**Sylabus praktických cvičení k předmětu**

**„Speciální metody analýzy mikroorganismů I.“**

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

Cvičení č. 1:

1. Příprava bakteriálních lyzátů z kultur čeledi *Pasteurellaceae (*Pasteurella, Mannheimia, Actinobacillus, Moraxella)
2. Amplifikace tří specifických genů

Cvičení č. 2:

1. Elektroforéza výsledku, purifikace PCR produktů

Cvičení č. 3:

1. Elektroforéza po purifikaci, kvantifikace a příprava vzorku pro odeslání k sekvenování
2. Počítačová analýza výsledku sekvenování

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

Cvičení č. 4:

1. Izolace genomové DNA z bakteriální kultury *Escherichia coli*
2. Stanovení koncentrace a čistoty DNA spektrofotometricky

**Detekce bakteriální DNA v biologickém materiálu**

Cvičení č. 5:

1. Izolace genomové DNA ze vzorku s obsahem *Chlamydia trachomatis*
2. Orientační stanovení koncentrace a čistoty DNA spektrofotometricky
3. Polymerázová řetězová reakce systémem end-point

Cvičení č. 6:

1. Vyhodnocení cvičení č. 4 elektroforézou
2. 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 elektroforeticky, měření koncentrace DNA (Nanodrop)
3. PCR ITS regionu
4. Elektroforéza PCR produktů
5. Štěpení PCR produktu enzymem *Hae*III
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*