

OBSAH

| | |
|---|----|
| 1. ÚVOD (V. V.) | 5 |
| 2. VZTAH GI K PŘÍBUZNÝM OBORŮM (V. V.) | 6 |
| 3. HLAVNÍ METODICKÉ OKRUHY GENOVÉHO INŽENÝRSTVÍ (V. V.) | 8 |
| 4. OBECNÉ VLASTNOSTI VEKTORŮ A JEJICH KLASIFIKACE (V. V.) | 10 |
| 4.1. VEKTORY PLAZMIDOVÉHO TYPU (Z. S.) | 12 |
| 4.2. VEKTORY ODVOZENÉ OD BAKTERIOFÁGA LAMBDA (Z. S.) | 13 |
| 4.3. KOSMIDY (Z. S.) | 14 |
| 4.4. VEKTORY ODVOZENÉ OD FILAMENTÁRNÍCH BAKTERIOFÁGŮ (Z. S.) | 14 |
| 4.5. FAGEMIDY (Z. S.) | 15 |
| 4.6. YAC – KVASINKOVÉ ARTÉFICIÁLNÍ CHROMOZÓMY (Z. S.) | 15 |
| 4.7. DALŠÍ VIROVÉ VEKTOROVÉ SYSTÉMY (Z. S.) | 15 |
| 5. IZOLACE NUKLEOVÝCH KYSELIN (V. V.) | 17 |
| 5.1. OBECNÉ PRINCIPY IZOLAČNÍCH METOD | 17 |
| 5.2. PŘÍPRAVA BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU | 17 |
| 5.3. UVOLNĚNÍ NUKLEOVÝCH KYSELIN Z BUNĚK A JEJICH ČÁSTÍ | 17 |
| 5.4. SEPARACE DNA OD OSTATNÍCH KOMPONENT | 18 |
| 5.5. OCHRANA DNA PŘED ÚČINKEM NUKLEÁZ | 18 |
| 5.6. ZVLÁŠTNOSTI IZOLACE PLAZMIDOVÉ DNA | 18 |
| 5.7. ZVLÁŠTNOSTI IZOLACE RNA | 20 |
| 6. STANOVENÍ KONCENTRACE NUKLEOVÝCH KYSELIN (V. V.) | 22 |
| 7. ELEKTROFORETICKÁ FRAKCIONACE NUKLEOVÝCH KYSELIN (V. V.) | 25 |
| 8. FRAKCIONACE IZOPYKNICKOU CENTRIFUGACÍ (V. V.) | 30 |
| 9. FRAKCIONACE IZOKINETICKOU CENTRIFUGACÍ (V. V.) | 32 |
| 10. FRAGMENTACE DNA (V. V.) | 33 |
| 11. ÚPRAVY FRAGMENTŮ (Z. S.) | 38 |
| 11.1. ÚPRAVY KONCŮ | 38 |
| 11.2. UŽITÍ NÁSTAVCŮ A SPOJEK | 39 |
| 12. SYNTÉZA NUKLEOVÝCH KYSELIN (Z. S.) | 40 |
| 12.1. SYNTÉZA DNA PODLE PŘEDLOHY | 40 |
| 12.1.1. Syntéza DNA podle DNA předlohy | 40 |
| 12.1.2. Polymerázová řetězová reakce | 41 |
| 12.1.3. Posun přerušení | 44 |
| 12.1.4. Syntéza DNA podle RNA předlohy | 44 |
| 12.2. SYNTÉZA DNA BEZ PŘEDLOHY | 47 |
| 12.2.1. Terminální transferáza | 47 |
| 12.2.2. Chemická syntéza DNA | 47 |
| 12.2.3. Využití syntetických oligonukleotidů | 47 |
| 13. METYLACE A DEMETYLACE (Z. S.) | 49 |
| 13.1. BAKTERIÁLNÍ METYLACE | 49 |
| 13.2. EUKARYOTICKÁ METYLACE | 49 |
| 14. DODATKY (V. V.) | 50 |
| 14.1. PŘEVODY MOLÁRNÍCH HMOTNOSTÍ dsDNA NA bp RESP. μg | 50 |
| 14.2. PRŮMĚRNÁ MOLÁRNÍ HMOTNOST NUKLEOTIDOVÉ PODJEDNOTKY | 50 |
| 14.3. ODHAD TEPLoty TÁNÍ T_m PRO OLIGONUKLEOTIDOVÉ DVOUŠROUBOVICE KRATŠÍ NEŽ 25 bp | 50 |

| | | |
|------------------------------------|---|-----------|
| 14.4. | ODHAD STABILITY dsDNA DELŠÍ NEŽ 50 bp | 50 |
| 14.5. | ODHAD KONCENTRACE KONCŮ MOLEKUL dsDNA PO ÚPLNÉM ŠTĚPENÍ RESTRIKTÁZAMI | 50 |
| 14.6. | SLOŽENÍ ZÁKLADNÍCH REAKČNÍCH PUFŘŮ PRO ŠTĚPENÍ RESTRIKTÁZAMI | 50 |
| 14.7. | PŘEHLED RESTRIKČNÍCH MÍST NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH RESTRIKTÁZ | 51 |
| 14.8. | PŘEHLED RESTRIKTÁZ POSKYTUJÍCÍCH ČTYŘNUKLEOTIDOVÉ 3' – PŘESAHUJÍCÍ KOHEZNÍ KONCE | 54 |
| 14.9. | PŘEHLED RESTRIKTÁZ POSKYTUJÍCÍCH ČTYŘNUKLEOTIDOVÉ 5' – PŘESAHUJÍCÍ KOHEZNÍ KONCE | 54 |
| 14.10. | PŘEHLED NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH ENZYMŮ POUŽÍVANÝCH PRO SYNTÉZU A ÚPRAVY DNA (Z. S.) | 55 |
| 14.11. | HMOTNOSTNÍ MARKERY (Z. S.) | 57 |
| 14.12. | GENETICKÝ KÓD | 58 |
| DOPORUČENÁ LITERATURA | | 59 |