

Hybridizace DNA

Ivana Eštočinová, Pavla Fabulová,
Markéta Formánková

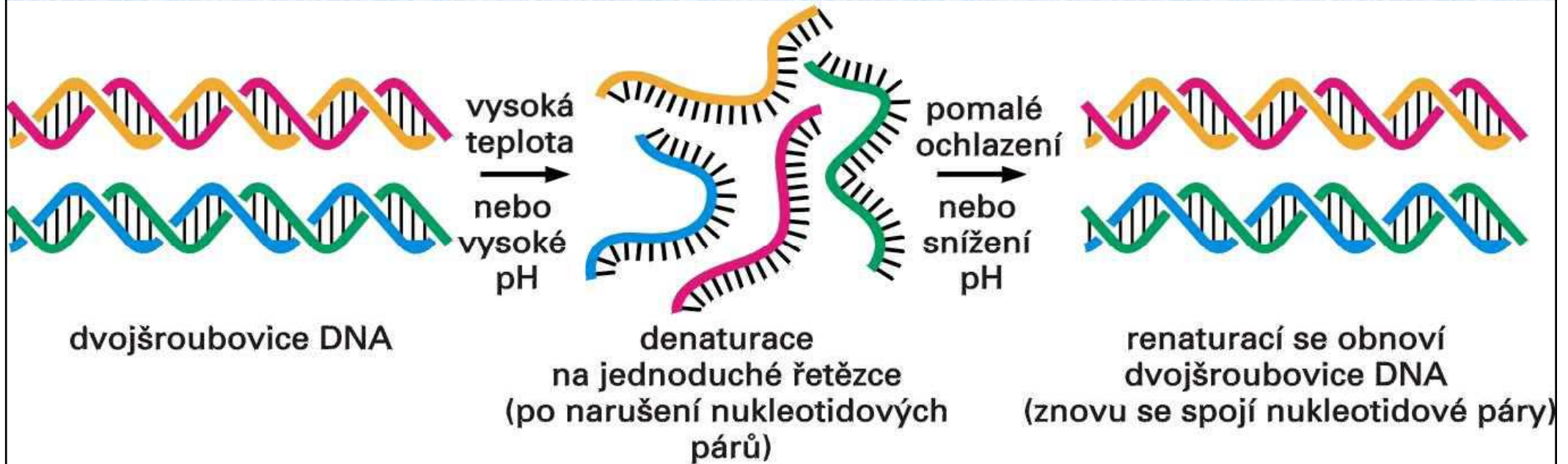


Hybridizace

- Základní vlastnost NK založená na principu komplementarity bází
- Proces vytváření dvouřetězcových molekul z jednořetězcových DNA za předpokladu, že se jejich sekvence vyznačují úplnou nebo částečnou komplementaritou bází.
- Hybridizovat mohou vlákna DNA/DNA, RNA/RNA i DNA/RNA



Postup hybridizace



- 1) Zvýšení teploty (90°C) nebo pH (13) na hodnotu, při níž dojde k *denaturaci*
- 2) Míchání za stálé teploty
- 3) Proces *renaturace* - snížení teploty nebo pH - komplementární řetězce se opět spojí vodíkovými můstky na základě komplementarity bází

Výsledek hybridizace

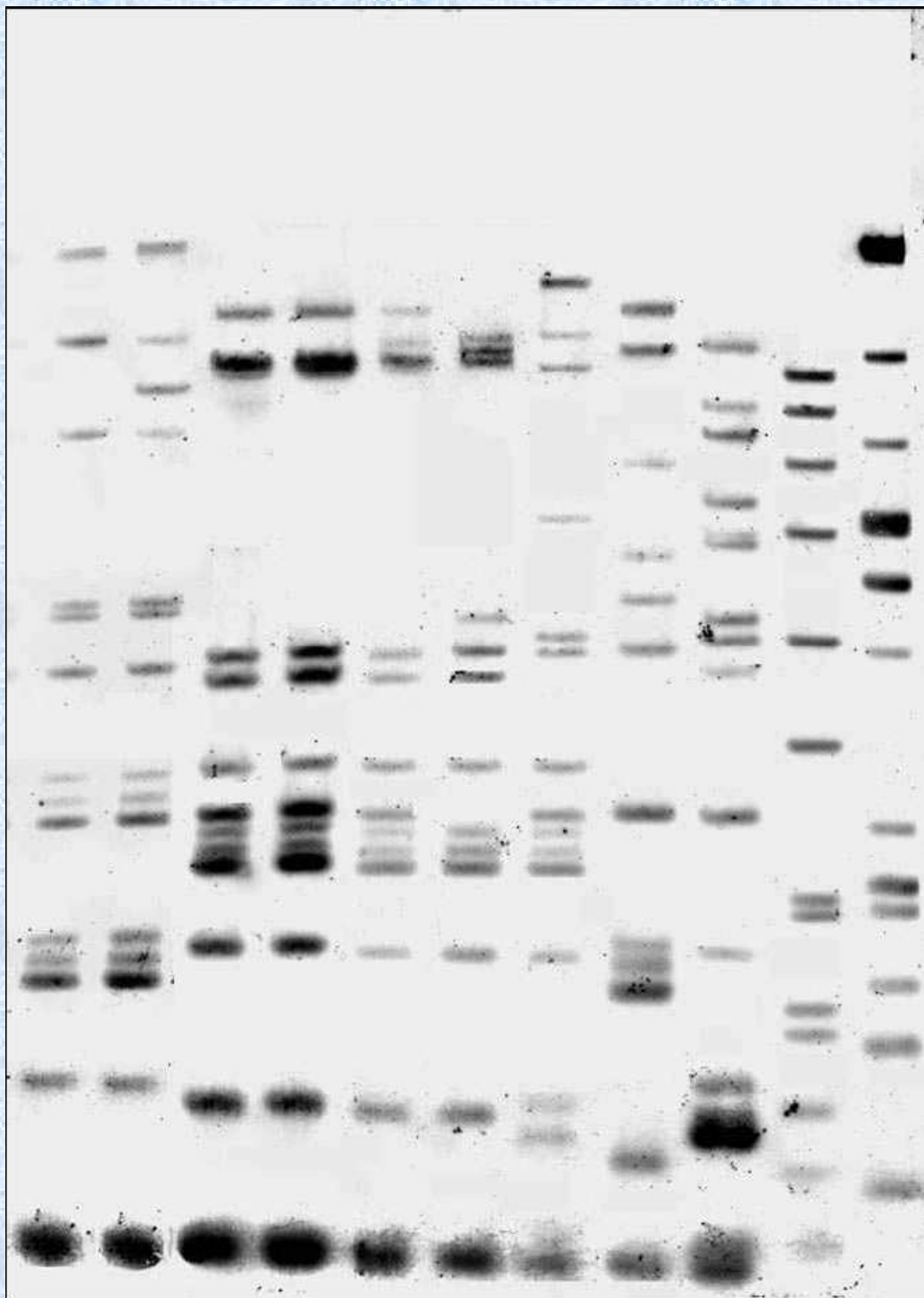
- **Hybridní molekuly DNA** - renaturované molekuly, v nichž se spojily řetězce pocházející z molekul DNA různých zdrojů.
- **Homoduplex** - hybridní molekula DNA, jejíž řetězce se vyznačují úplnou komplementaritou
- **Heteroduplex** - hybridní molekula DNA, jejíž řetězce se vyznačují neúplnou komplementaritou

Sondy

- Základem hybridizace je vždy značená sonda o známé nukleotidové sekvenci
- DNA sonda je krátká jednořetězcová DNA (10-1000 nukleotidů), která slouží k nalezení NK obsahující komplementární sekvenci
- sondy jsou značeny radioaktivními nebo neradioaktivními markery

Typy sond

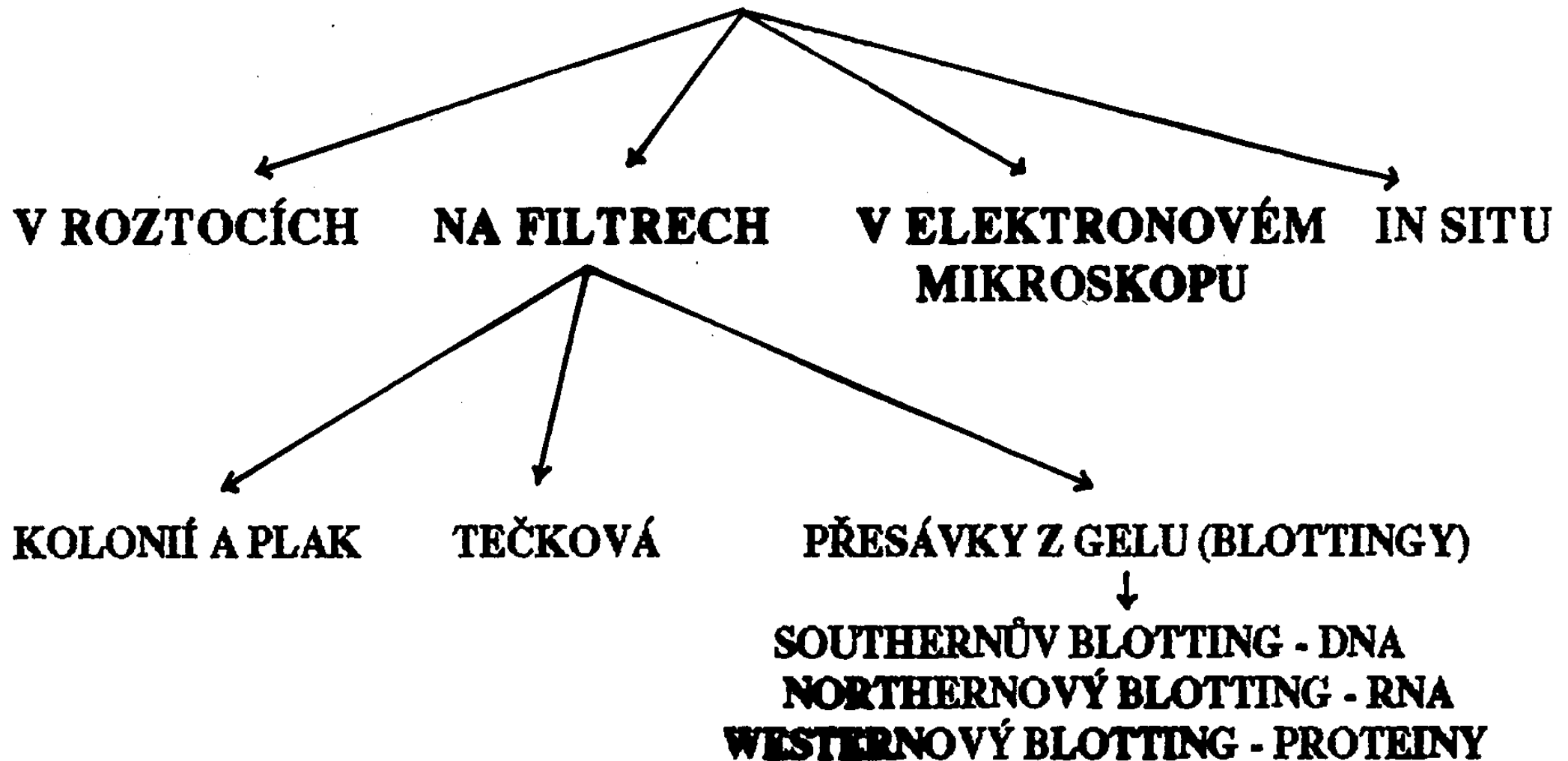
- restriční fragmenty dvouřetězcové DNA (cDNA)
- mRNA izolovaná z buněk nebo tkání
- RNA transkripty *in vitro*
- syntetické oligonukleotidy (připravené podle sekvence aminokyselin)



- Hybridizace s radioaktivně značenou sondou

Uspořádání hybridizačního experimentu je
rozmanité
podle povahy prostředí, ve kterém probíhá

HYBRIDIZACE NK



ISH a FISH

- ISH

- in situ hybridization
- umožňuje detekci specifických sekvencí v biologickém materiálu

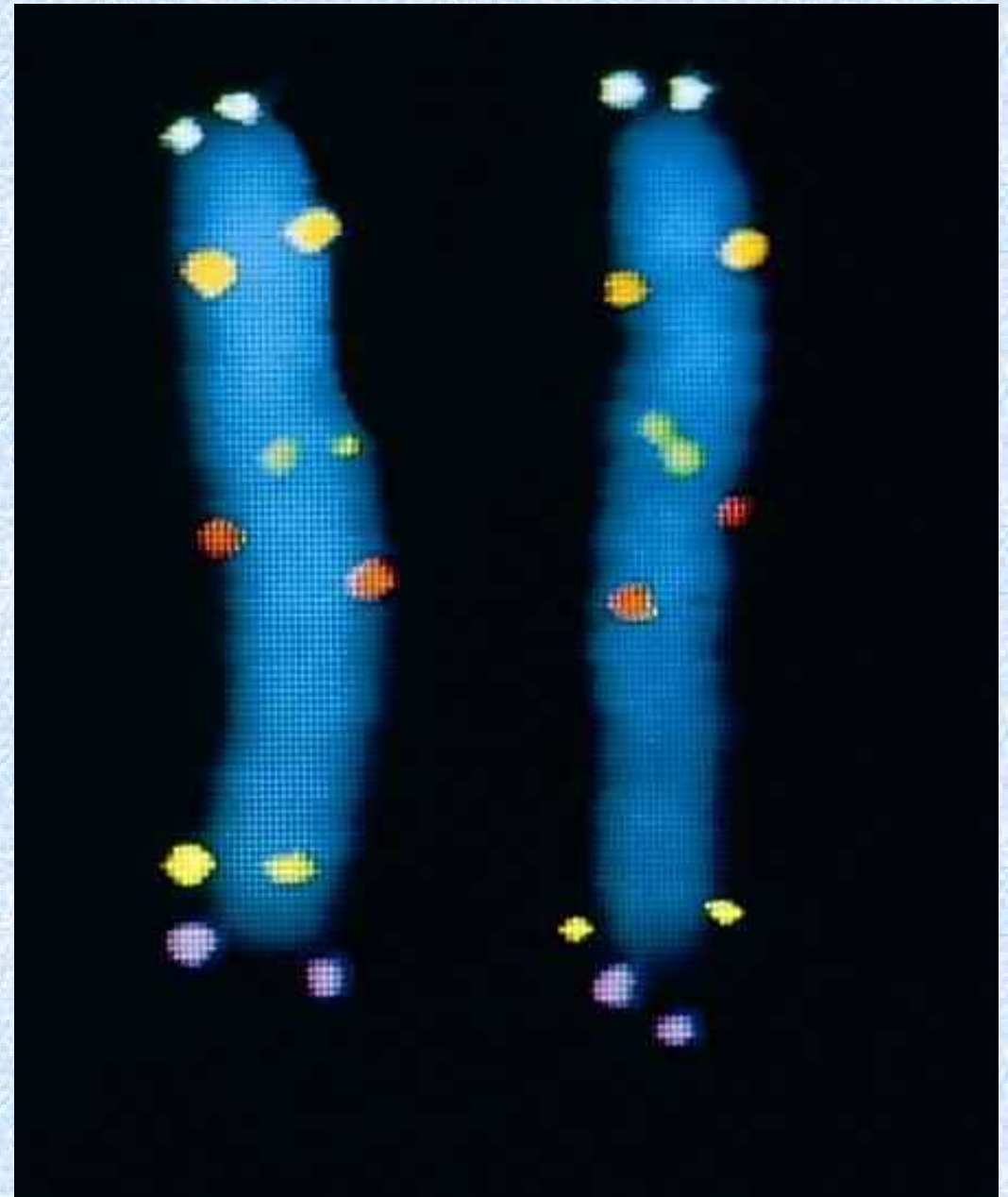
- FISH

- fluorescent in situ hybridization
- sonda značená fluorescenčním barvivem



Použití FISH pro detekci genů na chromosomech

- Použito 6 různých sond pro analýzu sekvencí v lidském metafázním chromozomu 5
- Každá sonda vytváří 2 tečky na každém chromozomu



Význam hybridizace

- prenatální diagnostika genetických chorob
- určení polohy sekvencí NK v buňkách nebo na chromozomech
- možnost identifikovat jediný gen mezi miliony fragmentů lidské DNA – vysoce specifická metoda

• Děkujeme

za

pozornost.

DESPERTE
O GÊNIO
DA QUÍMICA
QUE EXISTE
EM VOCE.

suplicy

We love café.

