

# Jak polapit nukleovou kyselinu?

Všechny živé organismy na planetě Zemi mají veškeré svoje vlastnosti zakódované v biologické molekule, která byla pojmenována jako deoxyribonukleová kyselina. Ve skutečnosti plán výstavby organismu určují pouze čtyři chemické sloučeniny nazvané adenin, cytosin, thymin a guanin.

**R**ozpoznání úplné sekvence deoxyribonukleové kyseliny člověka na počátku 21. století rozpoutá na poli biotechnologií prudkou horu po jednoduchých postupech, jak rozpoznat známý úsek DNA. Na otázku proč je celkem jednoduchá odpověď. Chceme znát, zda jsme ohroženi vážnou chorobou nebo jsme náchylnější k infekci nebezpečným virem nebo bakterií. Aby se taková sci-fi mohla naplnit, musí věda učinit řadu kroků a krůčků, které začínají objevem nukleových kyselin. Těm na počátku nikdo nevěří a nepřikládá jim prakticky žádnou biologickou důležitost.

## Jak to bylo s jejich objevem?

Molekula deoxyribonukleové kyseliny je popsána v roce 1869, kdy se švýcarskému lékaři Miescherovi podaří izolovat DNA z bílých krvinek, obsažených v hnisu. Bohužel se mu nedaří získat dostatečně čistý vzorek na to, aby DNA mohla být dále zkoumána.

## Význam molekuly DNA objasnil pokus na bakteriích

Ve dvacátých letech pak britský genetik Frederick Griffith dokazuje, že je možné pneumokoky jednoho typu přeměnit v typ jiný, pokud jsou vystaveny působení zahřátého buňčného extraktu tohoto jiného typu, a že ta-

to změna je trvalá a dědičná. Griffith má k dispozici dva kmeny pneumokoků. Jeden typ s vnějším pouzdrém (při kultivaci buňky roste jako drsné kolonie) nebo bez pouzdra (kolonie byly hladké). Kmen pneumokoka s hladkými koloniemi je velmi virulentní (způsobí onemocnění). Naočkované myši velmi rychle umírají na infekci. Zajímavé je, že kmeny, tvořící drsné kolonie, myším smrt nezpůsobí. Při experimentu s injikovaným pneumokokem z drsných kolonií a teplem usmrcených buněk z hladkého pneumokoka zjišťuje, že myši také rychle uhynou. To navíc, je možné izolovat z těchto myši pneumokoky, tvořící hladké kolonie. Na tomto pokusu postaví další experimentální práci tři vědci z Rockefellerova ústavu v USA – Avery, McLeod a McCarthy. Ti o 15 let později zkoumají, co zapříčinilo takovou změnu. Podaří se jim dokázat, že za touto změnou stojí molekula DNA, a nikoliv bílkovina, jak se obecně soudilo. Tím je role DNA v mechanismu dědičnosti prokázána.

## Nalezení struktury DNA

Objevit charakteristickou strukturu DNA se podaří až v roce 1953 dvěma vědcům z Cambridge (Jamesi Watsonovi a Francisu Crickovi). Pro odhalení struktury DNA využívají

» Analýza DNA může napovědět, jaké nemoci člověka v budoucnu hrozí

## JAK SE IZOLUJE NUKLEOVÁ KYSELINA?

**B**ěžný postup izolace nukleových kyselin je následující. Vzorek tkáně, pletiva (musí obsahovat nukleovou kyselinu), je nejdříve dokonale rozetřen v přítomnosti běžných vodných roztoků solí. Takto připravený vzorek je zbaven zbylých velkých částí odstředěním na centrifuze. Vzniklá horní část je ode-

brána a jsou k ní přidány chemikálie odstraňující proteiny. Po proběhlé reakci je získán průhledný roztok obsahující pouze čistou nukleovou kyselinu. Nyní je potřebné tuto nukleovou kyselinu převést do pevné-



ho skupenství. To se podaří přidáním vychlazeného ethanolu. Po několika minutách se objevují bílá vlákna nukleové kyseliny. Po dalším odstředění je na dně zkuřavky izolována nukleová kyselina. <<

FOTO: WWW.WIKIMEDIA.COM





» Molekula deoxyribonukleové kyseliny byla popsána již v roce 1869

## POMÁHÁ I ELEKTŘINA

**N**ukleovou kyselinu můžeme pozorovat také pomocí **změny jejich elektrických vlastností**. Tato fyzikální metoda, rozvinutá právě českou elektrochemickou školou, přináší zatím netušené možnosti i v oblasti sledování vazby různých látek (léčiv) na molekulu DNA. <<

něna útvary, kterým se říká kapsidy. Smysl je naprosto zřejmý – uchránit nukleovou kyselinu před vnějším vlivem do doby, než se bude moci množit. U buněk vyšších organismů je molekula DNA uložena v buněčném jádře. Sama struktura buněčného jádra je velmi složitá, a jak se ukazuje z posledních výzkumů, není tak stálá a pevná, jak jsme si doposud mysleli.

## Zkuste se podívat na nukleovou kyselinu

Chcete se podívat, jak vypadá nukleová kyselina? Udělejte si jednoduchý pokus. V řeznictví si kupte kousek prasečí nebo hovězí sleziny. Tu pečlivě rozkrájejte a dejte do pevné misky. Pomocí vařečky roztírejte v roztoku soli (10%, tj. 10g/100 ml vody). Přidejte přibližně desetinásobek množství sleziny. Opatrně se pokuste oddělit kapalinu od zbylých částí sleziny. Ke kapalině postupně přidávejte ledovou tříšť. Nyní vezmete obyčejnou špejli a budete ji krouživě pohybovat v roztoku. Během chvíle se na špejli začnou namotávat bílá vlákna molekuly DNA.

## CO JE TO GENOM?

**G**enom je veškerá genetická informace, uložená v DNA (u některých virů v RNA) konkrétního organismu. Zahrnuje všechny geny a nekódující sekvence.

Presněji řečeno, **genom organismu je kompletní sekvence DNA jedné sady chromozomů.** <<

rentgenovou strukturní analýzu. Model DNA sestavují 28. března 1953. V roce 1962 obdrží společně Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství.

## Kolik je druhů nukleových kyselin?

Věda na počátku 21. století posunuje znalosti o biologických informačních molekulách a nyní je již velmi obtížné určovat, která z nich je významnější. Ve všech živých organismech nalezneme dva druhy nukleových kyselin, a to deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) a kyselinu ribonukleovou (RNA). Na základě rozborů nukleových kyselin se zjistí, že obsahují 15 % dusíku a 9–10 % fosforu. Velmi významnou vlastností nukleových kyselin je také schopnost srážení v přítomnosti alkoholu. Chemicky je rozdíl pouze v záměně jedné funkční skupiny na molekule cukru.

## Se strukturou to není tak jednoznačné

Watson a Crick popíší, že molekula DNA v živých organismech vytváří dvojšroubovici. Nyní víme, že molekuly DNA jsou sice většinou dvojšroubovice, ale u některých virů se objevují i jako jednovláknové molekuly. Molekuly RNA jsou většinou jednořetězcové,

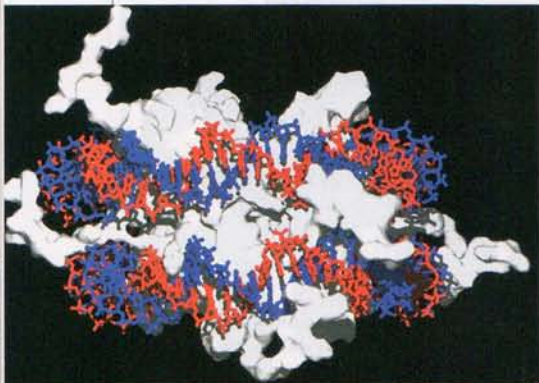
ale u virů mohou být také dvouřetězcové.

## Kde jsou uloženy a jaký mají význam?

Nukleové kyseliny jsou uloženy v buňkách. S uložením molekuly DNA to není tak jednoduché a řetízky (vlákna) se splétají a vytvářejí dvojšroubovici. Zaplétání pokračuje, až za spoluúčasti řady proteinů vznikne útvar, kterému říkáme chromozom. Molekuly DNA u bakterií jsou uloženy přímo v cytoplazmě buněk a nemají kolem sebe žádnou další ochrannou vrstvu vytvořenou z biologické membrány. U virů je nukleová kyselina velmi často dobře chrá-

» Charakteristickou strukturu DNA se podařilo objevit v roce 1953 dvěma vědcům z Cambridge, Jamesi Watsonovi a Francisí Crickovi





ILUSTRACE: WIKIPEDIA

» Všechny organismy na Zemi mají vlastnosti zakódované v deoxyribonukleové kyselině

**Magnetické částice pro snadnější zachycení**

Pro zachycení velmi malého množství DNA by nám však špejle nestačila. Proto jsou hledány důmyslnější způsoby, jak to udělat. Jedna z technologií je založena na magnetických částicích. Magnetické částice mají velikosti 5 nm–100 μm a jsou z kovového jádra (železa nebo i zlata). Na povrch takové částice je možné chemicky upevnit další molekuly, které nám usnadní zachycení námi hledané nukleové kyseliny. Výsledek je pak zaručený, zachytíte hledanou nukleovou kyselinu.

**Jak probíhá izolace**

Magnetické částice se přidají ke vzorku, kde na sebe navážou námi hledané molekuly. Třeba tak můžeme hledat přítomnost viru ptačí chřipky nebo HIV. Následně se magnetické částice s navázanou molekulou nukleové kyseliny přitáhnou magnetem ke stěně zkumavky a zbylý roztok s nenavázanými a dalšími látkami se snadno odstraní. Následuje pečlivé promývání a konečné uvolnění magnetických částic i s navázanými molekulami do námi přidaného roztoku. Dalším krokem je oddělení zachycené nukleové kyseliny od magnetické částice (to je možné zahřátím na vyšší teplotu). Zachycené molekuly na povrchu magnetické částice se uvolní a je nyní již snadné je identifikovat.



ILUSTRACE: WWW.TSIENLAB.USJ.EDU

» Molekuly DNA jsou většinou dvojšroubovice. U některých virů se objevují i jako jednovláknové molekuly.

**Jaké to má výhody?**

Výhody magnetických částic jsou velké. Vlastní vzorek (tkáň, krev) se nemusí složitě upravovat (odstředováním, dialýzou apod.), jak je tomu u běžných metod zachycení nukleové kyseliny. Výnecháním těchto kroků se podstatně zkracuje čas získání cílených biomolekul a navíc se zmenší riziko jejich případného fyzikálního nebo biologického poškození. Získání času může být pak rozhodující například při biologickém teroristickém útoku.

**Široké spektrum využití**

Analýza DNA představuje revoluci v biologii. Umožnila zkoumání a porovnávání živočišných a rostlinných druhů. Pomocníkem je v určení biologického otcovství. Policie se



FOTO: OTHELIA/NEWS.GATECH.EDU

» Analýza DNA je klíčem k včasnému rozpoznání ohrožení vážnou chorobou

bez metod molekulární biologie již neobejde. V oblasti hledání genetických chorob je pak analýza DNA zcela nezbytná a určující. Dnes se jde ještě dál a cílem je předpovídat riziko vzniku nemocí. Významně se rozvíjejí například nové technologie, zvané DNA čipy a čtení genomů. <<

**DALIBOR HÚSKA, VOJTĚCH ADAM, RENÉ KÍZEK**  
 ÚSTAV CHEMIE A BIOCHEMIE  
 MENDELovy LESNICKÉ A ZEMĚDĚLSKÉ UNIVERZITY V BRNĚ

**V ČEM SE Odstřeďuje?**



**Odstředivka** (centrifuga) je zařízení, které umožňuje díky působení odstředivé síly oddělit látky těžší od lehčích. Vzorky se

umístí do speciálního většinou titanového talíře (rotoru). Moderní centrifugy jsou plně automatické s nastavitelnou intenzitou otáček a teploty. <<

FOTO: UPBLL.BLOGSPOT.COM

**VÍCE SE DOZVÍTE:**  
 Rosypal S. a kol: Úvod do molekulární biologie, tisk Grafex 2000.  
 Klouda P.: Základy biochemie, Vydavatelství Pavel Klouda, 2006.  
 Klouda P.: Moderní analytické metody, Vydavatelství Pavel Klouda, 2006.  
 Huska D. a kol: Využití paramagnetických částic pro izolaci mRNA, CHEMmagazin, 18, č. 3, 14–15 (2006).  
 Kizek R.: Jak rychle rozpoznat nádor, 21. STOLETÍ, č. 1, 93–95 (2006).  
 Kizek R., Adam V., Huska D.: Jak se čte genom, rádio Leošova (4. 5. 2007, redaktor Hana Štáhlíková).  
[http://media.rozhlas.cz/\\_audio/00540594.mp3](http://media.rozhlas.cz/_audio/00540594.mp3)

INZERCE



**Zajímají Vás ...**

- nákupy bez námahy
- dodávky až do domu
- výhodný a rychlý nákup



**... zkuste to s námi**



**www.maxizbozi.cz**

Tel: 281 090 695 GSM: 775 090 662 (platí pro Prahu a okolí)