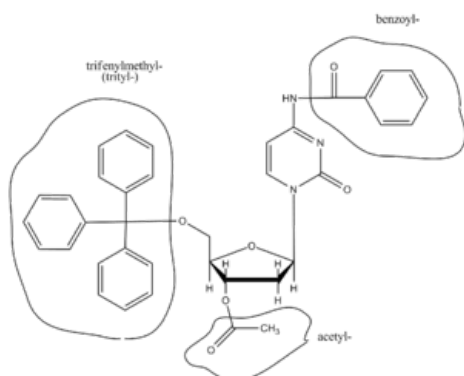


Syntéza umělé DNA

Potřebný řetězec DNA lze připravit různým způsobem. Jsou již k dispozici dokonce **automatizované postupy**, jak syntetizovat DNA o žádané sekvenci z jednotlivých nukleotidů.

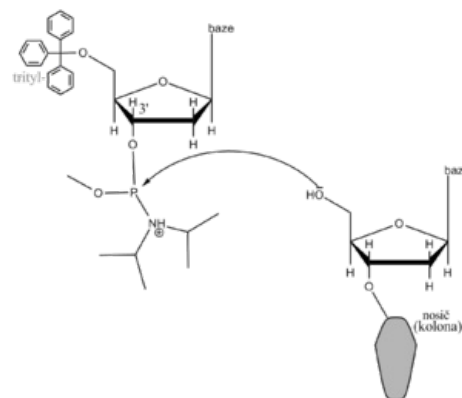
Základním principem je potlačit na nukleotidech reaktivitu 3'-OH, 5'-OH a případně i -NH₂ skupin, senzitivních na kondenzující agens. Jejich ochrany se docílí navázáním vhodných organických skupin, např. tritylové, benzoylové, acetylové apod. Tyto skupiny je možné snadno odstranit např. změnou pH, čímž se reaktivní skupina nukleotidu odkryje pro bezprostřední reakci.



Protektce reaktivních skupin při syntéze umělého oligonukleotidu

Typickým příkladem je toto uspořádání: na kolonu se skleněným nosičem (drobné částice) je navázán první nukleotid, na němž jsou popsáním způsobem chráněny všechny skupiny kromě 5'-OH. Kolona je pak promývána roztokem dalšího, aktivovaného nukleotidu. Bývá to **deoxyribonukleosid 3'-fosfoamidit**, který se naváže na 5'-OH fixovaného nukleotidu. Po oxidaci trojmocného fosforu na pětímocný vzniká fosfodiesterová vazba a dinukleotid.

Odstraní se protektce na jeho 5'-konci a kolona se promývá dalším aktivovaným nukleotidem atd. Vhodnými podmínkami se pak odstraní všechny protektivní skupiny a methyly z fosfátů, a uvolní se z kolony hotový oligonukleotid.



Vzorec fosfoamiditu (5'-OH je blokována tritylem) a jeho navázání na rostoucí polynukleotid, fixovaný na nosič v koloně.

Popis postupu je značně zjednodušen, syntéza oligonukleotidu trvá hodiny. Rychlost procesu nesnese srovnání s rychlostí přirozené biosyntézy (např. v *E. coli* 16 000 bazí za minutu). Nicméně možnost vytvořit DNA o jakékoli primární struktuře je nesmírným pokrokem. Syntetické fragmenty DNA lze enzymově spojovat v delší řetězce umělé DNA.

Odkazy

Související články

- Biochemie genového inženýrství
- Štěpení DNA
- Dělení fragmentů DNA elektroforézou
- Identifikace restrikčních fragmentů
- Pomnožení a exprese izolovaného genu v hostitelské buňce

Použitá literatura

- ŠTÍPEK, Stanislav. *Stručná biochemie : uchování a exprese genetické informace*. 1. vydání. Praha : Medprint, 1998. ISBN 80-902036-2-0.