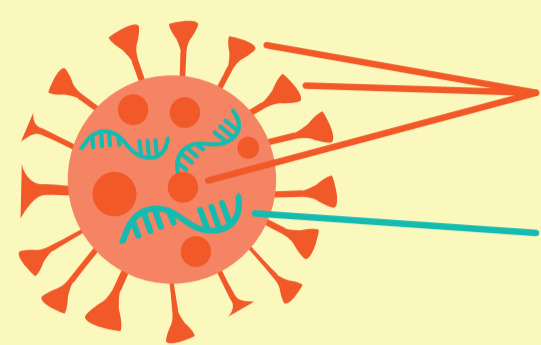


# Testy na SARS-CoV-2: PCR TEST

## PRINCIP TESTU



virové proteiny  
ANTIGENY

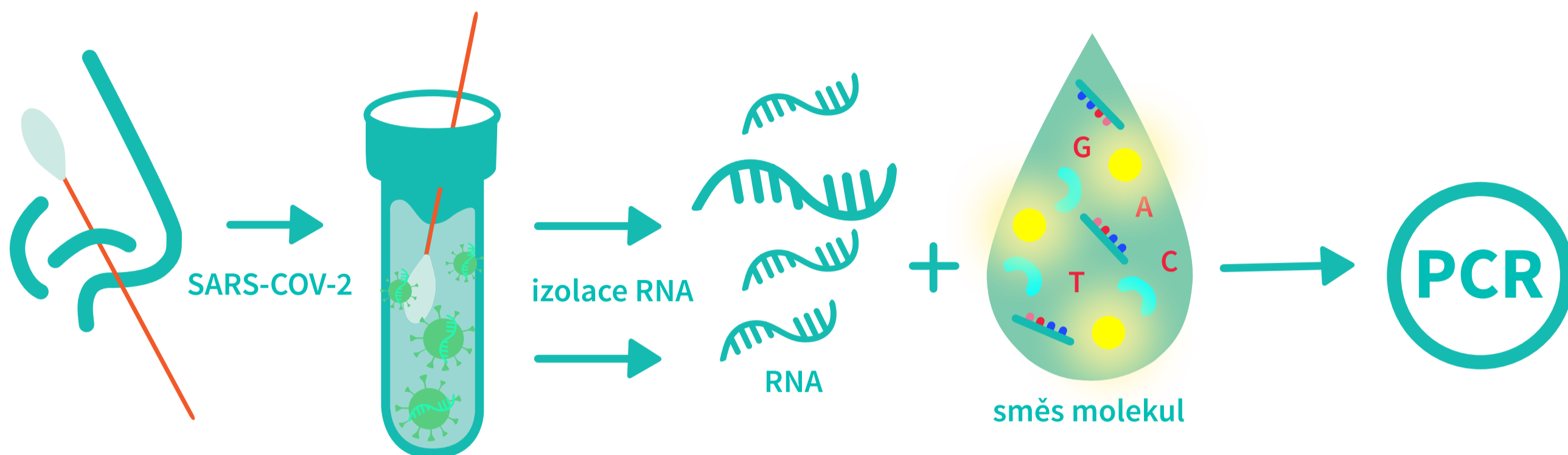
genetická informace  
RNA

Pro PCR (polymerasová řetězová reakce, z angl. **Polymerase Chain Reaction**) test je základem sada molekul, která je připravena na míru genetické informace SARS-CoV-2.

Pokud se ve vzorku genetická informace viru nachází, dojde díky těmto molekulám v průběhu PCR k jejímu namnožení a označení fluorescenční (svítící) značkou, jejíž signál je úměrný množství produktu PCR. Pokud se virová genetická informace ve vzorku nenachází, nedojde k namnožení (genetická informace jiných virů a organismů je sadou ignorována) a signál není zaznamenán. Výsledek testu je pozitivní, pokud vzorek „svítí“.

## STANOVENÍ GENETICKÉ INFORMACE VIRU SARS-CoV-2

Po stěru ze sliznice je nejprve virus ve vzorku (pokud je přítomný) inaktivován **i** a následně je ze vzorku izolována veškerá RNA. K té se přidá směs molekul, které zajišťují průběh polymerázové řetězové reakce (PCR).



**i** Inaktivace viru slouží k tomu, aby byl vzorek neinfekční a snížilo se riziko nákazy pracovníků laboratoře. Postup záleží na laboratoři, většinou se inaktivuje teplem.

**Primery** (krátké úseky DNA připravené tak, aby „poznaly“ a navázaly se na konkrétní místo SARS-Cov-2 genetické informace)



**Stavební molekuly a enzymy** potřebné pro výrobu nového vlákna DNA (pro průběh PCR reakce)



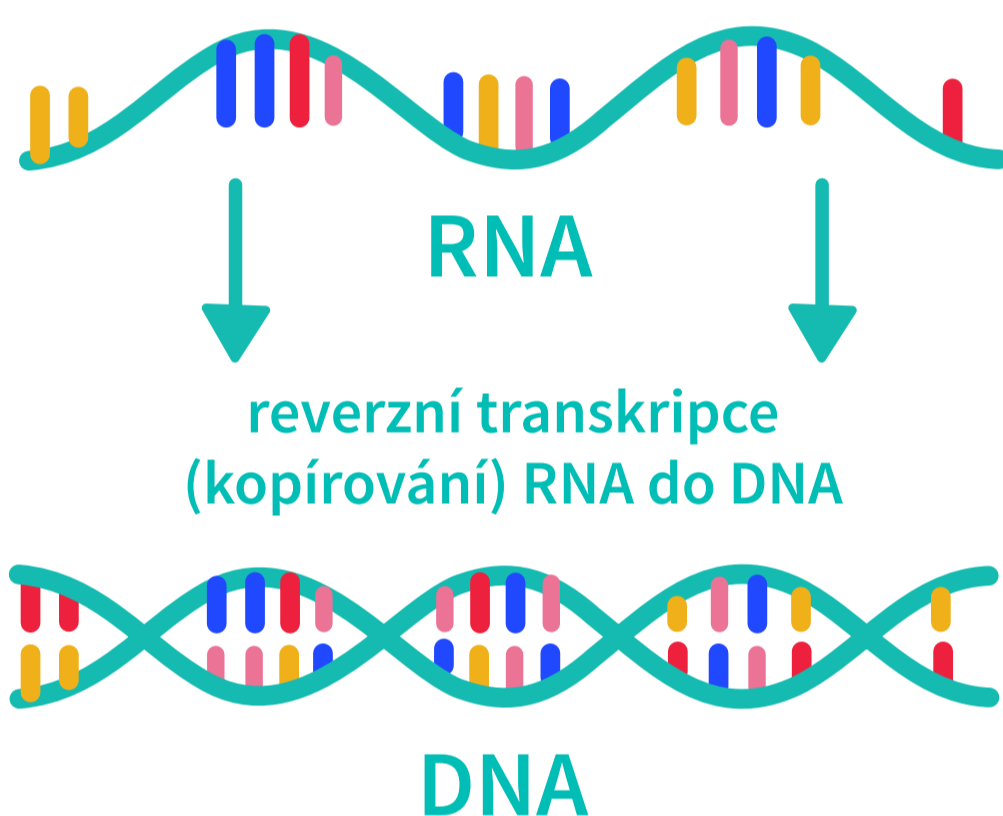
**Fluorescenční značka** poskytuje signál pro měření množství vznikajícího produktu (to odpovídá původnímu množství SARS-Cov-2 genetické informace ve vzorku)



## PRINCIP PCR REAKCE

**1** Na rozdíl od organismů s genetickou informací uloženou v DNA tvořené dvěma řetězci, má SARS-Cov-2 tuto informaci uloženou v jednořetězcové molekule RNA.

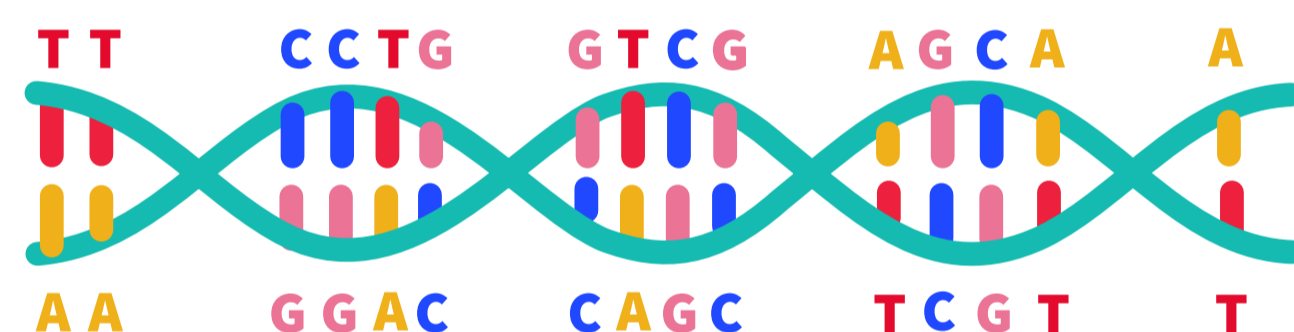
Pro PCR reakci je však nutné pracovat s dvouřetězcovou molekulou DNA. Proto je prvním krokem reakce tzv. reverzní transkripce, kdy je jednořetězcová RNA „kopírována“ do dvouřetězcové molekuly DNA.



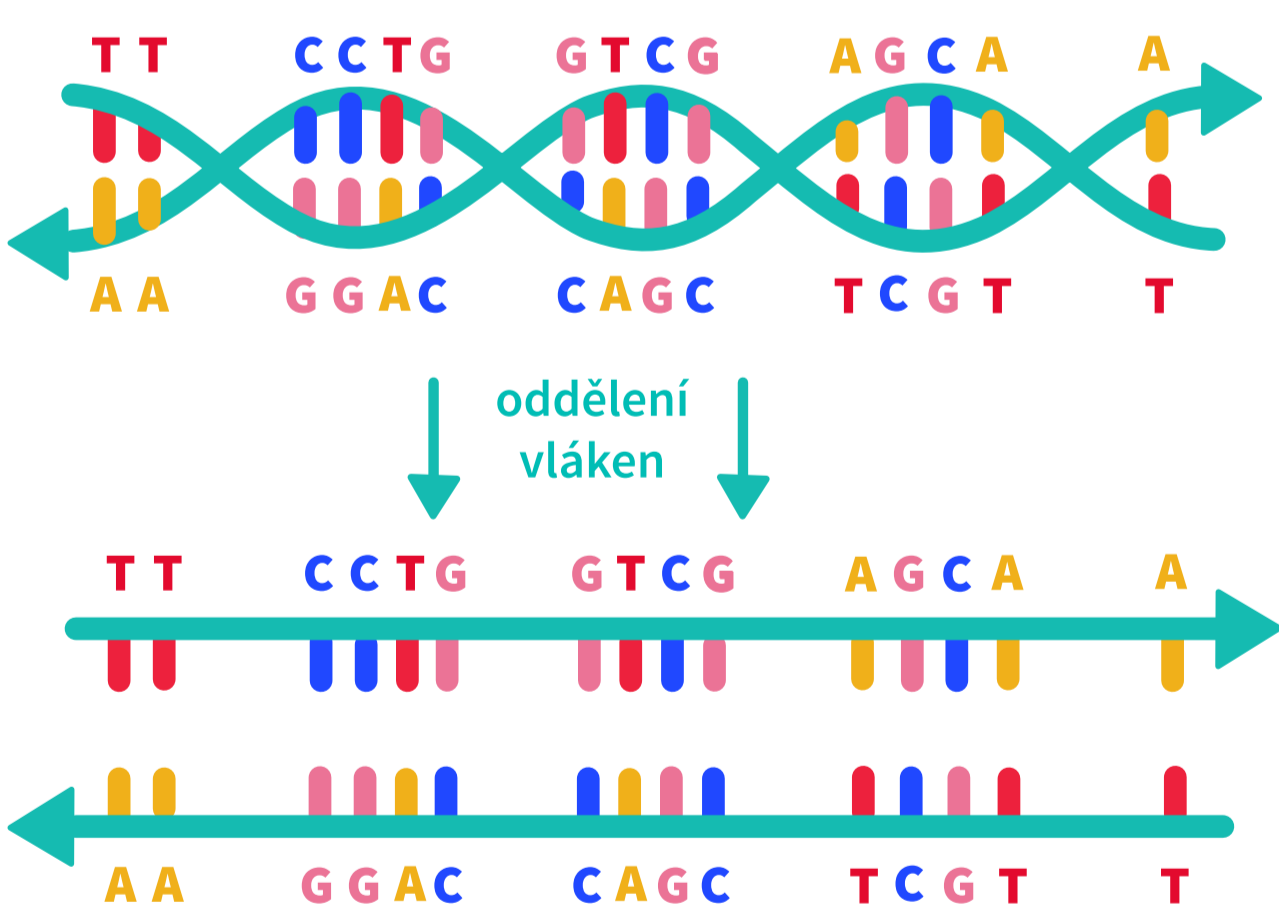
**2** Princip PCR spočívá v opakovaném kopírování genetické informace. Dojde tak k jejímu masivnímu pomnožení na měřitelné množství.

Informace v nukleových kyselinách (DNA i RNA) je tvořena čtyřmi stavebními molekulami (v DNA je značíme písmeny **A, T, C, G**). **A** vždy tvoří pár s **T** a **C** tvoří pár s **G** (vytváří vazbu – zapadají do sebe).

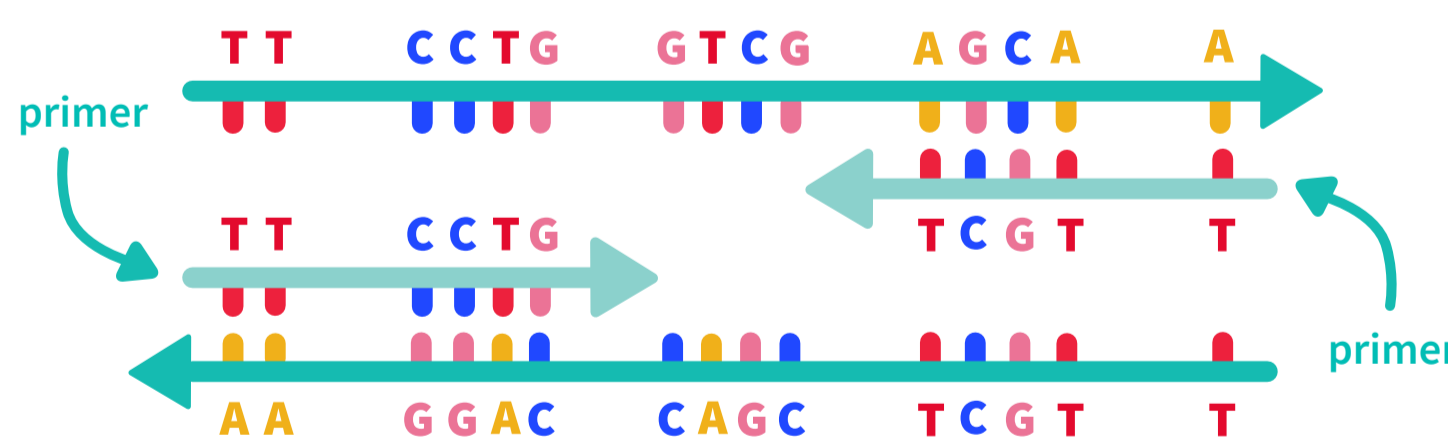
Díky těmto vzájemným vazbám drží dva řetězce DNA pohromadě.



**3** Při kopírování genetické informace se přechodně vazby mezi „písmeny“ přeruší: řetězce se oddělí (lze toho dosáhnout zahřátím).

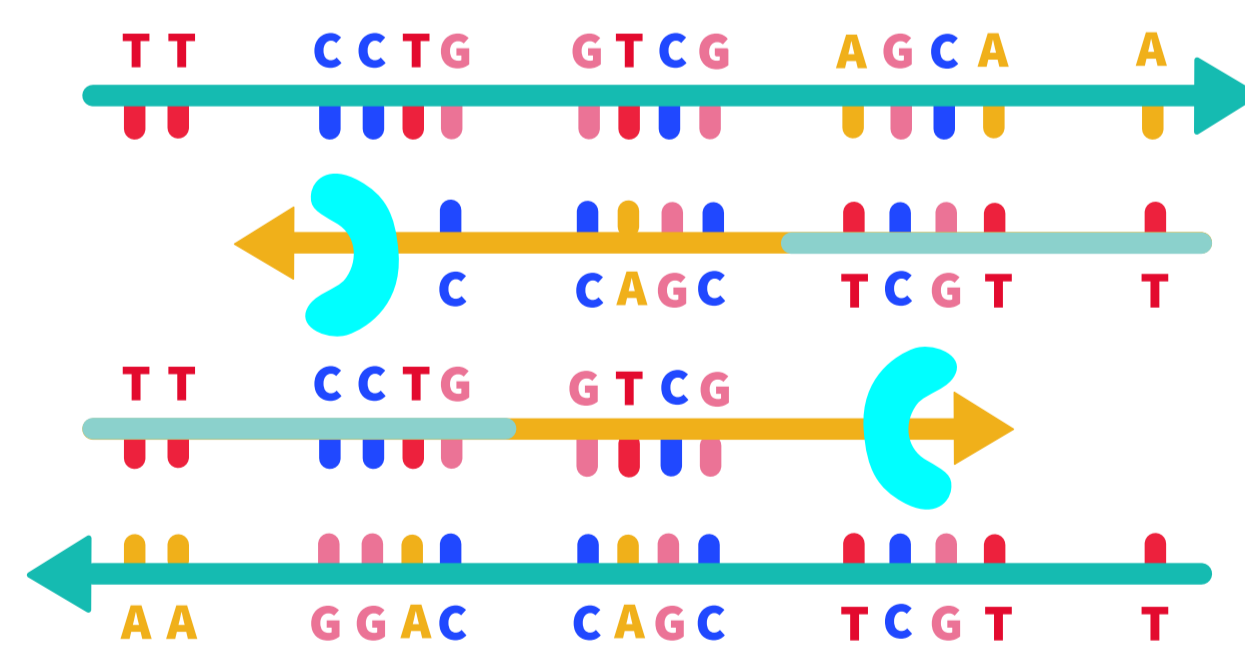


**4** Pro začátek kopírování řetězců po jejich oddělení jsou nutné tzv. **primery** (krátké úseky DNA), které jsou připravené tak, aby rozpoznaly pouze určitá místa na řetězci DNA na základě kombinace písmen přítomných jen v genetické informaci SARS-CoV-2. Tam se naváží a určují tak místo, odkud budou řetězce kopírovány (bez nich kopírování nezačne).



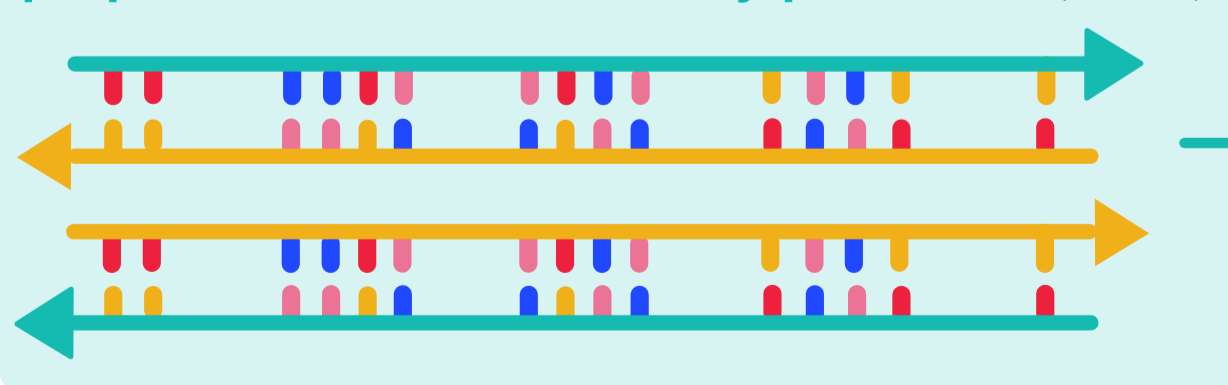
Vznik produktu je tedy důkazem, že je přítomna virová nukleová kyselina, kterou primer specificky rozpoznal.

**5** Oba řetězce jsou pomocí **enzymu** kopírovány do dalších vláken (postupně vznikající nová vlákna vyznačena žlutě).

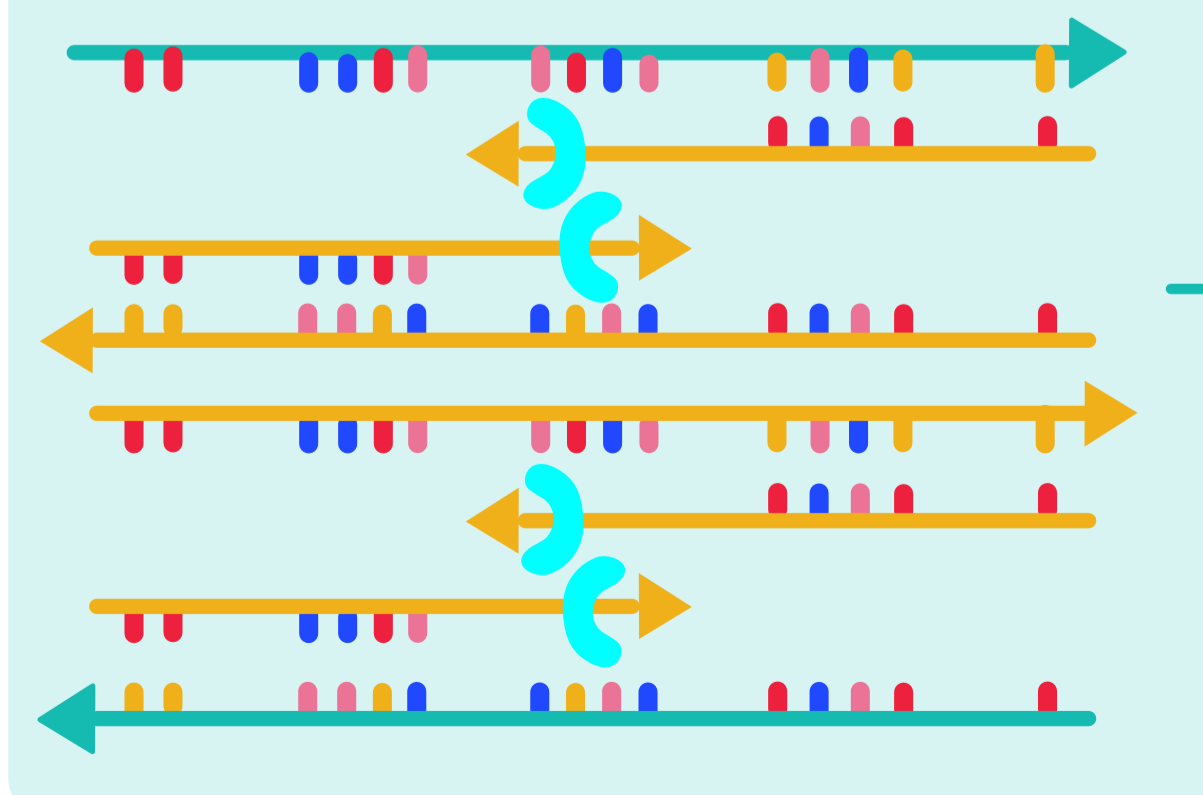


**6** Při každém cyklu PCR narůstá množství produktu (DNA) exponenciálně – proto je metoda velmi citlivá.

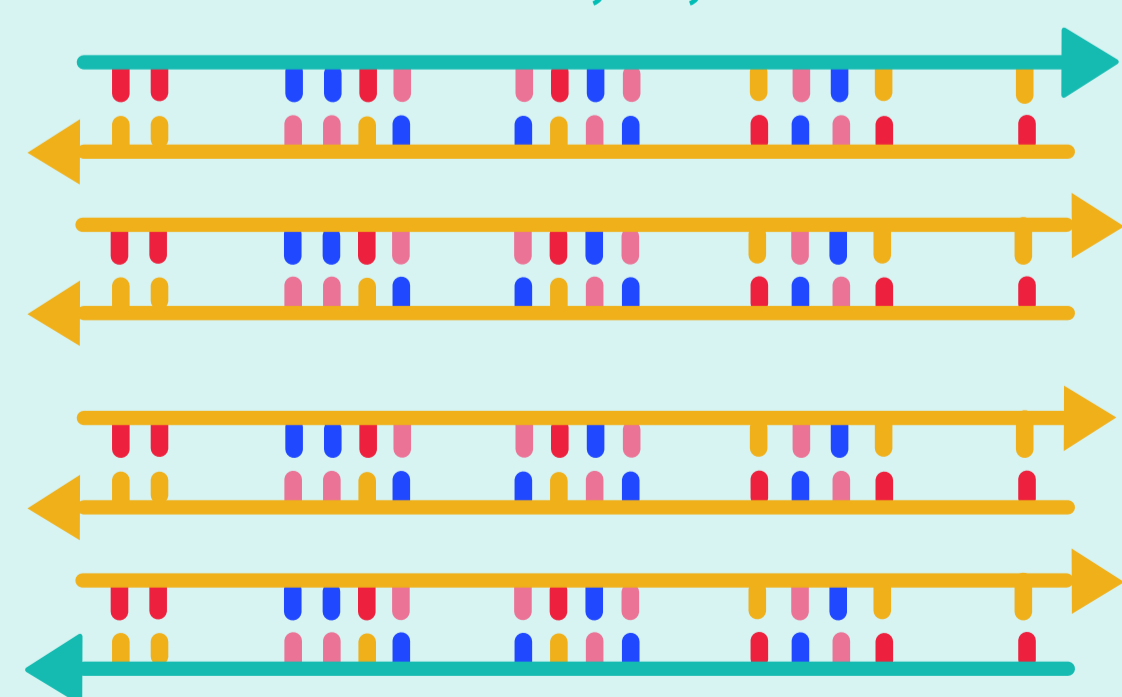
po prvním kole: 2 molekuly produktu (DNA)



průběh druhého kola



po druhém kole: 4 molekuly produktu (DNA) - v dalších 8, 16, 32 atd.



Každý nový řetězec poskytuje měřitelný signál díky fluorescentní značce, která „svítí“ pouze v přítomnosti produktu. Čím vyšší signál, tím více molekul RNA bylo v původním vzorku.

Po n-tém kole vznikne 2<sup>n</sup> kopií DNA. Při 30 kolech PCR vznikne z jedné molekuly DNA 1 073 741 824 kopií.