

# DNA, RNA sondy

**Co je to sonda a k čemu je dobrá?**

Sonda - molekula nukleové kyseliny, použitelná k vyhledání určité sekvence ve vzorku testované DNA nebo RNA.

**Princip:** schopnost jednovláknových molekul nukleových kyselin hybridizovat, pokud obsahují komplementární sekvence.

Hybridizace – vznik stabilních vodíkových můstků mezi sondou a vyšetřovanou molekulou DNA

Komplementárna sekvencia - vždy se páruje **adenin** v jednom řetězci s **tyminem** ve druhém řetězci (A-T pár)

**guanin** v jednom řetězci s **cytosinem** ve druhém řetězci (G-C pár).

**Význam a použití:**

Sondu si můžeme uměle připravit tak, aby měla námi zvolenou sekvenci. potom touto sondou můžeme dokázat přítomnost komplementarnej sekvencie ve vyšetřovaném vzorku nukleových kyselin.

**Přítomnost komplementárnej sekvencie =  
přítomnost chorobné nebo zdravé alely genu**

# Príprava sond

## 1. Izolácia DNA zo zdroja

zdroje: BAC (bacterial artificial chromosome)

struktúra odvodená od F- plazmidu  
baktérie E. Colli

PAC - od temperovaného fága P1

YAC - yeast - kvasinka

## 2. Označenie:

značené nukleotidy – použity už při přípravě (syntéze)

spůsoby značení:

-značíme 1 nukleotid (napr. tymin)

2 typy značek: 1. radioaktivní fosfor-v nukleotidu ako fosfát

2. antigen rozpoznatelný protilátkami

(na protilátce naviazaná fluorescenčná látka)

**Způsoby detekce:** 1. vyzařuje radioaktivitu - stačí v temnu přiložit citlivý film, nechat ho exponovat a pak vyvolat.

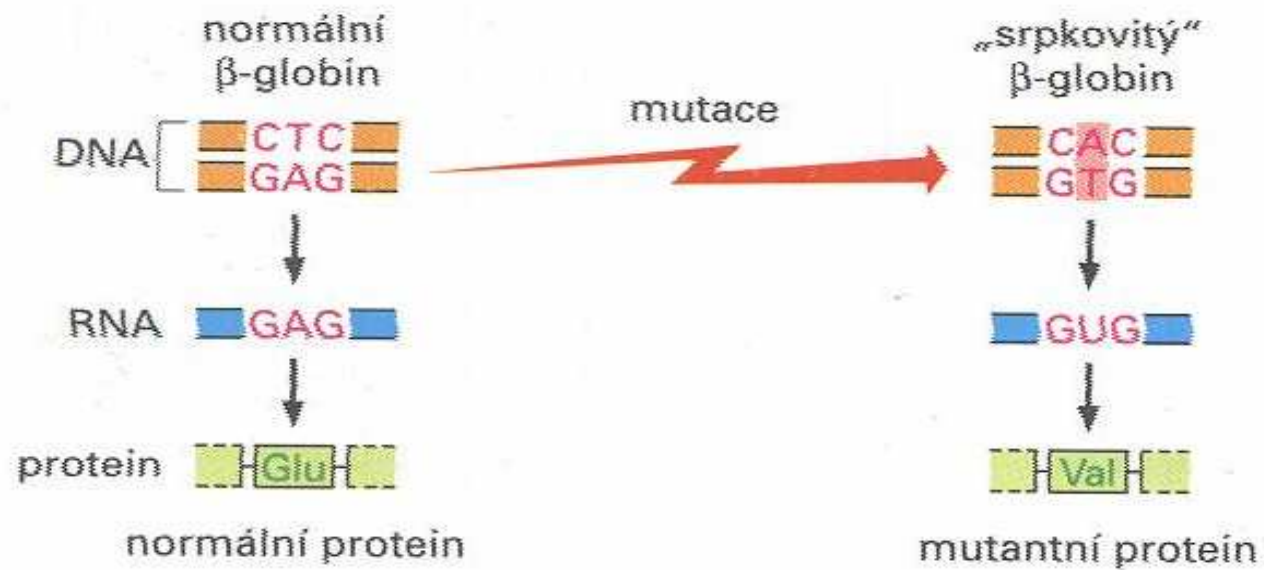
Radioaktivita vyvolá vznik tmavé skvrny

2. použijeme protilátku, která se na molekulu naváže

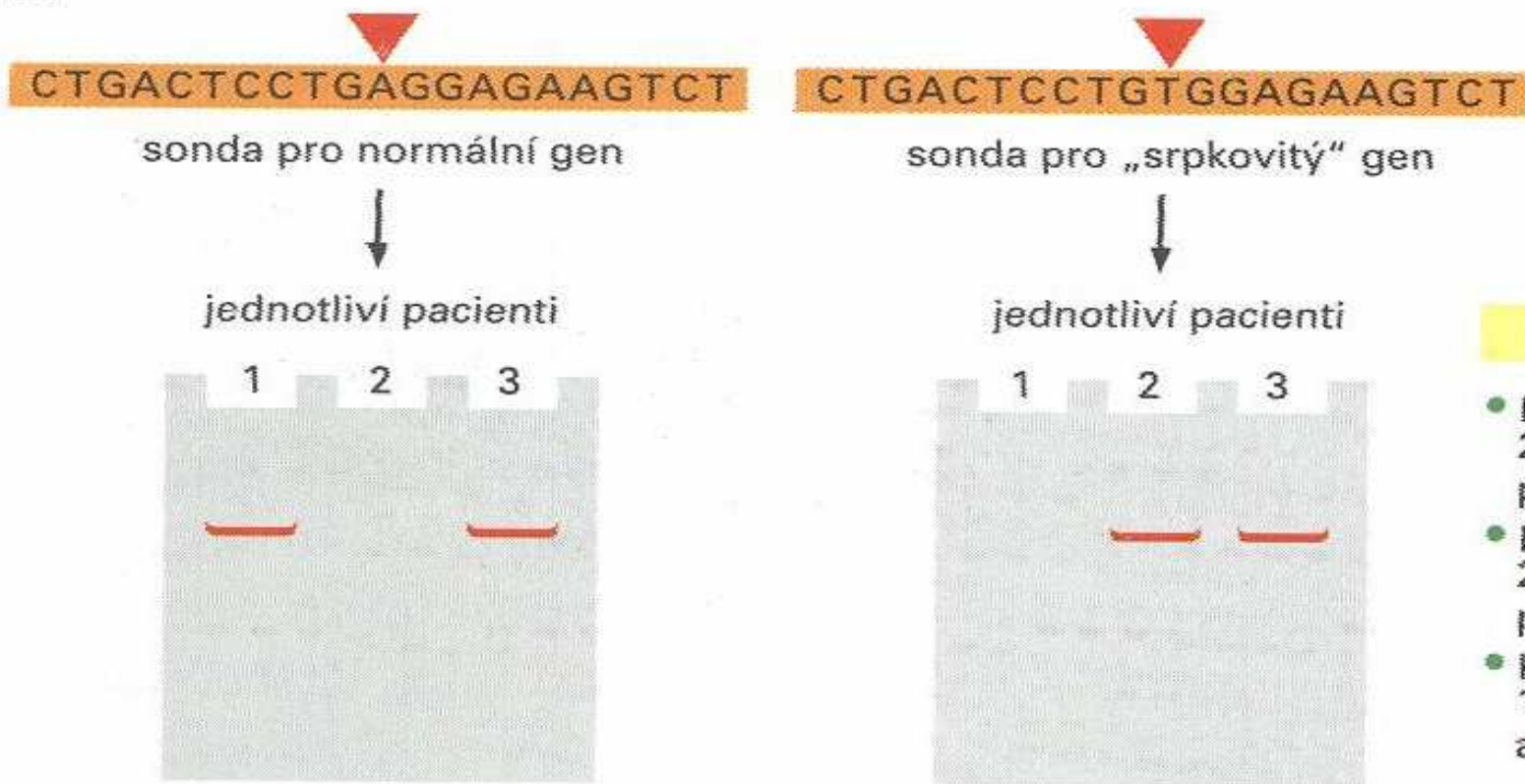
- sama je označena - fluorescenčním barvivem (fluorescenčný mikroskop → FISH)

enzymem - přítomnost detekujeme chemickou reakcí

(A)



(B)

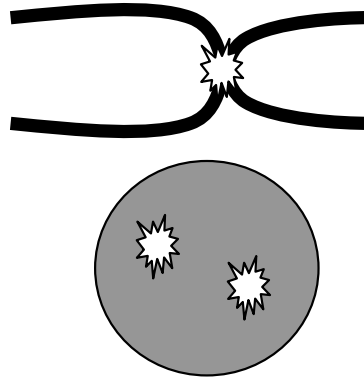


**ZÁVĚR**

- pacient 1 má 2 normální geny pro  $\beta$ -globin
- pacient 2 má 2 „srpkovité“ geny pro  $\beta$ -globin
- pacient 3 má 1 normální a 1 „srpkovitý“ gen

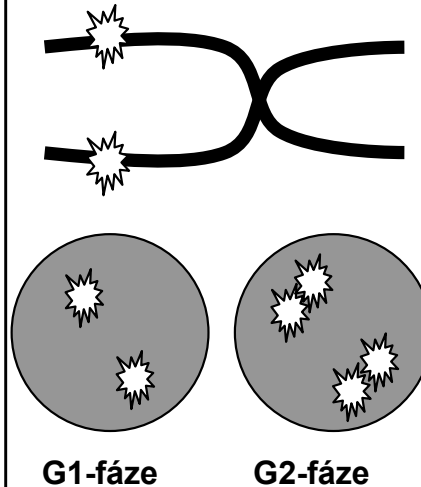
**Typ sondy****Lokalizace  
hybridizačního signálu  
na chromozomu  
nebo interfázním jádře****Využití**

satelitní  
(„centromerické“)  
hybridizují s repetitivními  
satelitními sekvencemi  
především  
centromerických  
oblastech



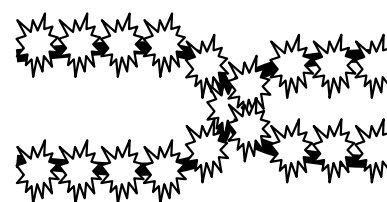
vyšetření aneuploidií  
chromozomů, detekce  
chromozomů  
neznámého původu;  
možnost interfázní  
FISH; využití  
v prenatální a  
preimplantační  
diagnostice

lokus-specifické  
(„genové“)  
hybridizují s jedinečnými  
sekvencemi DNA



vyšetření mikrolecí u  
mikrolečných  
syndromů a malignit,  
zjištění amplifikace  
onkogenů a některých  
specifických  
translokací; možnost  
interfázní FISH

celochromozomové  
(tzv. malovací)  
hybridizují  
s mnohočetnými  
chromozomovými  
sekvencemi, lze jimi  
označit celý chromozom



vyšetření  
chromozomálních  
přestaveb; k práci  
s malovacími sondami  
lze využít pouze  
chromozomy

A photograph of two men in business attire. The man on the left is wearing a dark suit jacket over a pink shirt and a red tie. The man on the right is wearing a dark suit jacket over a light blue shirt and a striped tie, and is wearing glasses. The background is dark and indistinct. Overlaid on the image is the text 'Děkujeme za pozornost' in white, bold, sans-serif font, repeated twice in a slightly overlapping manner.

**Děkujeme za pozornost**  
**Děkujeme za pozornost**