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 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