

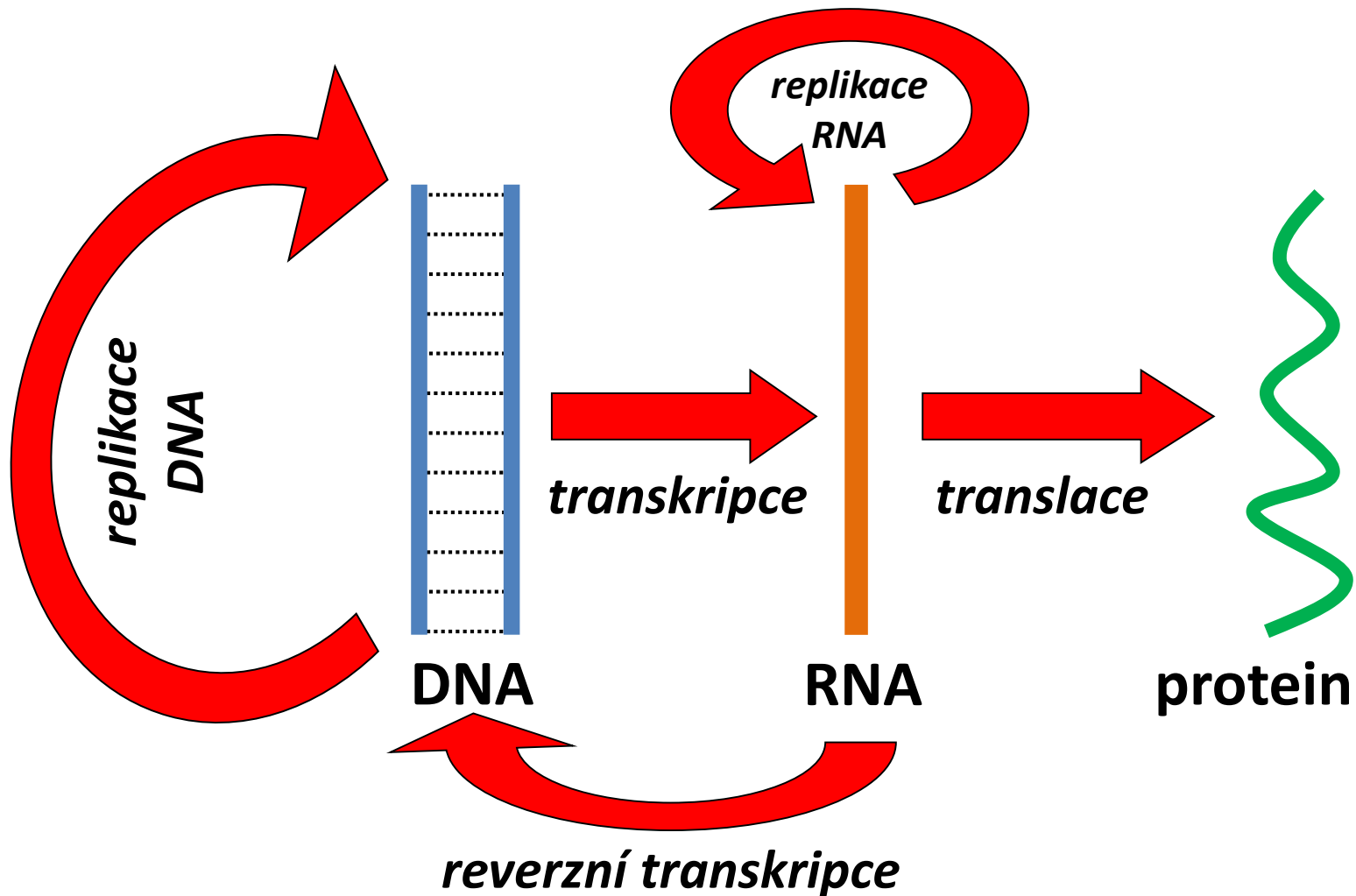


# Replikace a exprese genetické informace I.

Eduard Kočárek

2025/2026

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

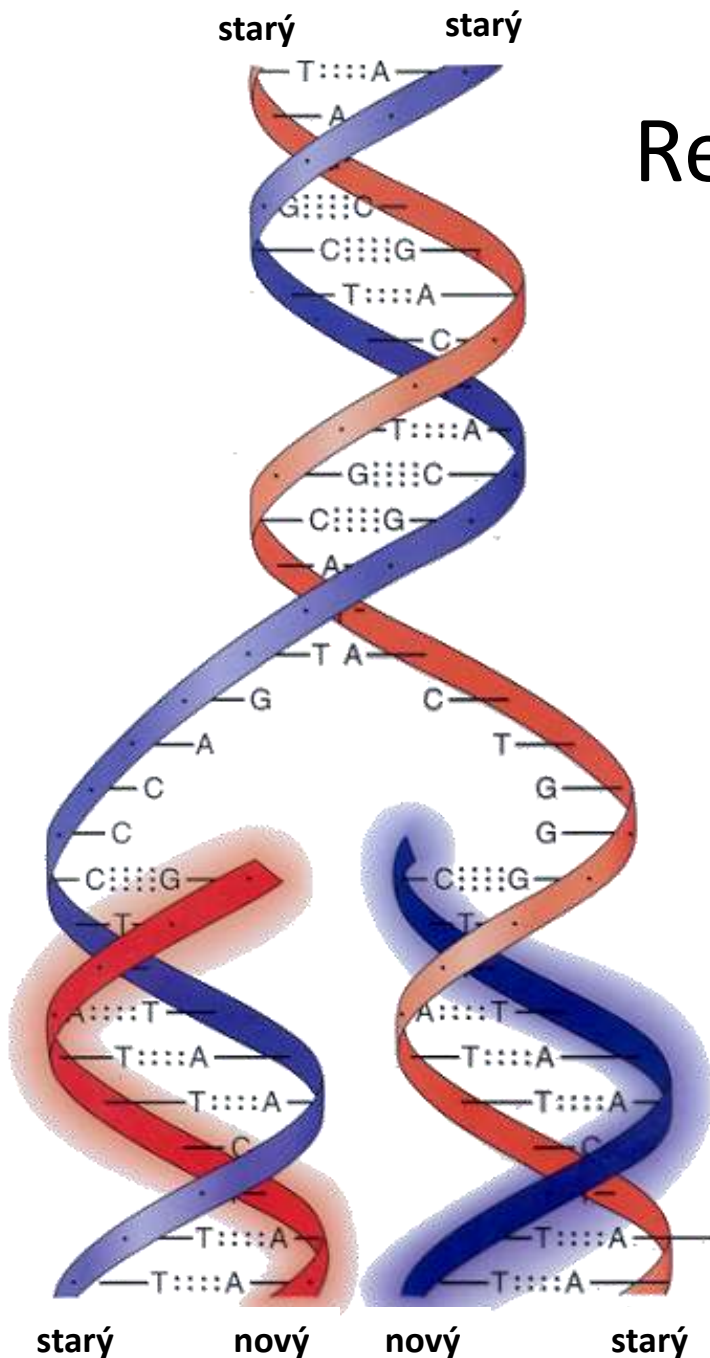


# Replikace DNA

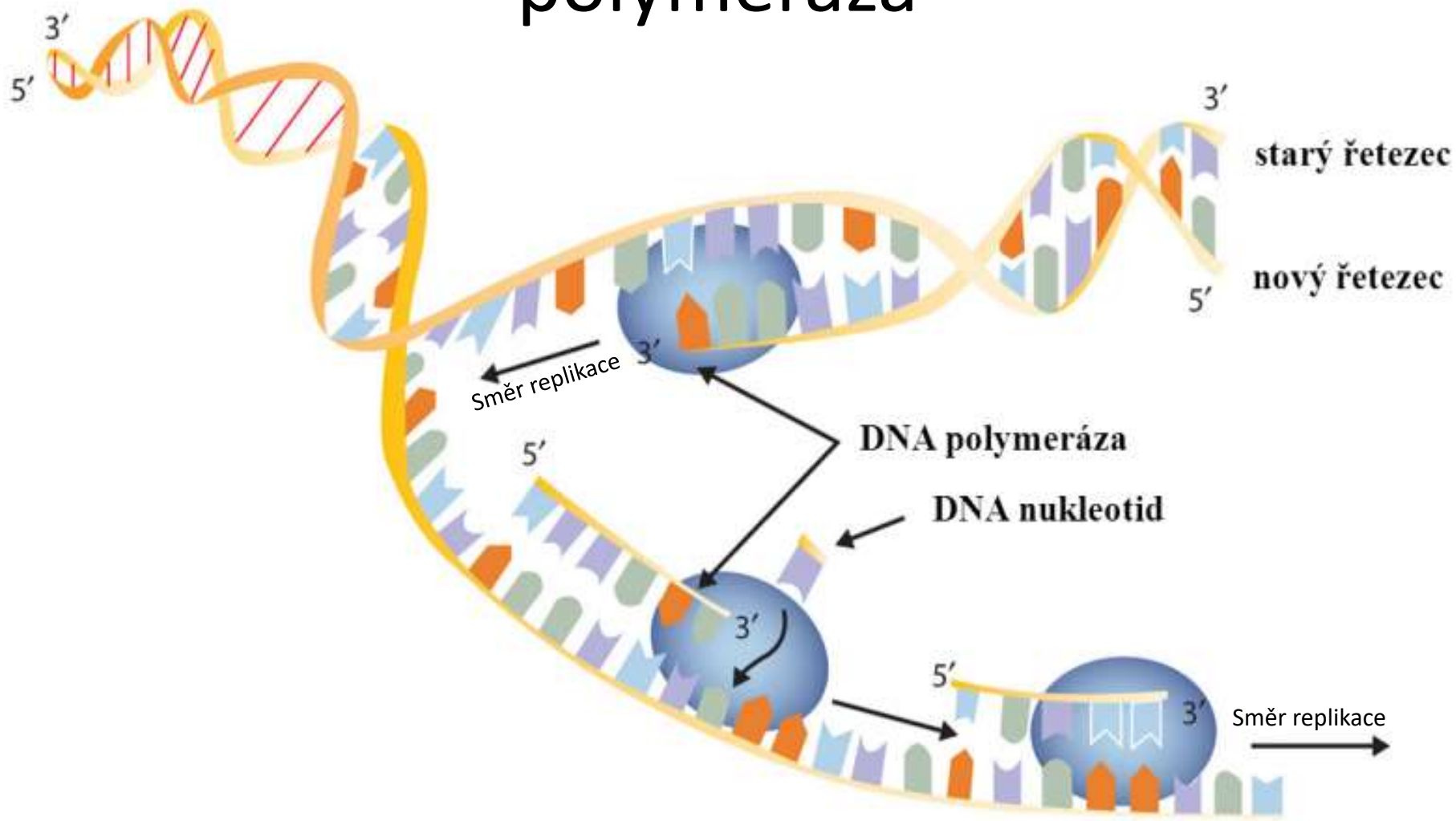


# Replikace aneb syntéza DNA

- 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



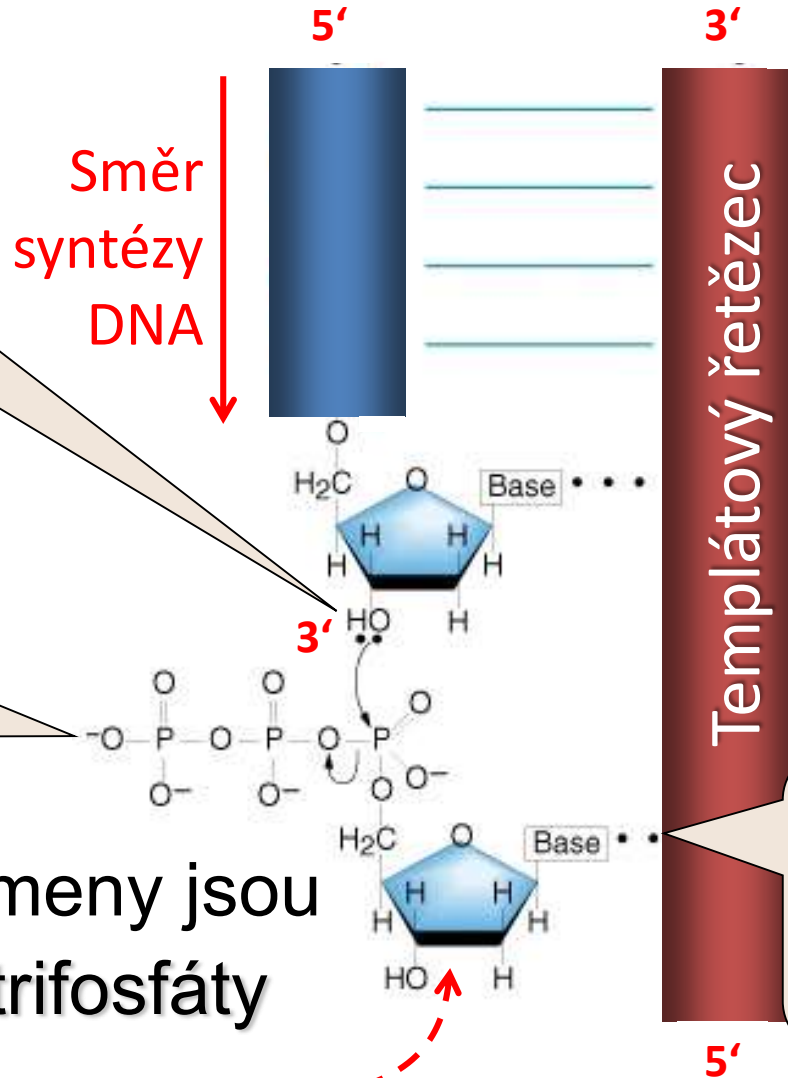


# Biochemie syntézy DNA

Vznik nové  
fosfodiesterové  
vazby

Odštěpení  
pyrofosfátu ( $P \sim P$ )

Základní stavební kameny jsou  
deoxyribonukleosidtrifosfáty  
(dNTP).



Párování  
komple-  
mentárních  
bází

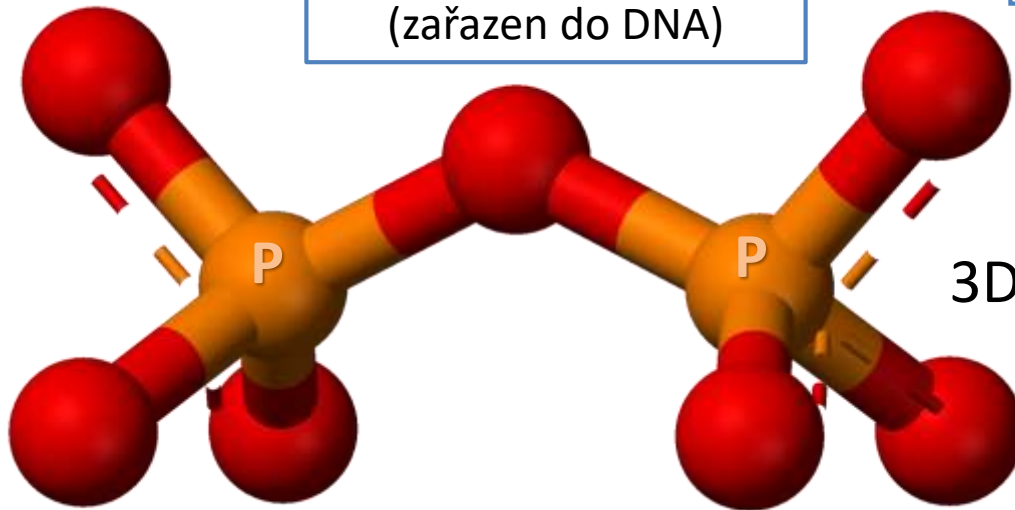
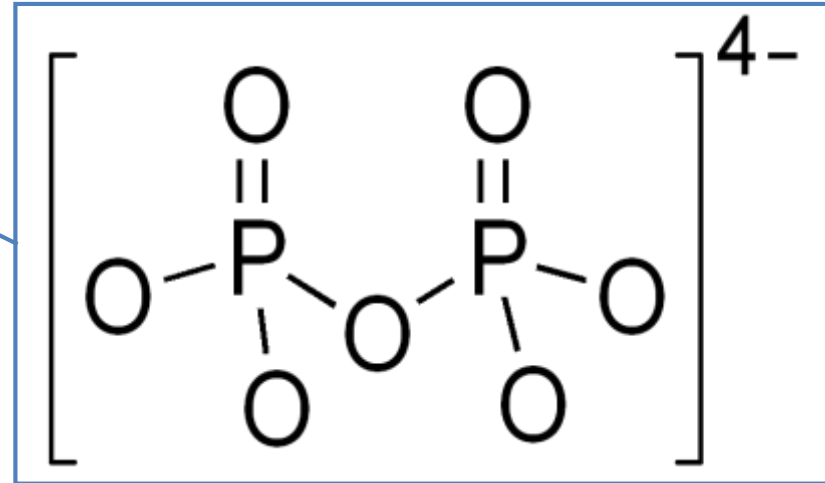
# Zařazení nového nukleotidu a odštěpení pyrofosfátu (PP<sub>i</sub>)

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*“)

# Polymerase Chain Reaction PCR



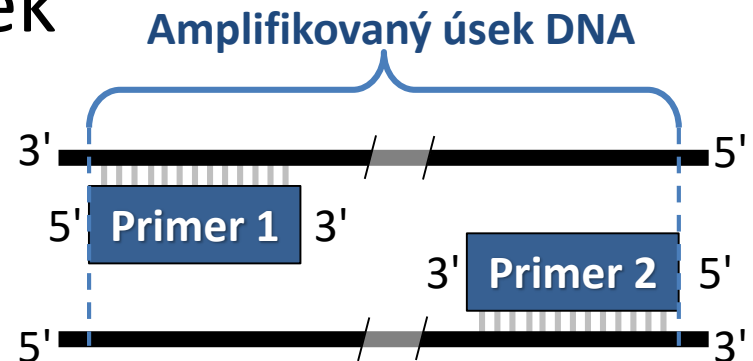
Polymerázová řetězová reakce

# 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**



# Termocyklery pro PCR

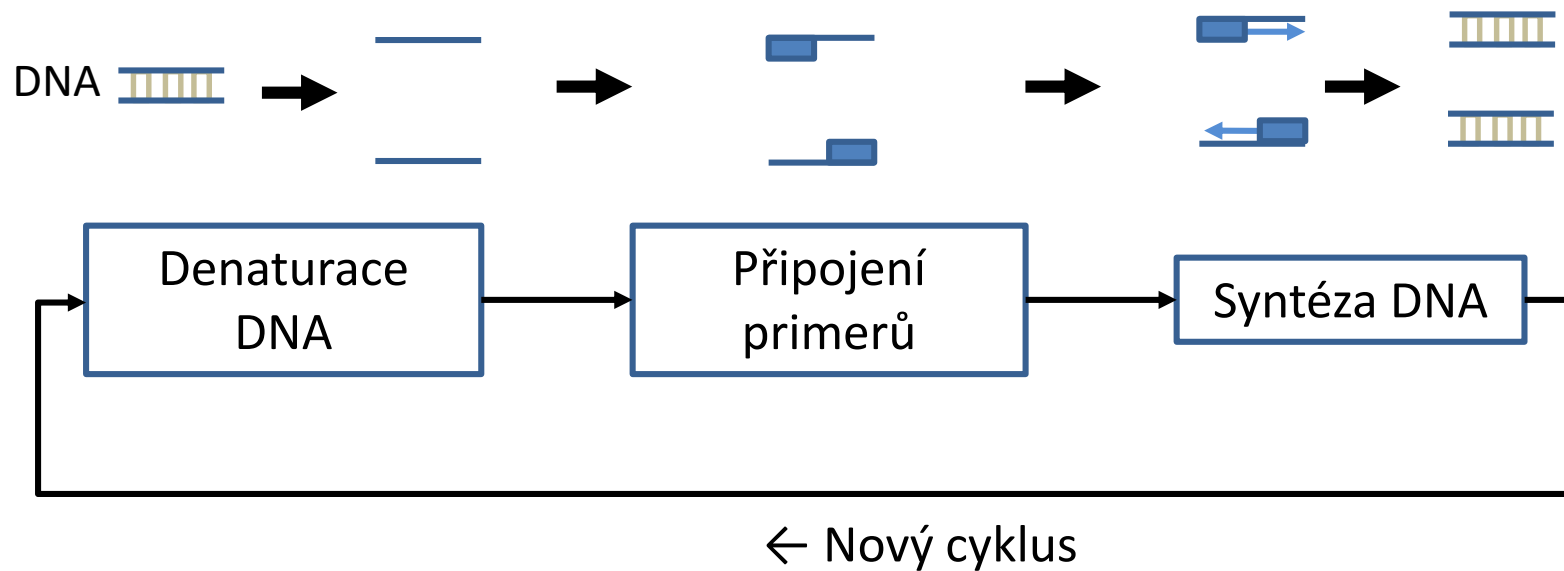


Blok na  
eppendorfky

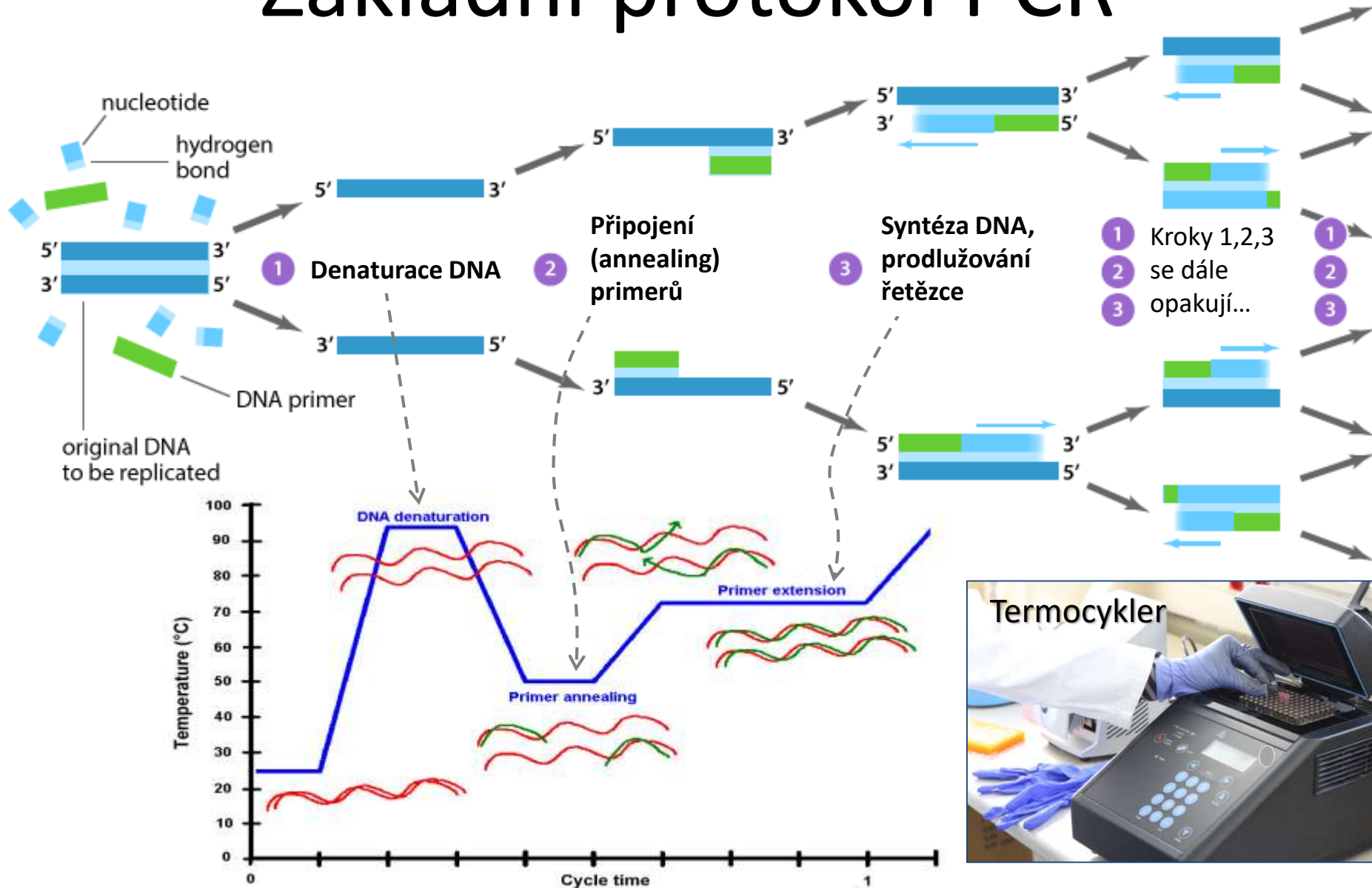
Rychlé změny  
teplot  
Každý cyklus –  
3 různé teploty



# Základní cyklus PCR



# Základní protokol PCR





# Výhody PCR

- Vysoká citlivost
- Rychlost
- Možnost automatizace
- Relativní finanční nenáročnost



# 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