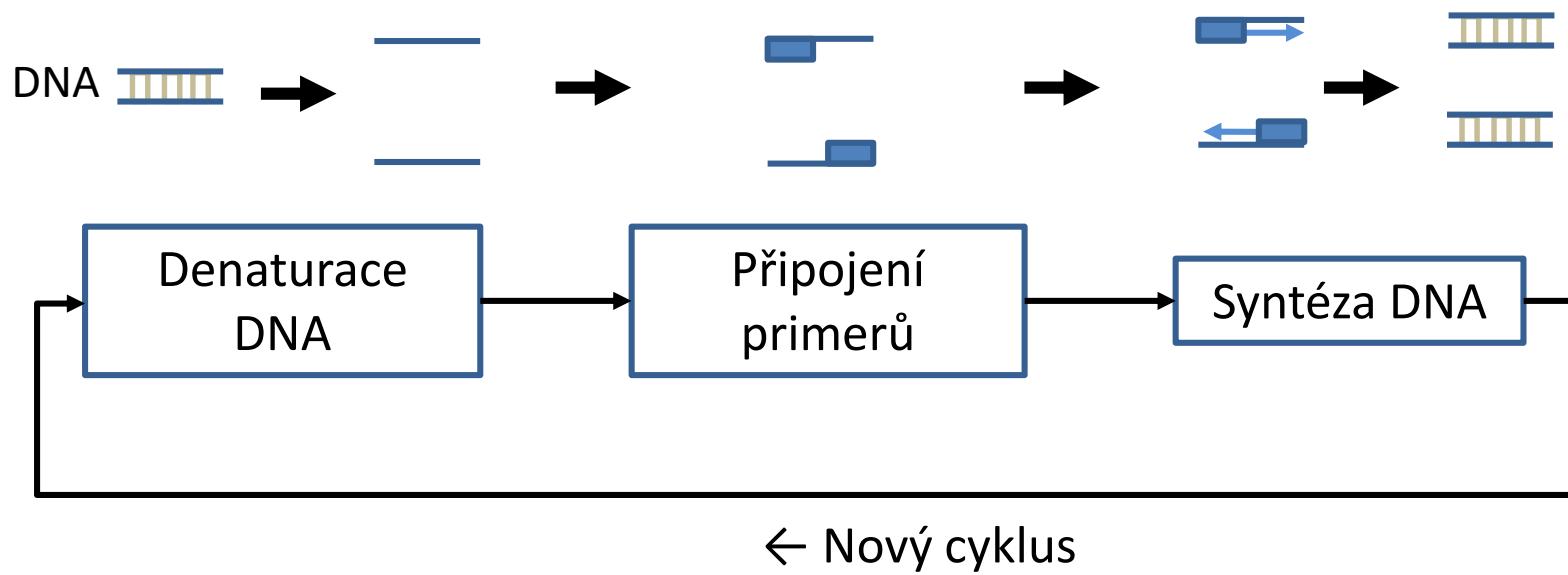


Blok na
eppendorfký

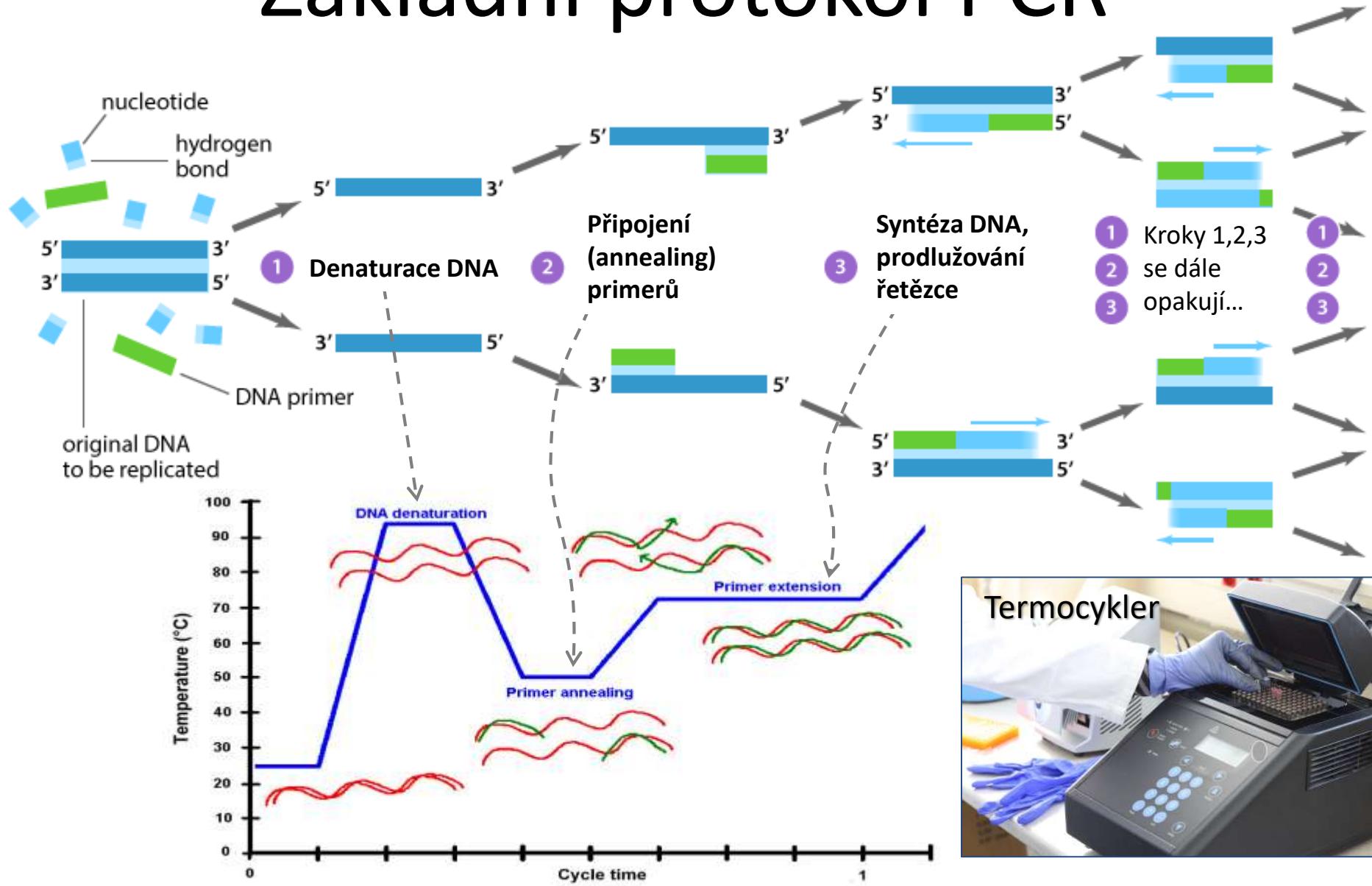
Rychlé změny
teplot
Každý cyklus –
3 různé teploty



Základní cyklus PCR



Základní protokol PCR



Výhody PCR

- Vysoká citlivost
- Rychlosť
- Možnosť automatizácie
- Relativná finančná nenezáročnosť



Modifikace PCR

- Reverzně transkripční PCR (RT-PCR) – slouží k analýze RNA, která se **reverzní transkripcí** přepíše do komplementární DNA (cDNA); cDNA se dále amplifikuje pomocí klasické PCR (možnost vyšetření **RNA-virů!**)
- Kvantitativní fluorescenční PCR (sleduje množství produktů PCR na základě fluorescenčního značení)
- Real time PCR – sleduje kinetiku PCR (nárůst množství produktů PCR v závislosti na čase)
- ... a mnoho dalších

Na shledanou!



Podzimní nebe nad Sušicí