

Obsah

Obsah	3
Předmluva	9
1. Molekulární biologie a její význam v medicíně	11
1.1. Dědičnost a proměnlivost – základní vlastnosti živých organismů	11
1.2. Genetika	14
1.3. Molekulární biologie a její praktické aplikace	15
1.4. Genetika člověka, klinická genetika a genetické poradenství	15
1.5. Molekulárněbiologická diagnostika	17
1.6. Základní vybavení molekulárněbiologické laboratoře	18
2. Buněčné a nebuněčné živé systémy	21
2.1. Buněčná stavba živých organismů	21
2.2. Eukaryotická a prokaryotická buňka	22
2.3. Nebuněčné živé soustavy: viry, viroidy, priony	27
3. Struktura a význam DNA	33
3.1. Struktura DNA	33
3.2. Denaturace a renaturace DNA	37
3.3. Struktura chromatinu, chromozomy	39
3.4. Morfologie chromozomů, karyotyp	41
3.5. Význam DNA, centrální dogma molekulární biologie	41
3.6. Mutace a jejich význam	42
4. Odběr materiálu a metody izolace DNA	43
4.1. Odběr materiálu pro vyšetření DNA	43
4.1.1. Postnatální odběry	43
4.1.1.1. Odběr materiálu pro vyšetření genetiky podmíněných chorob	43
4.1.1.2. Odběr materiálu pro vyšetření nádorových chorob	44
4.1.1.3. Odběr materiálu pro vyšetření infekčních onemocnění	45
4.1.1.4. Odběr materiálu pro analýzu DNA ve forenzní medicíně, antropologii a archeologii	45
4.1.2. Prenatální odběry	46
4.2. Právní a etické náležitosti při odběru vzorků a analýze DNA	47
4.3. Izolace a purifikace DNA	48
4.4. Stanovení koncentrace DNA	50
4.5. Elektroforéza DNA	50
4.5.1. Gelová elektroforéza	52
4.5.2. Kapilární elektroforéza	54
4.6. Vizualizace DNA	55
5. Buněčný cyklus, replikace DNA	57
5.1. Buněčný cyklus	57
5.2. S-fáze buněčného cyklu, replikace DNA	58
5.3. Mitóza	60
5.4. Buněčné kultury	62
5.5. Pohlavní rozmnožování, meióza	64
5.6. Význam meiózy	68
5.7. Spermatogeneze a oogeneze	69
5.8. Asistovaná reprodukce a preimplantační vyšetření	70

5.8.1. Poruchy reprodukce	70
5.8.2. Metody asistované reprodukce, preimplantační vyšetření	71
5.8.2.1. Nitroděložní inseminace	72
5.8.2.2. Fertilizace <i>in vitro</i> (mimotělní oplodnění)	73
5.8.2.3. Intracytoplazmatická injekce spermií	74
5.8.3. Další etické aspekty asistované reprodukce	74
6. Základy klinické cytogenetiky, vyšetření chromozomů	77
6.1. Význam a indikace cytogenetických vyšetření	77
6.1.1. Odběry pro postnatální cytogenetická vyšetření	77
6.1.2. Odběry pro prenatální cytogenetická vyšetření	78
6.2. Vizualizace chromozomů a sestavení karyotypu	79
6.3. Karyotyp člověka	80
6.4. Chromozomové aberace a jejich klinický význam	82
6.4.1. Numerické aberace	82
6.4.1.1. Polyploidie	82
6.4.1.2. Aneuploidie	83
6.4.1.3. Mozaikové karyotypy	85
6.4.2. Strukturální chromozomové aberace	85
6.4.2.1. Syndrom fragilního chromozomu X	87
6.4.2.2. Balancované a nebalancované přestavby	88
6.5. Základní pravidla pro zápis chromozomového nálezu	89
6.5.1. Zápis numerických aberací	90
6.5.2. Zápis strukturálních aberací	90
6.6. Pohlavní chromozomy a jejich význam	91
6.7. Inaktivace chromozomu X	93
7. Základní techniky amplifikace a sekvenování DNA	95
7.1. Polymerázová řetězová reakce	95
7.1.1. Základní protokol PCR	95
7.1.2. Význam a využití PCR	97
7.1.2.1. Diagnostika geneticky podmíněných chorob	97
7.1.2.2. Využití PCR ve forenzní medicíně a v archeologii	98
7.1.2.3. Využití PCR při určení pohlaví	99
7.1.2.4. Využití PCR při diagnostice infekčních onemocnění	100
7.1.3. Výhody a nevýhody PCR	101
7.1.3.1. Výhody PCR	101
7.1.3.2. Nevýhody PCR	101
7.1.3.3. Základní zásady práce při zakládání vzorků pro PCR	101
7.2. Sekvenování DNA	102
7.3. Další modifikace PCR	103
7.4. Ligázová řetězová reakce	105
8. Molekulární biologie genu	107
8.1. Struktura genu a genová exprese	107
8.2. Proteosyntéza, genetický kód	107
8.2.1. Struktura RNA	107
8.2.2. Transkripce	108
8.2.3. Translace	109
8.2.4. Genetický kód	111
8.3. Struktura genu a genová exprese	112
8.3.1. Struktura genu a regulace genové exprese u eukaryot	112
8.3.2. Regulace genové exprese u bakterií	112

8.4. Posttranskripční úpravy RNA u eukaryot	113
8.5. Alternativní sestřih	114
9. Molekulární podstata mutací	115
9.1. Mutace a mutageny	115
9.2. Typy mutací a jejich důsledky	116
9.2.1. Srpkovitá anémie	116
9.2.2. Následky mutací	117
9.3. Molekulárně biologická nomenklatura mutací	118
10. Monogenní onemocnění a jejich dědičnost	121
10.1. Genotyp a fenotyp	121
10.2. Mendelovy zákony, základní pojmy obecné genetiky	121
10.2.1. Dominantní a recesivní znaky, první Mendelův zákon	121
10.2.2. Druhý Mendelův zákon	123
10.2.3. Neúplná dominance a kodominance	123
10.3. Dědičný přenos monogenních onemocnění	124
10.3.1. Genealogická analýza, sestavení rodokmenu	125
10.3.2. Choroby podmíněné mutacemi genů na autozomech	127
10.3.2.1. Autozomově dominantní choroby	127
10.3.2.2. Autozomově recesivní choroby	129
10.3.3. Choroby podmíněné mutacemi genů na gonozomech	130
11. Mitochondriální DNA a mimojaderná dědičnost	135
11.1. Molekula mtDNA, vztah jaderného a mimojaderného genomu	135
11.2. Mitochondriální dědičnost	135
11.3. Izolace mtDNA, gradientová izopyknická centrifugace	136
11.4. Význam studia mtDNA v antropologii a kriminalistice	137
12. Reverzní transkripce a její význam	139
12.1. Retrovíry a reverzní transkripce	139
12.2. Příprava a význam komplementární DNA (cDNA)	140
12.3. Metoda RT-PCR	140
13. Techniky klonování genů a rekombinantní DNA	143
13.1. Úvod do problematiky klonování DNA	143
13.2. Rekombinantní molekuly DNA	143
13.3. Vektorové molekuly	144
13.4. Štěpení DNA, restriční endonukleázy	147
13.5. Klonování pomocí plazmidu	149
13.6. Knihovny klonů	150
13.7. Genové inženýrství, transgenóze, geneticky modifikované organismy	151
13.8. Genová terapie	153
14. Hybridizační metody	155
14.1. Úvod do problematiky hybridizace nukleových kyselin	155
14.2. Sondy pro hybridizaci	156
14.3. Značení sond	156
14.4. Základní metody molekulární hybridizace	158
14.4.1. Southernův přenos (Southern blotting)	159
14.4.2. Northern blotting	160
14.4.3. Tečková (dot-blot) a štěrbínová (slot-blot) hybridizace	160
14.4.4. Alelově specifická hybridizace	161

14.5. Hybridizace <i>in situ</i>	161
15. Molekulární cytogenetika	163
15.1. Úvod do molekulární cytogenetiky	163
15.2. Indikace molekulárně cytogenetického vyšetření	163
15.3. Sondy k molekulárně cytogenetickému vyšetření	164
15.4. Základní protokol FISH	165
15.5. Výhody a nevýhody molekulárně cytogenetické analýzy metodou FISH	166
15.6. Moderní modifikace metody FISH	167
15.6.1. Mnohobarevná FISH (M-FISH) a spektrální karyotypizace (SKY)	167
15.6.2. Mnohobarevné pruhování (M-BAND)	168
15.6.3. Komparativní genomová hybridizace (CGH)	168
15.6.4. FISH na vlákne DNA (<i>fiber FISH</i>)	169
15.7. Zápis výsledků molekulárně cytogenetických vyšetření	169
15.7.1. Příklad 1 – nález aneuploidie	170
15.7.2. Příklad 2 – nález submikroskopické delece	170
15.7.3. Příklad 3 – vyloučení submikroskopické delece	170
15.7.4. Příklad 4 – identifikace původu marker chromozomu malovací sondou	171
16. Kombinace hybridizačních a amplifikačních metod, PCR <i>in situ</i>	173
16.1. Metoda PRINS	173
16.2. PCR <i>in situ</i>	173
16.3. Kvantitativní PCR v reálném čase (<i>real-time PCR</i>)	174
16.4. Další možnosti kombinace hybridizačních a amplifikačních metod	174
17. Genové čipy	177
17.1. Úvod do problematiky	177
17.2. Pasivní biočipy	177
17.3. Aktivní biočipy	177
17.4. Význam a využití genových čipů	178
18. Struktura lidského genomu a jeho mapování	179
18.1. Genová vazba a genetické mapování	179
18.2. Cytologické a fyzikální mapy genomu	180
18.3. Projekt lidského genomu	180
18.4. Typy sekvencí v lidském genomu	181
18.5. Další perspektivy studia lidského genomu, genomika a příbuzné disciplíny	182
19. Polymorfismy DNA a jejich využití	185
19.1. Úvod do problematiky	185
19.2. Mutace a polymorfismy v populaci	185
19.3. Molekulární podstata polymorfismů	187
19.4. DNA fingerprinting	187
20. Molekulárněbiologická diagnostika monogenních onemocnění	189
20.1. Úvod do DNA diagnostiky	189
20.2. Přímá DNA diagnostika	189
20.2.1. Přímá diagnostika mutace deltaF508 u cystické fibrózy	189
20.2.2. Přímá diagnostika srpkovité anémie	190
20.2.3. Další možnosti přímé DNA diagnostiky	191
20.3. Nepřímá DNA diagnostika	191
20.3.1. Využití a omezení nepřímé DNA diagnostiky	191
20.3.2. Informativita rodiny	192

21. Molekulární patologie nádorů, základy onkogenetiky	195
21.1. Úvod do problematiky	195
21.2. Karcinogeneze	195
21.3. Testování mutagenity a karcinogenity	195
21.4. Klasifikace mutací vedoucích ke vzniku a k progresi nádoru	196
21.5. Onkogeneticky významné geny	197
21.5.1. Protoonkogeny a onkogeny	197
21.5.2. Tumor supresorové geny	198
21.5.3. Geny řídící reparační mechanismy	199
21.6. Molekulárněbiologická diagnostika v onkogenetice	200
22. Etické a právní souvislosti DNA diagnostiky)	203
23. Přílohy	205
24. Seznam použité a doporučené literatury	217

Učebnice obsahuje 240 stran, z toho 100 stran je věnováno základním principům molekulární biologie a 140 stran je věnováno aplikacím molekulární biologie v medicíně. Učebnice je určena pro studenty lékařských fakult, kteří se zabývají molekulární biologickou diagnostikou. Učebnice je určena pro studenty lékařských fakult, kteří se zabývají molekulární biologickou diagnostikou. Učebnice je určena pro studenty lékařských fakult, kteří se zabývají molekulární biologickou diagnostikou.

Učebnice obsahuje 240 stran, z toho 100 stran je věnováno základním principům molekulární biologie a 140 stran je věnováno aplikacím molekulární biologie v medicíně. Učebnice je určena pro studenty lékařských fakult, kteří se zabývají molekulární biologickou diagnostikou. Učebnice je určena pro studenty lékařských fakult, kteří se zabývají molekulární biologickou diagnostikou. Učebnice je určena pro studenty lékařských fakult, kteří se zabývají molekulární biologickou diagnostikou.

Vzhledem k tomu, že učebnice bude využívat na různých typech škol, rozčleňují text do dvou úrovní:

- Normální text učebnice jsou tištěny základní pasáže učiva, které je pro pochopení dané tématiky nezbytné. Registrují minimální množství, které by měl ovládat každý pracovník v molekulárně biologické laboratorii.
- Pelitkem jsou uvedeny rozvíjející pasáže, např. různé zajímavosti a doplňky. Tyto pasáže jsou určeny zejména zájemcům o prohloubení požadků, např. vysokoškolským studentům biomedicínských oborů, jimž učebnice přichází jako užitečný nástroj pro další pronikání do témat molekulární biologie.

Přejí všem čtenářům, aby v přečteném textu našli potřebné poznatky pro své studium, pro úspěšné zvládnutí testů či závěrečnou práci. Věřím, že jejich úsilí bude úspěšně uplněno. Je však třeba, abychom molekulární biologii nevnímali jen jako vědeckou disciplínu, ale i jako práci, která má svůj význam i pro naši společnost. Hluboké poznání sídelnosti a důležitosti molekulární biologie v naší společnosti, které tento obor poskytuje, umožňuje člověku sňatou se vztahem své existence k společnosti a tak ovládat vlastní život. Pokud budeme při své práci v laboratorii vnímat i tento „člověk-mír“ aspekt, nebude naše práce zbytečná a samoúčelná.

S plněním mnoha úspěchů

Eduard Kočířek
8. 7. 2006