

# Reverzní transkripce



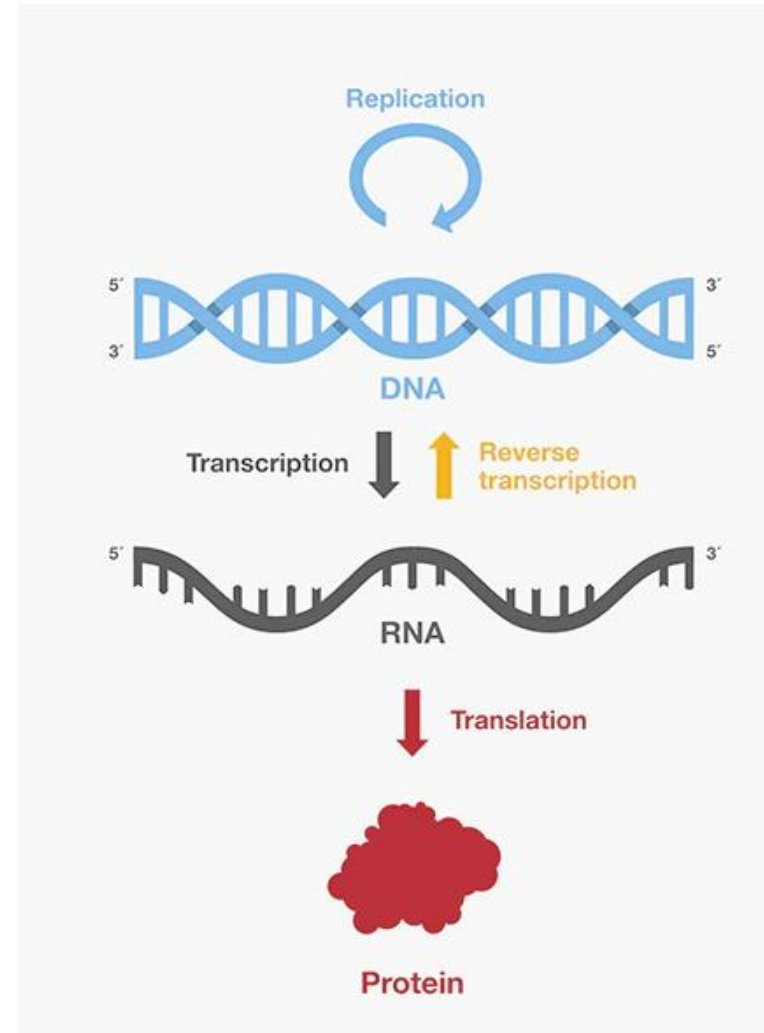
# Obsah

- Reverzní transkripce a její objev
- Nobelova cena za fyziologii a lékařství
- Využití a výskyt
- RT-qPCR
- cDNA knihovny
- High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit
- TaqMan Advanced miRNA Assays



# Reverzní transkripce

- Narušila centrální dogma molekulární biologie
- Reverzní transkriptázy



# Nobelova cena za fyziologii a lékařství, 1975

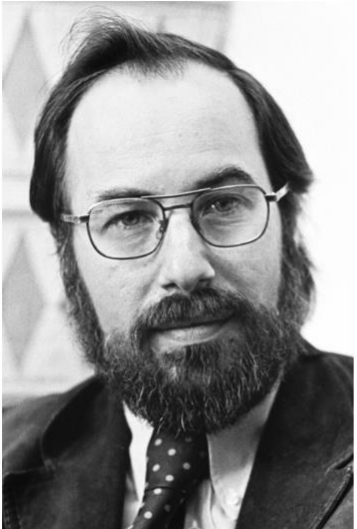


Photo from the Nobel  
Foundation archive.  
David Baltimore  
Prize share: 1/3



Photo from the Nobel  
Foundation archive.  
Renato Dulbecco  
Prize share: 1/3



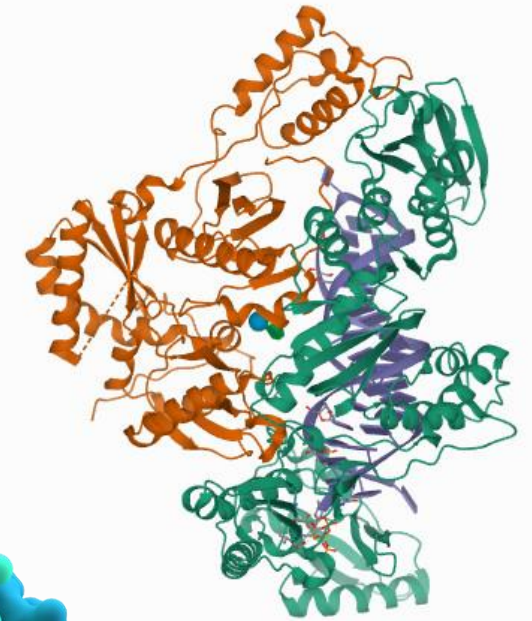
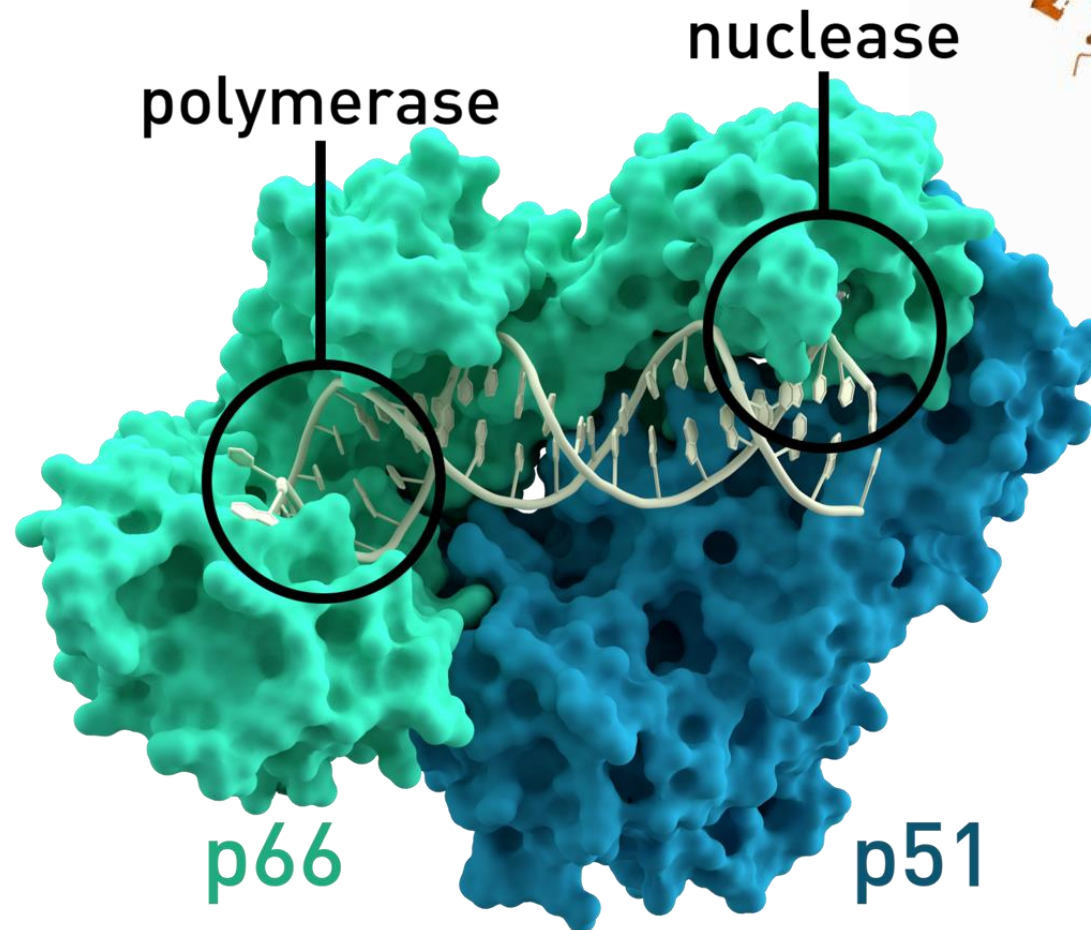
Photo from the Nobel  
Foundation archive.  
Howard Martin Temin  
Prize share: 1/3

- D. Baltimore – zkoumal 2 onkogenní viry-virus myší leukémie a virus Rousova sarkomu, objevil reverz. transkriptázu a retroviry
- H. Temin – zkoumal virus Rousova sarkomu, popsal reverzní transkripci a izoloval reverz. transkriptázu
- R. Dulbecco – zkoumal onkoviry, učil H. Temina



# Využití a výskyt

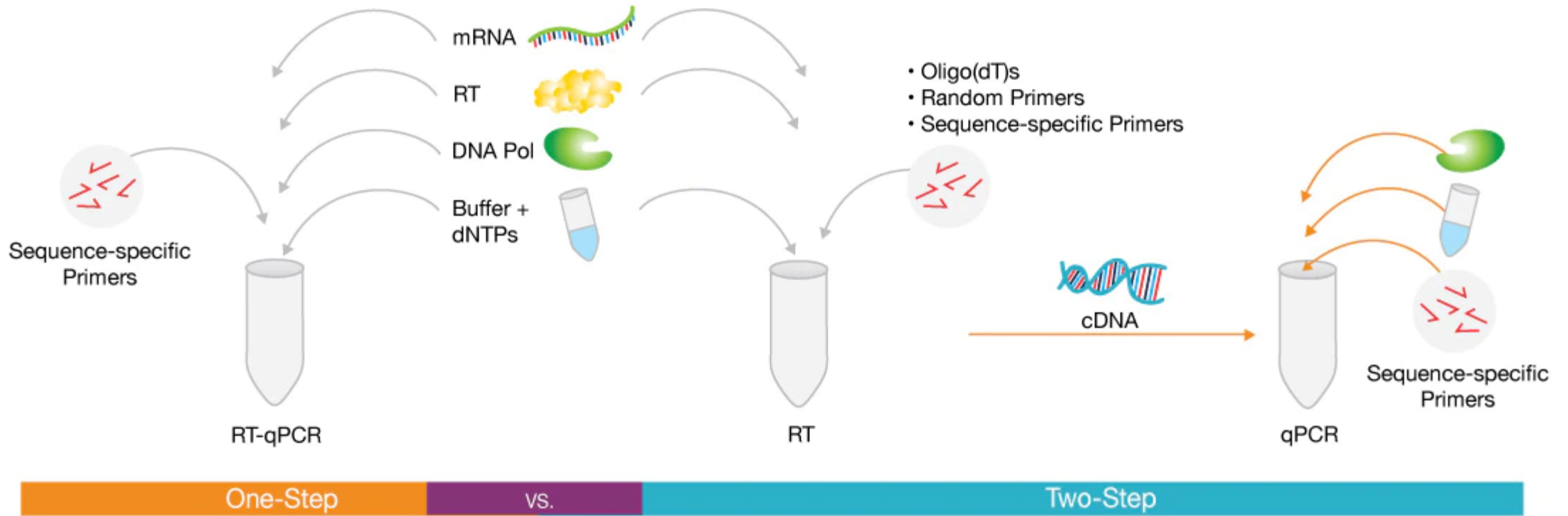
- Studium RNA
  - cDNA knihovny
  - RT-qPCR
- Viry
- Bakterie
- Živočichové a rostliny

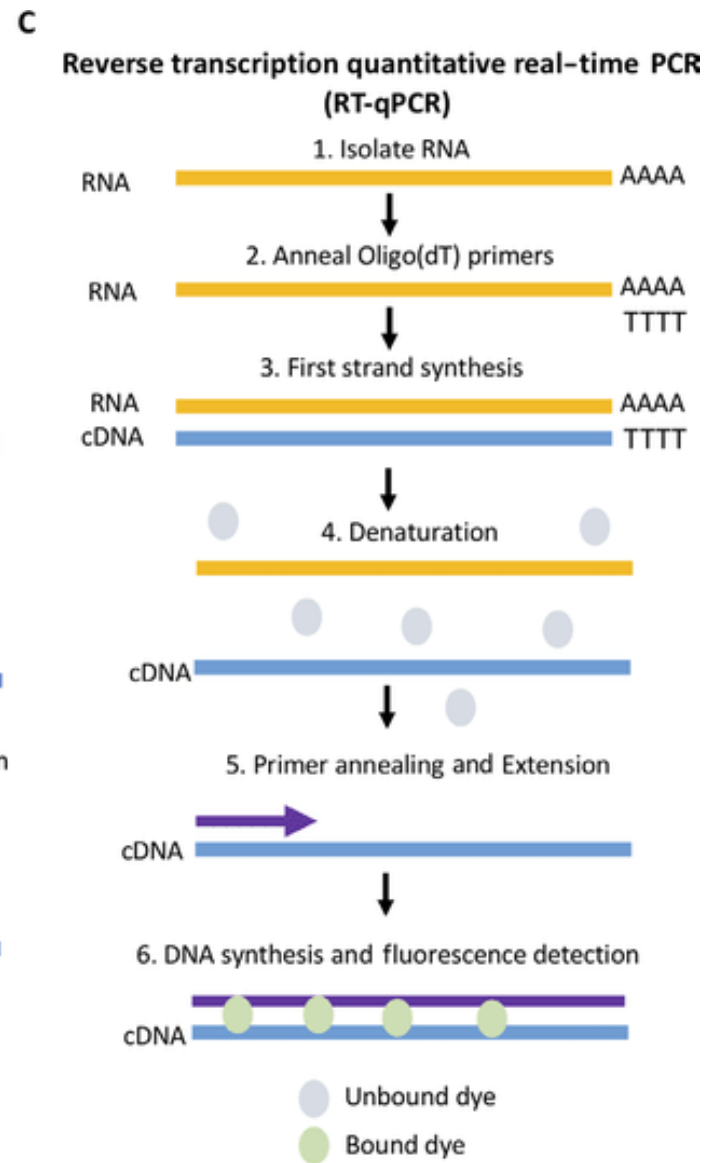
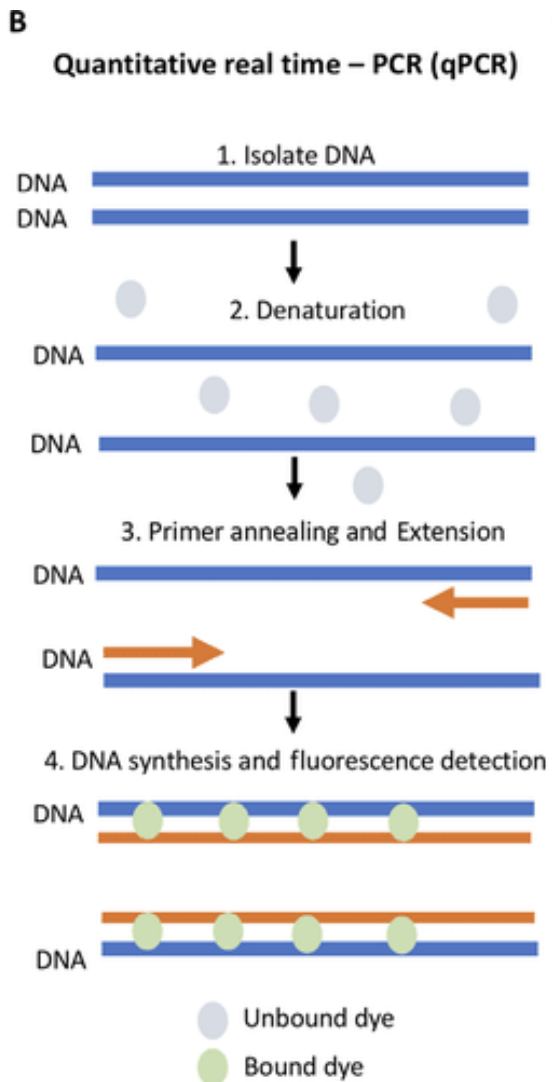
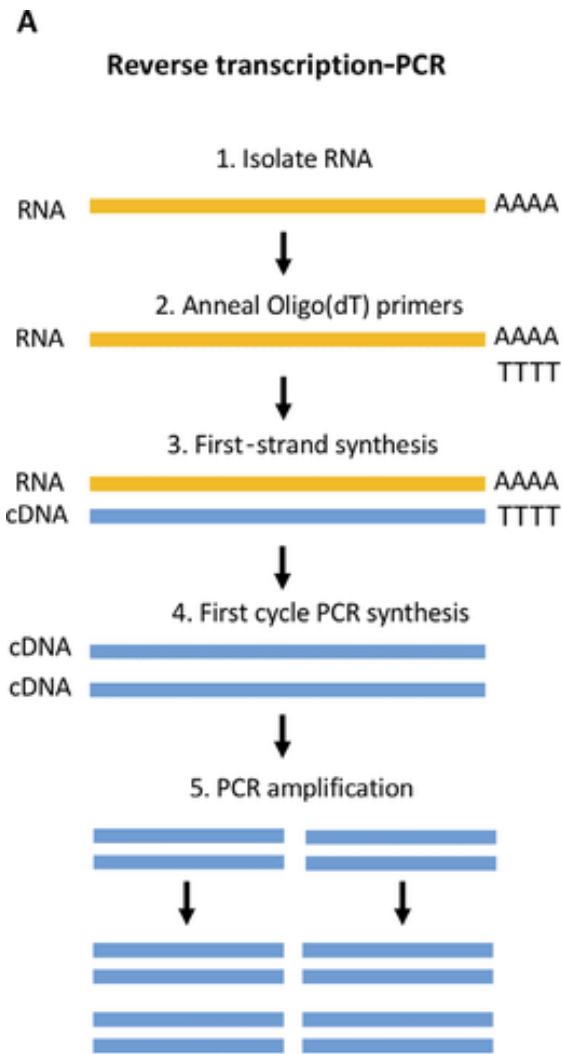


RT viru HIV



# RT-qPCR





# cDNA knihovny

- Studium RNA – porozumění aktivně exprimovaným genům a jejich funkcím
- cDNA jako templát pro microarraye a sekvenování
- Reprodukce genetické informace bez nekódujících oblastí
- Exprese eukaryotických genů v prokaryotických organismech
- Funkční klonování pro identifikaci genů na základě proteinu





# High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit Thermo Fisher Scientific

- Schéma náhodných primerů
- mRNA a rRNA
- 20 ng - 2 µg RNA
- ss cDNA vhodná ke qPCR i krátkodobému či dlouhodobému uskladnění



# TaqMan Advanced miRNA Assays Applied Biosystems



- 1 – 10 ng RNA nebo 2  $\mu$ l plazmy či séra
- Specifita-jen zralé miRNA a rozlišuje mezi homologními miRNA
- Senzitivita-60 kopií vložené miRNA



	<b>TaqMan miRNA</b>	<b>TaqMan Advanced miRNA</b>
<b>RT chemistry</b>	miRNA- specific RT	Universal RT
<b>Throughput</b>	Best for 1-10 targets	Best for > 10 targets
<b>Coverage</b>	205 species available, coverage for miRbase v.21	Focused on human miRNAs; coverage for miRbase v.21



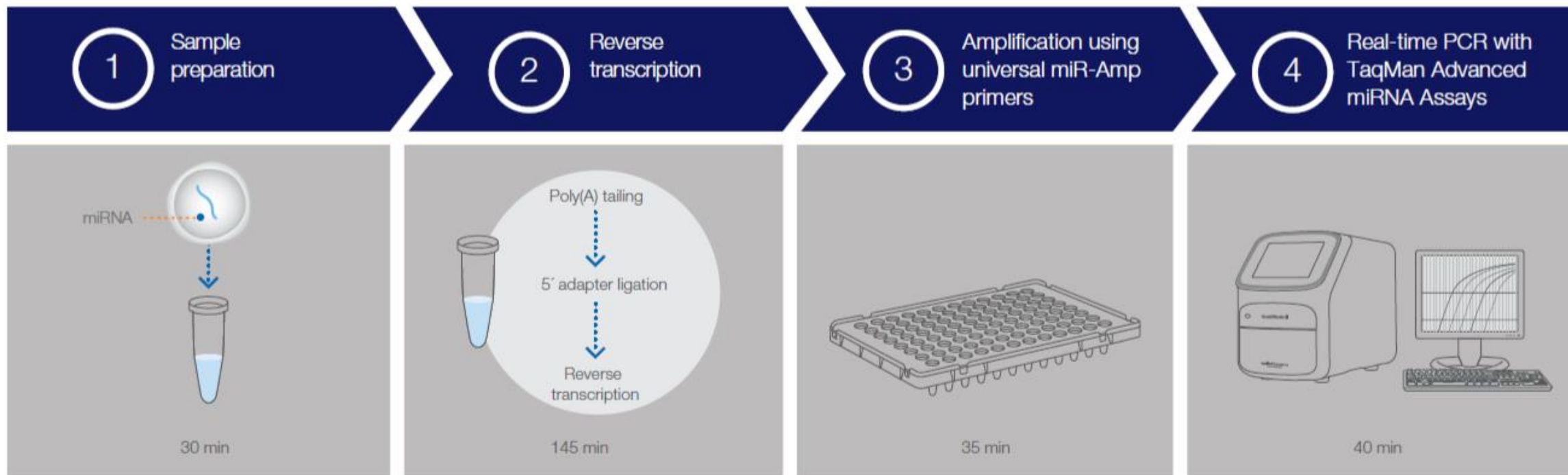


Figure 1. The TaqMan Advanced miRNA Assay workflow.

<https://www.youtube.com/watch?v=bsYQowakt0E>

