

## **Název kurzu: Bi 8312 Praktikum z molekulární biologie virů**

**Vyučující: Mgr. Tibor Botka, Ph.D., doc. RNDr. Vladislava Růžičková, CSc.**

**Forma praktika:** blokové cvičení - probíhá v zápočtovém týdnu jarního semestru od **13. 5. do 17. 5. 2019.**

Studenti pracují ve skupinách stanovených vyučujícími a dbají pokynů bezpečnosti práce.

1. Harmonogram praktika a návody jednotlivých úloh budou k dispozici na IS. **Na praktikum přineste s sebou vytisknuté návody!**
2. Harmonogram výuky je upravován dle průběhu a úspěšnosti experimentů.
3. Vlastní experimenty budou zahájeny v pondělí a pokračují následující dny.
4. Výsledky studenti prezentují formou protokolů. Úlohy řešené ve skupině se odevzdávají za celou skupinu.
5. Zápočet bude udělen vyučujícími po obdržení všech protokolů.

## Harmonogram pokusů ve cvičení z molekulární biologie virů 2019

Den	Čas (hod)	Řešené úkoly
Pondělí 13.5.	Od: 9:00	<p>Teorie: seznámení s experimenty, bezpečnost práce.</p> <p><b>1a) Sledování průběhu indukce profága (cca 4 h):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- indukce mitomycinem C, sledování indukce pomocí destičkového spektrofotometru Tecan Infinite</li> <li>- stanovení PFU a CPM</li> </ul> <p><b>2a) Izolace mutant polyvalentního fága 812 a 812h1 (cca 1 h):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- vyšetí fága 812 a 812h1 na rezistentní kmeny</li> </ul>
Úterý 14.5.	Od: 9:00	<p><b>2b) Izolace mutant polyvalentního fága 812 a 812h1 (cca 3 h):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- odpíchnutí plak, výpočet frekvence spontánních mutant, tvorba „minilyzátů“ a pomnožení fága na plotně, PCR</li> </ul> <p><b>3a) 1-stupňová růstová křivka fága 812 a 812h1 (cca 3 h):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- infekce kmene SA 812 a SA 1039 fágy 812 a 812h1.</li> <li>- odběry a zpracování vzorků</li> </ul>
Středa 15.5.	Od: 9:00	<p><b>2c) Izolace mutant polyvalentního fága 812 a 812h1 (cca 5 h):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- purifikace PCR produktu, sekvenace, smytí fág. mutant z misek a pomnožení do 50 ml</li> </ul> <p><b>3a) 1-stupňová růstová křivka fága 812 a 812h1 (cca 2 h):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- qPCR (LightCycler® 480)</li> </ul>
Čtvrtek 16.5.	Od: 9:00	<p><b>1a) Sledování průběhu indukce profága (cca 0,5 h):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- vyhodnocení experimentu</li> </ul> <p><b>2d) Izolace mutant polyvalentního fága 812 a 812h1 (cca 1 h):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- stanovení citlivosti kmenů rezistentních k fágům k izolovaným fágovým mutantům</li> </ul> <p><b>3b) 1-stupňová růstová křivka fága (cca 0,5 h):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- vyhodnocení</li> </ul> <p><b>4) Ultrafiltrace lyzátu fágové mutanty (cca 5 h):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- titr před a po ultrafiltraci a po zahuštění na amiconu</li> </ul>
Pátek 17.5.	Od: 9:00	<p><b>2d) Izolace mutant polyvalentního fága 812 a 812h1 (cca 2 h):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- vyhodnocení a bioinformatická analýza sekvenačních dat</li> </ul> <p><b>4) Ultrafiltrace lyzátu fágové mutanty (cca 0,5 h):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- vyhodnocení</li> </ul>