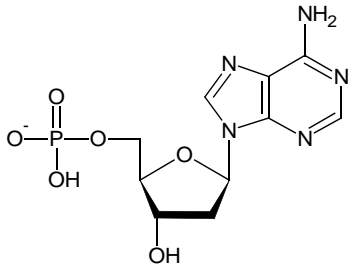


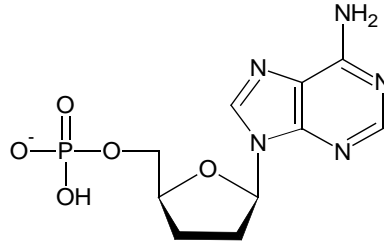
- 1) Jak se liší Sangerova metoda sekvenování DNA od klasické syntézy DNA při replikaci?
přítomností dideoxynukleotidtrifosfátu, syntéza probíhá pouze na jednom vlákně DNA (nedochází k vytvoření replikační vidličky), získáme velké množství různých úseků DNA
- 2) Napiš rozdíl mezi deoxynukleotidtrifosfátem a dideoxynukleotidtrifosfátem?
Liší se přítomností jedné hydroxylové skupiny. U dideoxynukleotidtrifosfátu chybí OH skupina na 2 i 3 uhlíku cukerné složky, kdežto u deoxynukleotidtrifosfátu chybí pouze na 2 uhlíku.
- 3) Jaký je praktický význam sekvenování DNA?
Může se využívat v genové terapii, při zjišťování příčin chorob, apod.
- 4) Co se stane po připojení dideoxynukleotidtrifosfátu na templátové vlákno DNA?
Dojde k ukončení syntézy DNA.
- 5) Uveďme si modelovou situaci, kdy dochází k syntéze nového vlákna DNA (Sangerovou metodou), ve směsi jsou přítomny všechny potřebné látky a dATP, dCTP, dGTP a ddTTP. Na které bázi templátového řetězce dojde k ukončení syntézy nového vlákna? U které báze zjistíme její zařazení v řetězci?
Jedná se o Adenin.
- 6) Představ si, že jsi vědec, který chce osekvenovat řetězec DNA. Laborant ti přinese směs, která obsahuje templátové řetězce DNA, deoxynukleotidtrifosfáty a dideoxynukleotidtrifosfáty. Pracoval laborant správně, při přípravě této směsi? Dojde k syntéze nového řetězce DNA? Máš k dispozici všechny složky, které k reakci potřebuješ? Pokud ne, napiš, která ze složek ve směsi chybí.
Laborant zapomněl na DNA-polymerázu, syntéza DNA by nemohlo dojít.
- 7) Z jakého důvodu dojde k ukončení syntézy nového vlákna DNA po připojení dideoxynukleotidtrifosfátu? Proč nedojde k navázání dalšího nukleotidu?
Přičítat další nukleotid v tomto případě nelze, jelikož na dideoxynukleotidu chybí OH skupina na 3. uhlíku a proto nemůže dojít k vytvoření fosfodiesterové vazby mezi oběma nukleotidy a syntéza zde končí.

- 8) Urči, který z obrázků znázorňuje dideoxynukleotidtrifosfát a který deoxynukleotidtrifosfát.

deoxynukleotidtrifosfát



dideoxynukleotidtrifosfát



- 9) Která ze složek směsi je při syntéze nového vlákna DNA zodpovědná za nasedání jednotlivých nukleotidů?

DNA-polymeráza

- 10) Z jakého důvodu se při sekvenaci DNA přidává do směsi jak dideoxynukleotid tak jeho partner deoxynukleotid? Například je ve směsi přítomen dCTP i ddCTP. **Pokud by byl ve směsi obsažen pouze dideoxynukleotid došlo by k ukončení syntézy DNA na prvním nukleotidu, který je k němu komplementární (v našem případě guaninu). Pokud do směsi přidáme i příslušný deoxynukleotid, dostáváme směs velkého množství nově syntetizovaných řetězců, které všechny končí na guaninu. Seřadíme-li je podle velikosti, dostaneme velice jasnou představu o tom, v jakých místech se daná báze (v našem případě guanin) nalézá.**