

## **Sylabus praktických cvičení k předmětu „Speciální metody analýzy mikroorganismů I.“**

### **Charakteristika bakterií z izolovaných kolonií metodou PCR a sekvenováním**

#### Cvičení č. 1:

- a) Příprava bakteriálních lyzátů z kultur čeledi *Pasteurellaceae* (*Pasteurella*, *Mannheimia*, *Actinobacillus*, *Moraxella*)
- b) Amplifikace tří specifických genů

#### Cvičení č. 2:

- a) Elektroforéza výsledku, purifikace PCR produktů

#### Cvičení č. 3:

- a) Elektroforéza po purifikaci, kvantifikace a příprava vzorku pro odeslání k sekvenování
- b) Počítačová analýza výsledku sekvenování

### **Izolace bakteriální DNA z tekuté kultury, charakteristika izolátu**

#### Cvičení č. 4:

- a) Izolace genomové DNA z bakteriální kultury *Escherichia coli*
- b) Stanovení koncentrace a čistoty DNA spektrofotometricky

### **Detekce bakteriální DNA v biologickém materiálu**

#### Cvičení č. 5:

- a) Izolace genomové DNA ze vzorku s obsahem *Chlamydia trachomatis*
- b) Orientační stanovení koncentrace a čistoty DNA spektrofotometricky
- c) Polymerázová řetězová reakce systémem end-point

#### Cvičení č. 6:

- a) Vyhodnocení cvičení č. 4 elektroforézou
- b) Real-time PCR pro *Chlamydia trachomatis*

### **Izolace DNA z kvasinek, PCR a štěpení PCR produktu (Rotková)**

1. Izolace DNA z kvasinek (fenol)
2. Kontrola DNA elektroforetický, měření koncentrace DNA (Nanodrop)
3. PCR ITS regionu
4. Elektroforéza PCR produktů
5. Štěpení PCR produktu enzymem *HaeIII*
6. Elektroforéza štěpení

### **Bakterie – Bartoš, Rotková; Kvasinky – Rotková**

21. února: kvasinky cvičení 1

28. února: kvasinky cvičení 2+3

7. března: kvasinky cvičení 4

21. března: kvasinky cvičení 5

28. března: kvasinky cvičení 6

4. dubna: bakterie cvičení 1

11. dubna: bakterie cvičení 2

18. dubna: bakterie cvičení 3

25. dubna: bakterie cvičení 4

2. května: bakterie cvičení 5

9. května: bakterie cvičení 6

16. května – odevzdání protokolů