

DNA knihovny

DNA knihovny jsou kolekce klonovaných DNA fragmentů genomu určitého organismu (cDNA), které jsou skladovány uvnitř hostitelských organismů (zejména bakterií). cDNA (copy DNA, complementary DNA) je získávána přepisem z mRNA pomocí enzymu reverzní transkriptázy.

Syntéza cDNA (complementary DNA)

K syntéze je kromě reverzní transkriptázy zapotřebí také prostředí s neutrálním pH, ionty horčíku a všechny 4 deoxynukleotidy. Přepisu z mRNA je využíváno z důvodu přítomnosti **poly(A) konců**, na které může transkriptáza nasednout. Před použitím samotné cDNA je potřeba její převedení z jednovláknové formy na formu dvouvláknovou pomocí dalšího enzymu – DNA polymeráza I. Klony cDNA obsahují **pouze kódující sekvence**. Jinou možností syntézy je použití enzymu ribonukleázy. Ten je schopen rozeznat RNA části již vzniklého RNA: DNA hybridu, ke kterým nasyntetizuje odpovídající části druhého vlákna cDNA. Tyto části slouží opět pro nasednutí DNA polymerázy I, spojení těchto menších úseků do jednotného vlákna pak dokončí ligáza.

Role hostitelských organismů

Jednotlivé fragmenty DNA jsou vkládány individuálně do hostitelských organismů, kterými jsou nejčastěji bakterie. Výhodou bakterií je jejich schopnost rychlé replikace dané DNA ve zjiitelném množství. Po zmnožení daného úseku může docházet k rozpoznání jednotlivých genů. Tuto genovou identifikaci a kopírování označujeme jako klonování. Vnášení genů do bakterií je zprostředkováno pomocí **plazmidů**. Plazmidy jsou formou vektorů. Nejdříve musí dojít k narušení jejich DNA kruhové struktury pomocí restričních enzymů. Po vložení lidského fragmentu jsou opětovně spojovány ligázou. Výsledkem celého procesu jsou **rekombinanty**.

Rekombinanty jsou vloženy do bakterií, které začnou syntetizovat odpovídající fragment lidské DNA. Bakterie jsou následně vloženy do média bohatého na živiny, kde tvoří kolonie.

Využití DNA knihoven

- množení lidských proteinů pomocí bakteriálních kultur;
- tvorba prób, které jsou využívány pro DNA microarray;
- porovnávání vývojových změn ve tkáních.

Odkazy

Externí odkazy

- Construction of a DNA Library (<http://www.sumanasinc.com/webcontent/animations/content/dnalibrary.html>)
- Molecular Genetics II - Genetic Engineering Course (Supplementary notes) (<http://dwb.unl.edu/Teacher/NSF/C08/C08Links/www.dur.ac.uk/~dbl0www/Staff/Croy/cDNAfigs.htm>)

Použitá literatura

- cDNA Library (http://www.iscid.org/encyclopedia/cDNA_Library)
- ALBERTS, Bruce, D BRAY a A JOHNSON, et al. *Základy buněčné biologie*. 2. vydání. Ústí nad Labem : Espero Publishing, 2005. 740 s. ISBN 80-902906-2-0.