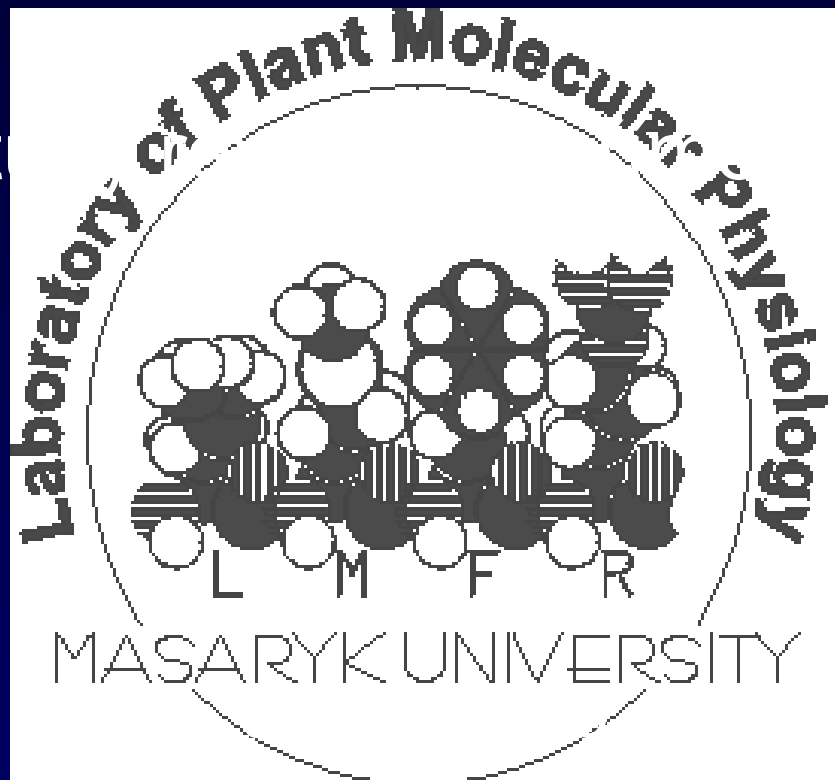


Základy genomiky

III. Příst

genetiky



Masarykova univerzita, Laboratoř funkční genomiky a pro
Laboratoř molekulární fyziologie rostlin



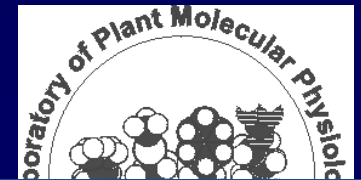
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Základy genomiky II.

■ Zdrojová literatura ke kapitole III:

- Plant Functional Genomics, ed. Erich Grotewold, 2003, Humana Press, Totowa, New Jersey
- Mello, C.C. and Conte Jr., D. (2004) Revealing the world of RNA interference. *Nature*, **431**, 338-342.
- Klinakis et al.. (2000) Genome-wide insertional mutagenesis in human cells by the *Drosophila* mobile element *Minos*. *EMBO Rep*, **1**, 416.
- Hansen et al.. (2003) A large-scale, gene-driven mutagenesis approach for the functional analysis of the mouse genome. *PNAS*, **100**, 9918.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

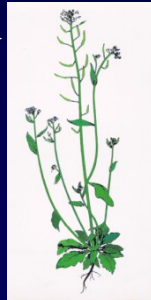
Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Přístupy „klasické“ genetiky *versus* „reverzně genetický“ přístup ve funkční genomice *Arabidopsis thaliana*

NÁHODNÁ MUTAGENEZE

„Přímě genetický“ přístup

EMS



1. IDENTIFIKACE FENOTYPU
2. GENETICKÉ MAPOVÁNÍ
3. GENOVÁ IDENTIFIKACE
-poziční klonování

„Reverzně genetický“ přístup

T-DNA

1. IZOLACE SEKVENČNĚ SPECIFICKÉHO MUTANTA
2. IDENTIFIKACE FENOTYPU
3. PRŮKAZ KAUZÁLNÍ SOUVISLOSTI MEZI INZERCÍ A FENOTYPEM

h x n

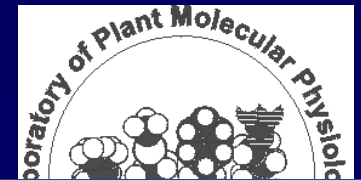
(retro)transposons



Genomika III.

Přístupy reverzní genetiky

- Metody identifikace sekvenčně specifických mutantů
 - příprava sbírky mutantů
 - vyhledávání sekvenčně specifických mutantů pomocí PCR
 - vyhledávání sekvenčně specifických mutantů v elektronických databázích
- Analýza fenotypu a potvrzení příčinné souvislosti mezi fenotypem a inzerční mutací
 - kosegregační analýza
 - identifikace nezávislé inzerční alely
 - využití nestabilních inzerčních mutagenů a izolace revertantních linií
- Umlčování genů pomocí RNAi



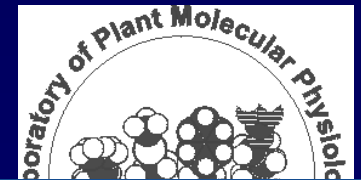
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Genomika III.

Přístupy reverzní genetiky

- Metody identifikace sekvenčně specifických mutantů
 - příprava sbírky mutantů



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Typy inzerčních mutagenů

- Mobilní elementy

- **autonomní transpozony (*En-1*)**

- obsahují gen pro transponázu, umožňující excizi a opětovné začlenění do genomu
 - na obou koncích obsahují krátké obrácené repetice, které jsou transponázou rozpoznávány

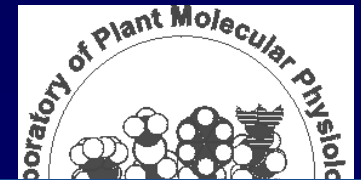
- Stabilní elementy

- **neautonomní transpozony (*dSpm*)**

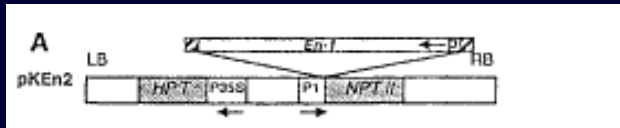
- mutant *En/Spm* transpozonu, který mutací v genu pro transponázu ztratil autonomii
 - může být aktivován křížením s linií nesoucí *En/Spm* transpozon

- **T-DNA**

- zcela stabilní, její inzerce však může vést k chromozomovým přestavbám (inverze, delece, transpozice)

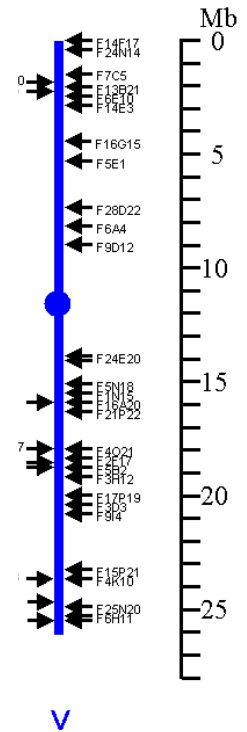
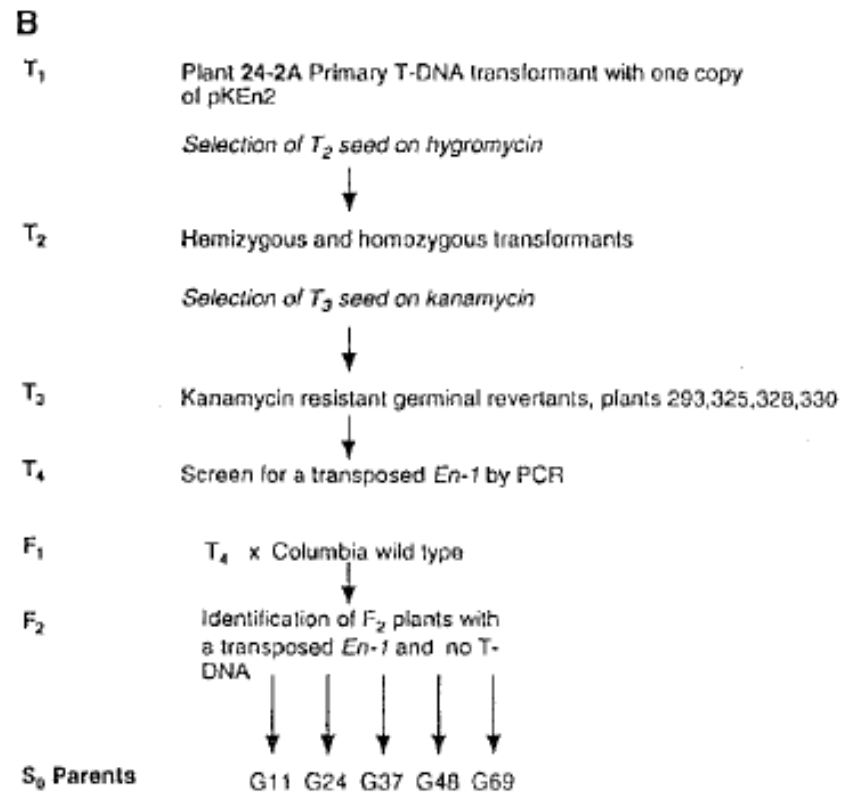
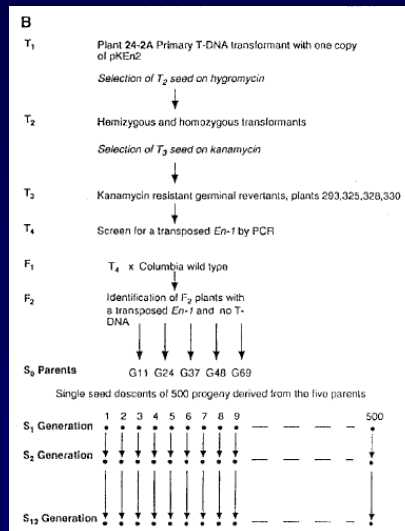


Vytváření knihoven inzerčních mutantů u rostlin



příprava transgenických rostlin

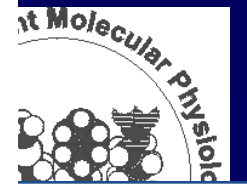
vytvoření populace mutantních jedinců



vyhledávání sekvenčně specifických mutantů pomocí PCR



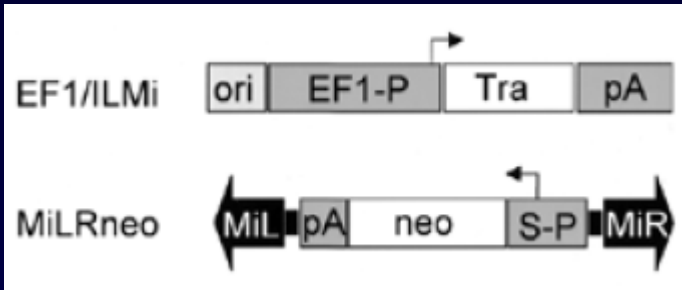
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



≡ VZDĚLÁVÁNÍ

tato prezentace je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

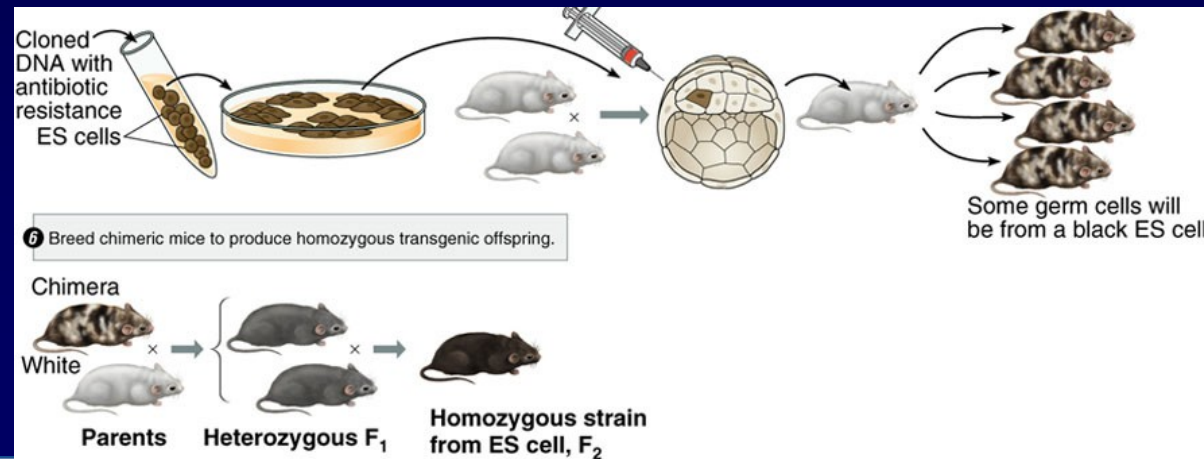
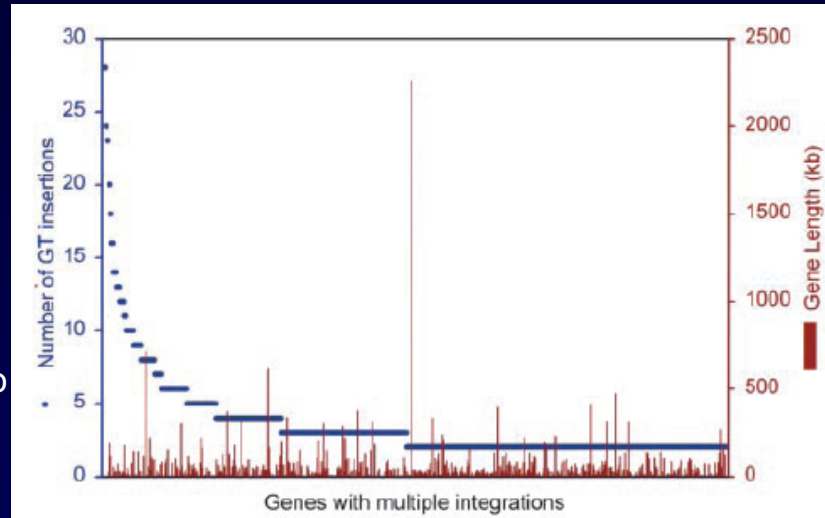
Vytváření knihoven inzerčních mutantů u živočichů



Transfekce do lidských buněčných kultur (HeLa) nebo myších embryonálních kmenových (ES) buněk

vytvoření populace mutantních buněčných linií a analýza frekvence inzercí

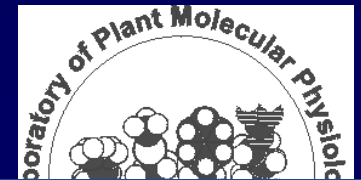
In vitro analýzy nebo příprava knihovny inzerčních mutantů reintegroací ES do myších embryí



Genomika III.

Přístupy reverzní genetiky

- Metody identifikace sekvenčně specifických mutantů
 - příprava sbírky mutantů
 - vyhledávání sekvenčně specifických mutantů
 - „trojrozměrné“ vyhledávání pomocí PCR
 - hybridizace s produkty iPCR na filtrech



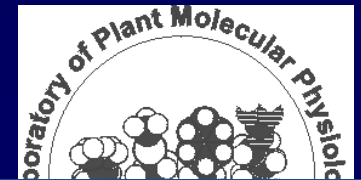
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

„Trojrozměrné“ vyhledávání pomocí PCR

1. Knihovna *En-1* inzerčních mutantů

- autonomní *En/Spm*, bez selekce
- 3000 nezávislých linií
- průměrně 5 kopií na linii
- trojrozměrné vyhledávání pomocí PCR



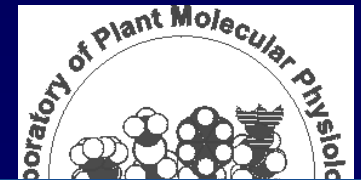
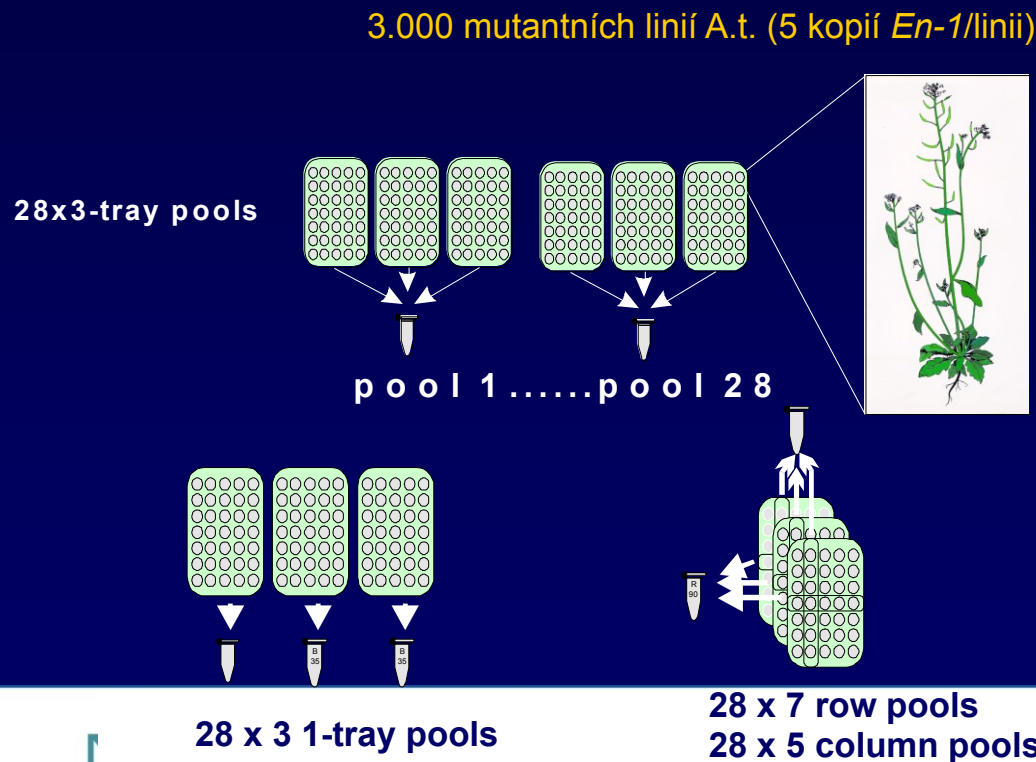
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Genomika III.

Přístupy reverzní genetiky

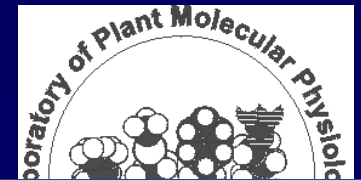
- „Trojrozměrné“ vyhledávání pomocí PCR
 - izolace genomové DNA z jednotlivých rostlin mutantní populace a vytvoření souhrnných souborů DNA („trojice“, řady a sloupce trojic a jednotlivé podnosy)



Genomika III.

Přístupy reverzní genetiky

- „Trojrozměrné“ vyhledávání pomocí PCR
 - izolace genomové DNA z jednotlivých rostlin mutantní populace a vytvoření souhrnných souborů DNA („trojice“, řady a sloupce trojic a jednotlivé podnosy)
 - identifikace pozitivní „trojice“ pomocí PCR, blotování PCR produktů a hybridizace s genově specifickou sondou



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

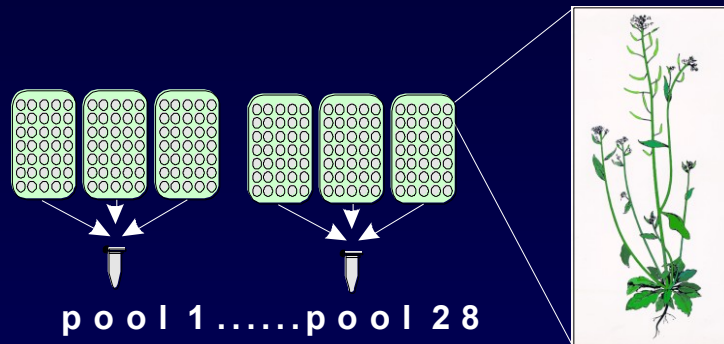
Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

„Třírozměrné“ vyhledávání v knihovně inzerčních mutantů pomocí PCR

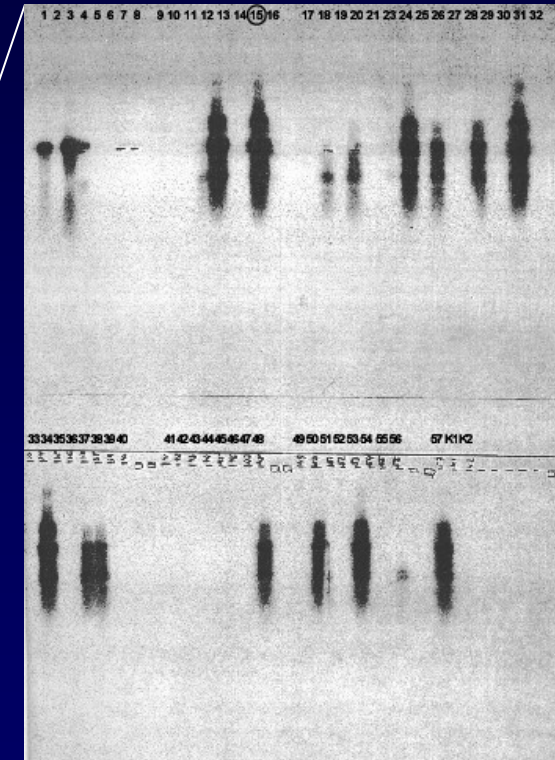
1. Vyhledávání pozitivní trojice

3.000 mutantních linií A.t. (5 kopií *En-1*/linii)

28x3-tray pools



(2x2x28=112 PCR reakcí)



Identifikace PCR produktu pomocí hybridizace s genově spec. sondou

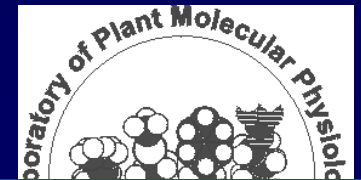
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Genomika III.

Přístupy reverzní genetiky

- „Trojrozměrné“ vyhledávání pomocí PCR
 - izolace genomové DNA z jednotlivých rostlin mutantní populace a vytvoření souhrnných souborů DNA („trojice“, řady a sloupce trojic a jednotlivé podnosy)
 - identifikace pozitivní „trojice“ pomocí PCR, blotování PCR produktů a hybridizace s genově specifickou sondou
 - identifikace pozitivní linie pomocí Identifikace pozitivního „tácu“, řady a sloupce



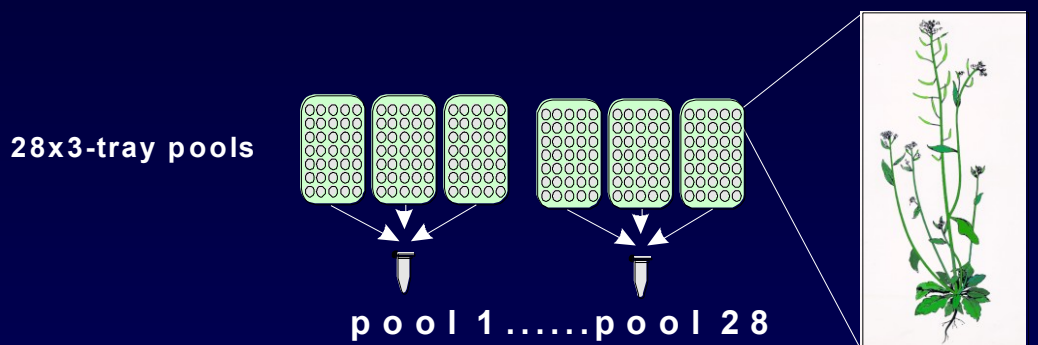
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

„Třírozměrné“ vyhledávání v knihovně inzerčních mutantů pomocí PCR

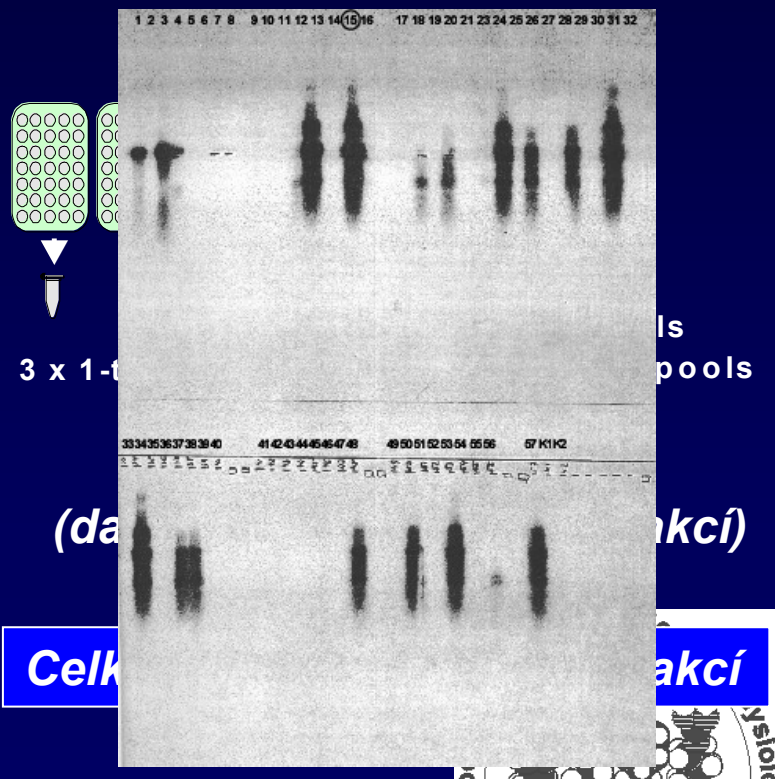
1. Vyhledávání pozitivní trojice

3.000 mutantních linií A.t. (5 kopií *En-1*/linii)



(2x2x28=112 PCR reakcí)

2. Identifikace linie nesoucí inzerci



Identifikace PCR produktu pomocí hybridizace s genově spec. sondou

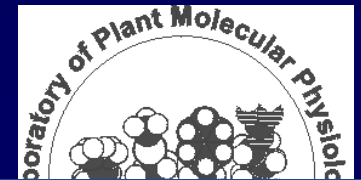
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Genomika III.

Přístupy reverzní genetiky

- Metody identifikace sekvenčně specifických mutantů
 - příprava sbírky mutantů
 - vyhledávání sekvenčně specifických mutantů
 - „trojrozměrné“ vyhledávání pomocí PCR
 - hybridizace s produkty iPCR na filtrech



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

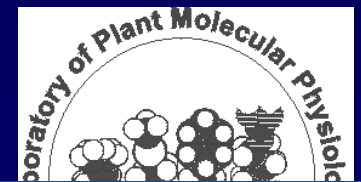
Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Hybridizace s produkty iPCR na filtrech

Inzerční knihovna dSpm mutantů

- The Sainsbury Laboratory (SLAT-lines), John Innes Centre, Norwich Research Park
- DNA a semena v Nottingham Seed Stock Centre
- 48.000 linií
- průměrně 1.2 izerce na linii
- neautonomní transposon
- PCR vyhledávání nebo hybridizace s iPCR filtry
- SINS (sequenced insertion sites) databáze

<http://nasc.nott.ac.uk>



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

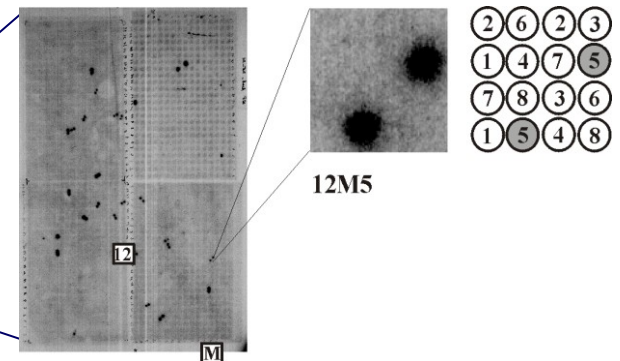
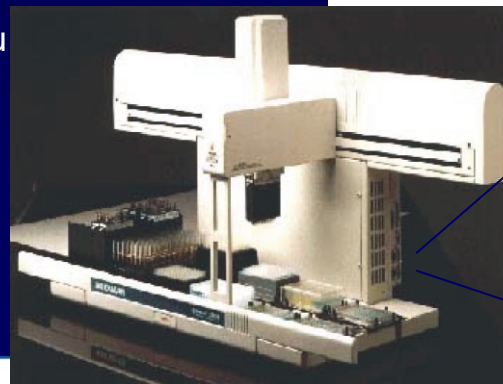
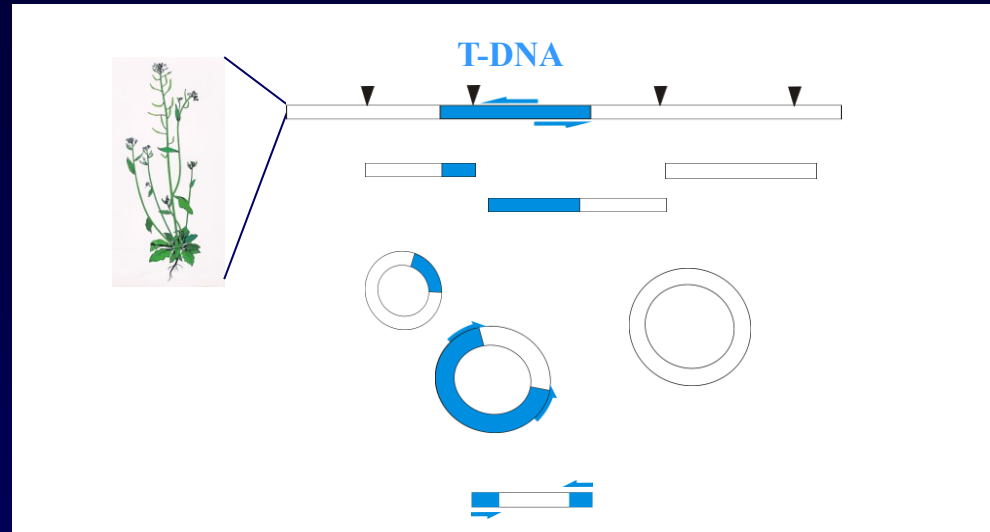
Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Přístupy reverzní genetiky

Identifikace sekvenčně specifických mutantů

Hybridizace s produkty iPCR na filtrech

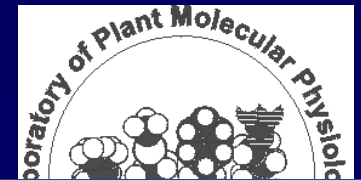
- izolace genomové DNA z jednotlivých rostlin mutantní populace
- štěpení restriční endonukleázou
- ligace, vznik cirkulární DNA
- inverzní PCR (iPCR) pomocí T-DNA specifických primerů
- příprava nylonových filtrů s produkty iPCR v přesně daném vzorci (poloze) pomocí robota
- hybridizace s genově specifickou sondou



Genomika III.

Přístupy reverzní genetiky

- Metody identifikace sekvenčně specifických mutantů
 - příprava sbírky mutantů
 - vyhledávání sekvenčně specifických mutantů pomocí PCR
 - vyhledávání sekvenčně specifických mutantů v elektronických databázích

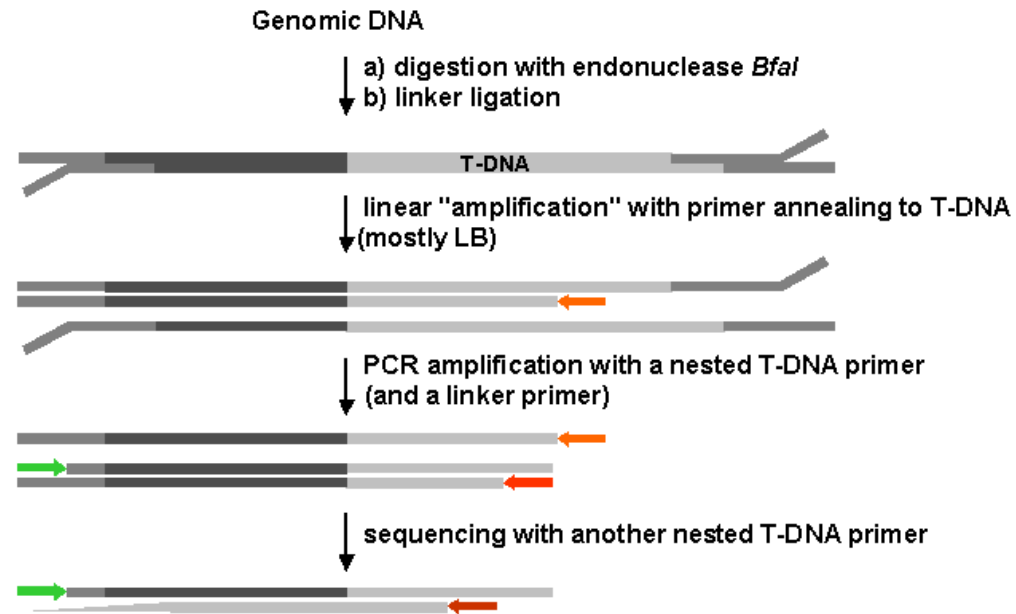


INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

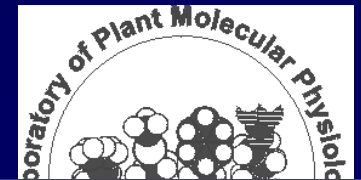
Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Příprava FST knihoven z populace *A. thaliana* mutované pomocí T-DNA

Sequencing of flanking sequence fragments



GABI-Kat (MPIZ, Köln)



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Vyhledávání v elektronických knihovnách inzerčních mutantů

Results of Blast search against sequenced inserts

>Insert_SALK:029311: [Order line 029311](#) | [View in AGR](#)
Length = 460

Score = 484 bits (244), Expect = e-135
Identities = 250/252 (99%)
Strand = Plus / Minus

Query: 1450 attagagtttgattgaagtgtgttttatattgatagtgaggacattacttataaaaagc 1509
|||||
Sbjct: 459 attagagtttgattgaagcgcttttatattgatagtgaggacattacttataaaaagc 400

Query: 1510 acaaggatacaacaatagagacagtcacatgtatatcacataagtgaggatggtcctcaatg 1569
|||||
Sbjct: 399 acaaggatacaacaatagagacagtcacatgtatatcacataagtgaggatggtcctcaatg 340

Query: 1570 tgttgcttgtaggacatttgtgagtatgtcaaaaacttattccacatggtacactcatag 1629
|||||
Sbjct: 339 tgttgcttgtaggacatttgtgagtatgtcaaaaacttattccacatggtacactcatag 280

Query: 1630 attagccccacttaggagtgctagaaaaagattgggactaaagtcttggatggaat 1689
|||||
Sbjct: 279 attagccccacttaggagtgctagaaaaagattgggactaaagtcttggatggaat 220

Query: 1690 atgattccaaac 1701
|||||
Sbjct: 219 atgattccaaac 208

Score = 111 bits (56), Expect = 8e-23
Identities = 77/84 (91%)
Strand = Plus / Plus

Query: 1923 tacattttctcgctacaattaacgctatcaatatatttataaaaaccatttgcatttcac 1982
|||||
Sbjct: 13 tacattttctcgctacgattgacggtatcaatatatttataaaaaccgctcagacatttcac 72

Query: 1983 ttcottaactaatcacataaatga 2006
|||||
Sbjct: 73 ttcottaactaatcacataaatga 96

Vyhledávání v elektronických knihovnách inzerčních mutantů

```

>Insert_SALK_029311 | Order_line_029311 | View in AGR
Length = 460
Score = 484 bits (244), Expect = e-135
Identities = 250/252 (99%)
Strand = Plus / Minus

Query: 1450 attagcttggattgaagtggttttatattgatagtgggacattacttataaaagc 1509
      |||
Sbjct: 459 attagcttggattgaagtcgttttatattgatagtgggacattacttataaaagc 400

Query: 1510 acaaggatcaaaatagagacgctcaatgttatcaatcaagtggtgctctcaag 1569
      |||
Sbjct: 399 acaaggatcaaaatagagacgctcaatgttatcaatcaagtggtgctctcaag 340

Query: 1570 tgtgtctgtaggacatttggatgtcaaaaacttattcaatggtaacctatag 1629
      |||
Sbjct: 339 tgtgtctgtaggacatttggatgtcaaaaacttattcaatggtaacctatag 280

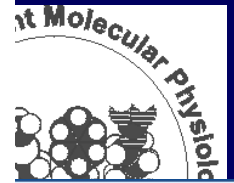
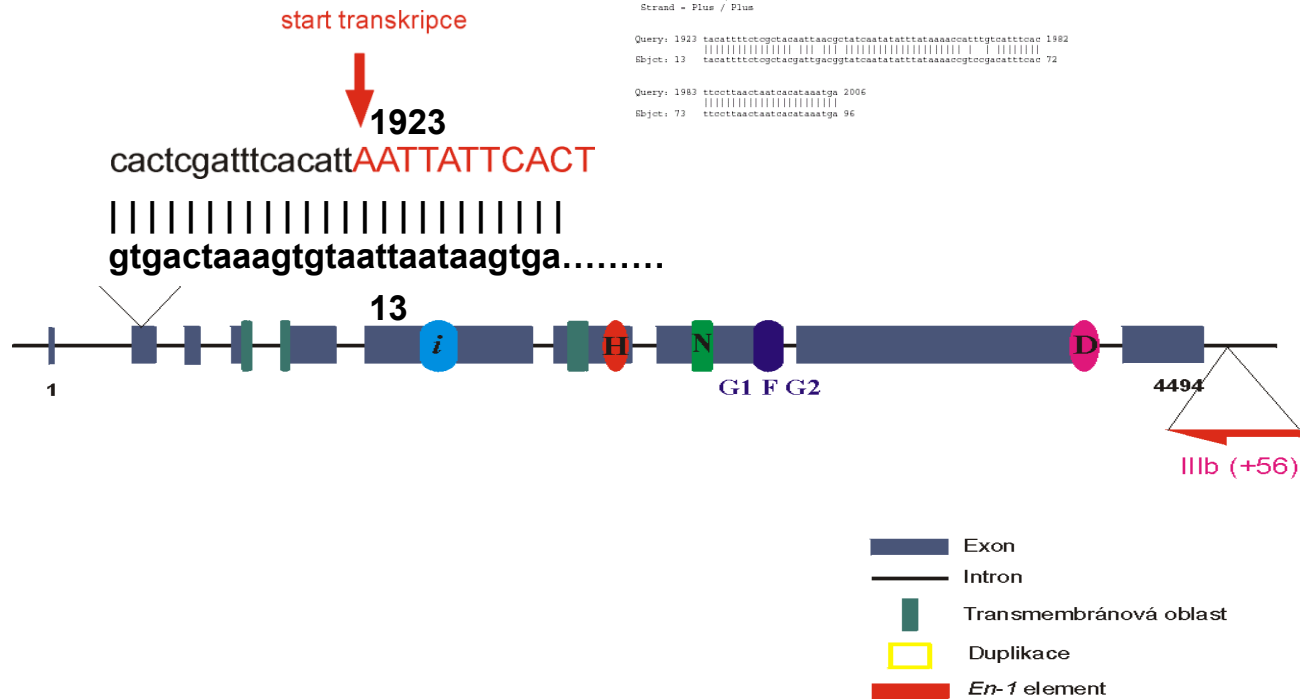
Query: 1630 attagcccacttaggaggtgttagaaaagattgggaactaaagctctgtggatgaat 1689
      |||
Sbjct: 279 attagcccacttaggaggtgttagaaaagattgggaactaaagctctgtggatgaat 220

Query: 1690 atgattccaaac 1701
      |||
Sbjct: 239 atgattccaaac 208

Score = 111 bits (56), Expect = 8e-23
Identities = 77/84 (91%)
Strand = Plus / Plus

Query: 1923 tacattttctogctaaactaacgctatcaatattttataaaacctgttcttccac 1982
      |||
Sbjct: 13 tacattttctogctaaactaacgctatcaatattttataaaacctgttcttccac 72

Query: 1983 ttccctaaactaatcaataaata 2006
      |||
Sbjct: 73 ttccctaaactaatcaataaata 96
    
```



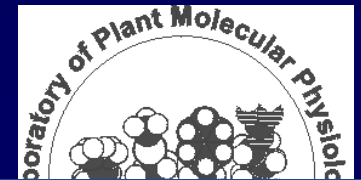
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Genomika III.

Přístupy reverzní genetiky

- Metody identifikace sekvenčně specifických mutantů
 - příprava sbírky mutantů
 - vyhledávání sekvenčně specifických mutantů pomocí PCR
 - vyhledávání sekvenčně specifických mutantů v elektronických databázích
- Analýza fenotypu a potvrzení příčinné souvislosti mezi fenotypem a inzerční mutací
 - kosegregační analýza
 - identifikace nezávislé inzerční alely
 - využití nestabilních inzerčních mutagenů a izolace revertantních linií

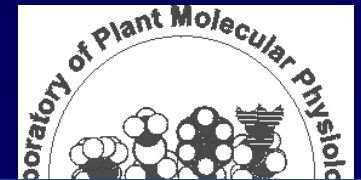


INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Proč je nutné analyzovat příčinnou souvislost mezi inzercí a pozorovaným fenotypem ?

- přítomnost více inzercí v jedné linii
- možnost vzniku nezávislé bodové mutace
- s inzercí T-DNA jsou často asociovány chromozomové aberace a přestavby (duplikace, inverze, delece)

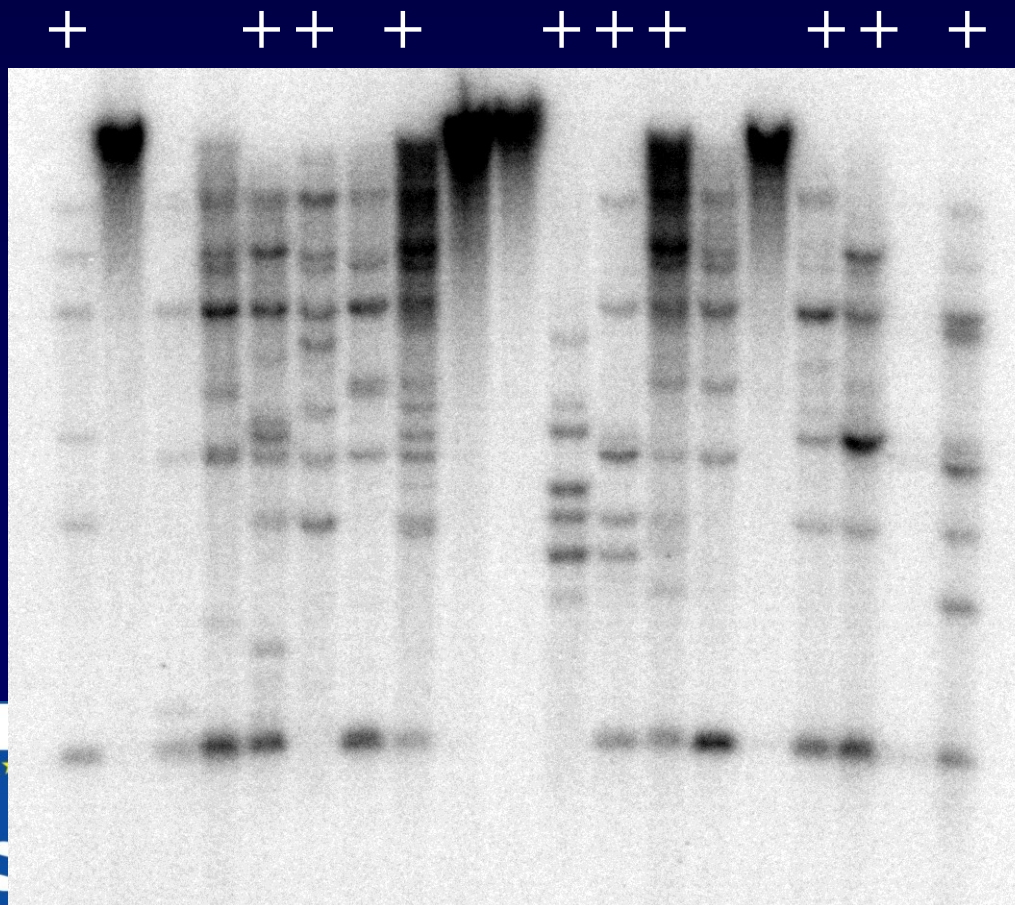


INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

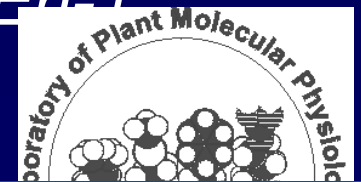
Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Genomika III.

- Kosegregační analýza
 - kosegregace specifického fragmentu např. po inzerci T-DNA (nebo působení EMS atd.) do genomu s pozorovaným fenotypem



← *cki1::En-1*



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Využití autonomních transpozonů pro izolaci nových stabilních mutací a revertantních linií

- transpozony se často vyznačují excizí a reinzercí do blízké oblasti-využití při izolaci nových mutantních alel
- excize transpozonů není vždy zcela přesná-vznik bodových mutací - izolace revertantních linií s tichou mutací i stabilních mutantů



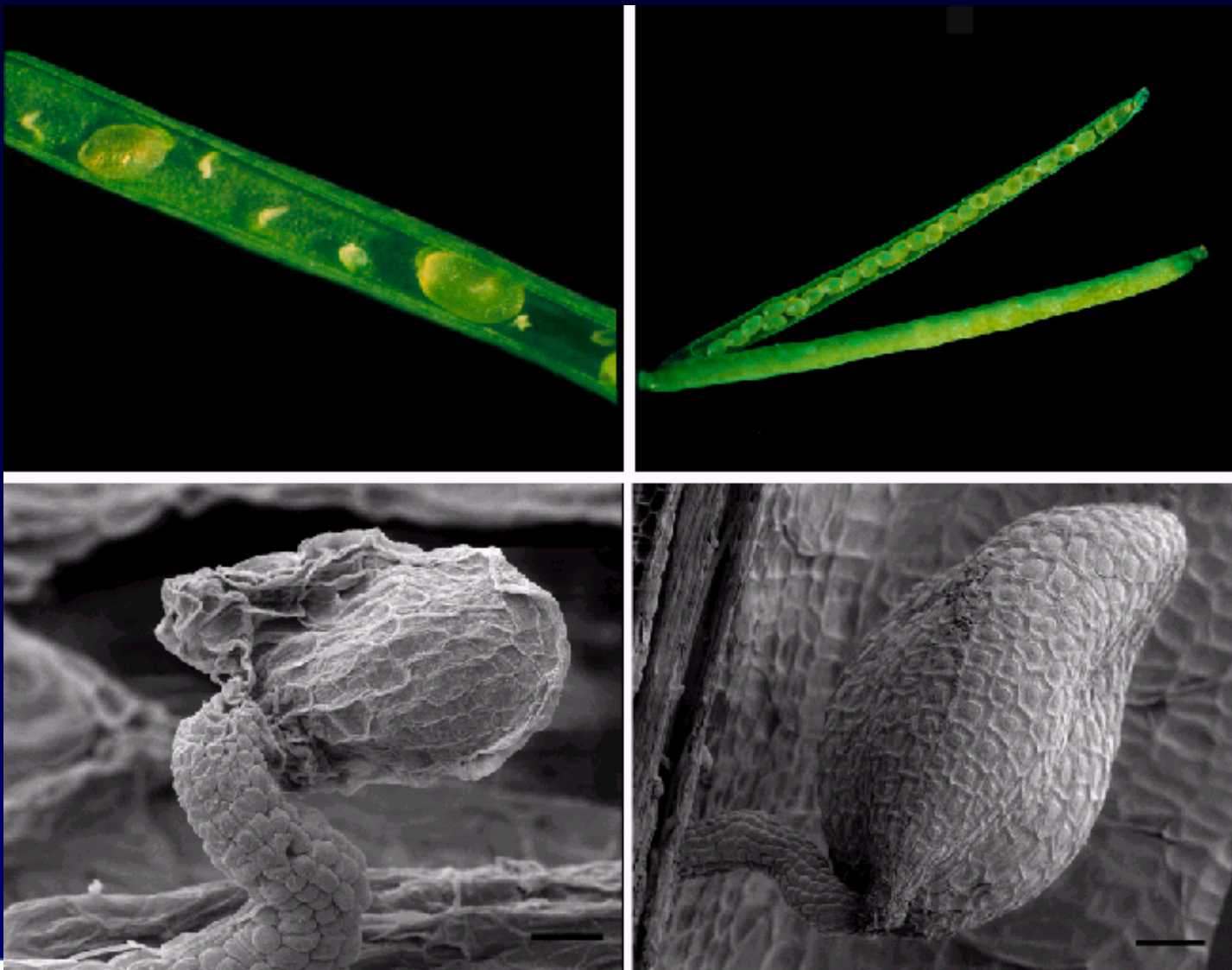
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Fenotyp šešulí *cki1::En-1/CKI1*

cki1::En-1/CKI1

CKI1/CKI1



Potvrzení fenotypu *cki1::En-1/CKI1*

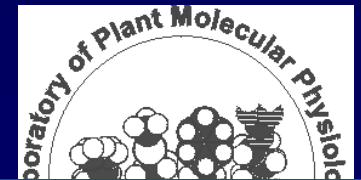
1. Izolace revertantních linií

- PCR vyhledávání ve **246** rostlinách segregující populace
- z **90** *cki1::En-1* pozitivních **9** rostlin mělo kromě šešulí mutantních i šešule standardního typu



Analýza potomstva

- potvrzení absence inzerce pomocí PCR
- PCR amplifikace a klonování části genomové DNA v místě inzerce
- sekvenování



Využití autonomních transpozonů pro izolaci nových stabilních mutací a revertantních linií



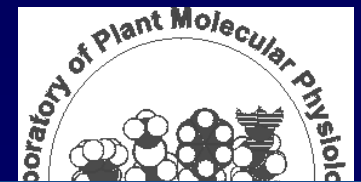
aattcaagtcggtCACTACAAGA " **En-1** TCTTGTAGTGCgtggagact

- A. aat tca agt **cggtgga gac tac** act tgg tac act caa acc gtg gat cag tta act ggt
 N S S **R G D Y** T W Y T Q T V D Q L T G
- B. aat tca agt **ggt acg** act tgg tac act caa acc gtg gat cag tta act ggt
 N S S **G T** T W Y T Q T V D Q L T G
- C. aat tca agt cgt **acg** gag act aca ctt ggt aca ctc aaa ccg tgg atc agt taa
 N S S R T E T T L G T L K P W I S .
- D. aat tca agt cgc **gtg** gag act aca ctt ggt aca ctc aaa ccg tgg atc agt taa
 N S S R V E T T L G T L K P W I S .

Potvrzení fenotypu *cki1::En-1/CKI1*

2. Izolace stabilní mutantní linie

- analýza fenotypu segregující populace (*CKI1/CKI1 CKI1/cki1::En-1*)
- PCR analýza rostlin s mutantním fenotypem-identifikace rostlin bez inserce
- PCR amplifikace a klonování části genomové DNA v místě inserce
- sekvenování



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Využití autonomních transpozonů pro izolaci nových stabilních mutací a revertantních linií



aattcaagtcgctCACTACAAGA " **En-1** TCTTGTAGTGCgtggagact

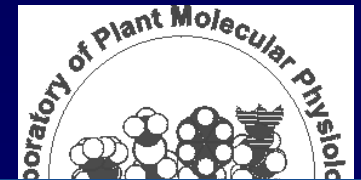
- A. aat tca agt **cg**t **gga** gac tac act tgg tac act caa acc gtg gat cag tta act ggt
 N S S **R G D Y** T W Y T Q T V D Q L T G
- B. aat tca agt **ggt acg** act tgg tac act caa acc gtg gat cag tta act ggt
 N S S **G T** T W Y T Q T V D Q L T G
- C. aat tca agt **cg**t **acg** gag act aca ctt ggt aca ctc aaa ccg tgg atc agt taa
 N S S **R T** E T T L G T L K P W I S .
- D. aat tca agt **cg**c **gtg** gag act aca ctt ggt aca ctc aaa ccg tgg atc agt taa
 N S S **R V** E T T L G T L K P W I S .



Genomika III.

Přístupy reverzní genetiky

- Metody identifikace sekvenčně specifických mutantů
 - příprava sbírky mutantů
 - vyhledávání sekvenčně specifických mutantů pomocí PCR
 - vyhledávání sekvenčně specifických mutantů v elektronických databázích
- Analýza fenotypu a potvrzení příčinné souvislosti mezi fenotypem a inzerční mutací
 - identifikace nezávislé inzerční alely
 - využití nestabilních inzerčních mutagenů a izolace revertantních linií
- Umlčování genů pomocí RNAi
 - mechanismus účinku RNAi



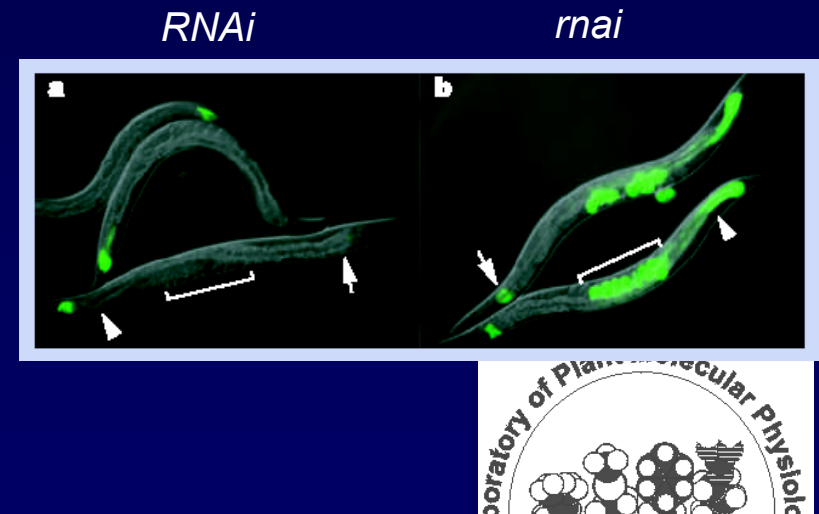
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Genomika III.

mechanismus RNA interference

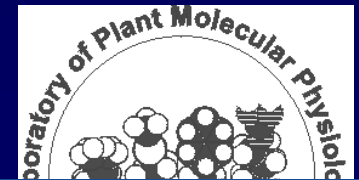
- Molekulární podstata posttranskripčního umlčování genů (PTGS)
 - RNAi objevena u *Coenorhabditis elegans*
 - umlčování bylo indukováno jak sense tak antisense RNA (pravd' kontaminace obou při *in vitro* transkripci)
 - dsRNA indukovala umlčování cca 10-100x účinněji
 - dsRNA indukce je závislá na vlastních genech-gen. vyhledávání



Genomika III.

mechanismus RNA interference

- Molekulární podstata posttranskripčního umlčování genů (PTGS)
 - RNAi objevena u *Coenorhabditis elegans*
 - je to přirozený mechanismus regulace genové exprese u všech eukaryot
 - podstatou je tvorba dsRNA, která může být spuštěna několika způsoby:
 - přítomnost cizí „aberantní“ DNA
 - specifické transgeny obsahující obrácené repetice částí cDNA
 - transkripce vlastních genů pro **shRNA** (short hairpin RNA) nebo **miRNA** (micro RNA, endogenní „vlásečková“ RNA)
 - dsRNA je procesována enzymovým komplexem (DICER), což vede k tvorbě **siRNA** (short interference RNA), která se pak váže buď na enzymový komplex **RITS** (RNA-induced transcriptional silencing complex) nebo **RISC** (RNA-induced silencing complex)
 - **RISC** zprostředkovává buď **degradaci mRNA** (v případě úplné similarity siRNA a cílové mRNA) nebo vede pouze k **zastavení translace** (v případě neúplné homologie jako je tomu např. v případě miRNA)
 - **RITS** zprostředkovává **reorganizaci genomové DNA** (tvorba heterochromatinu a inhibice transkripce)

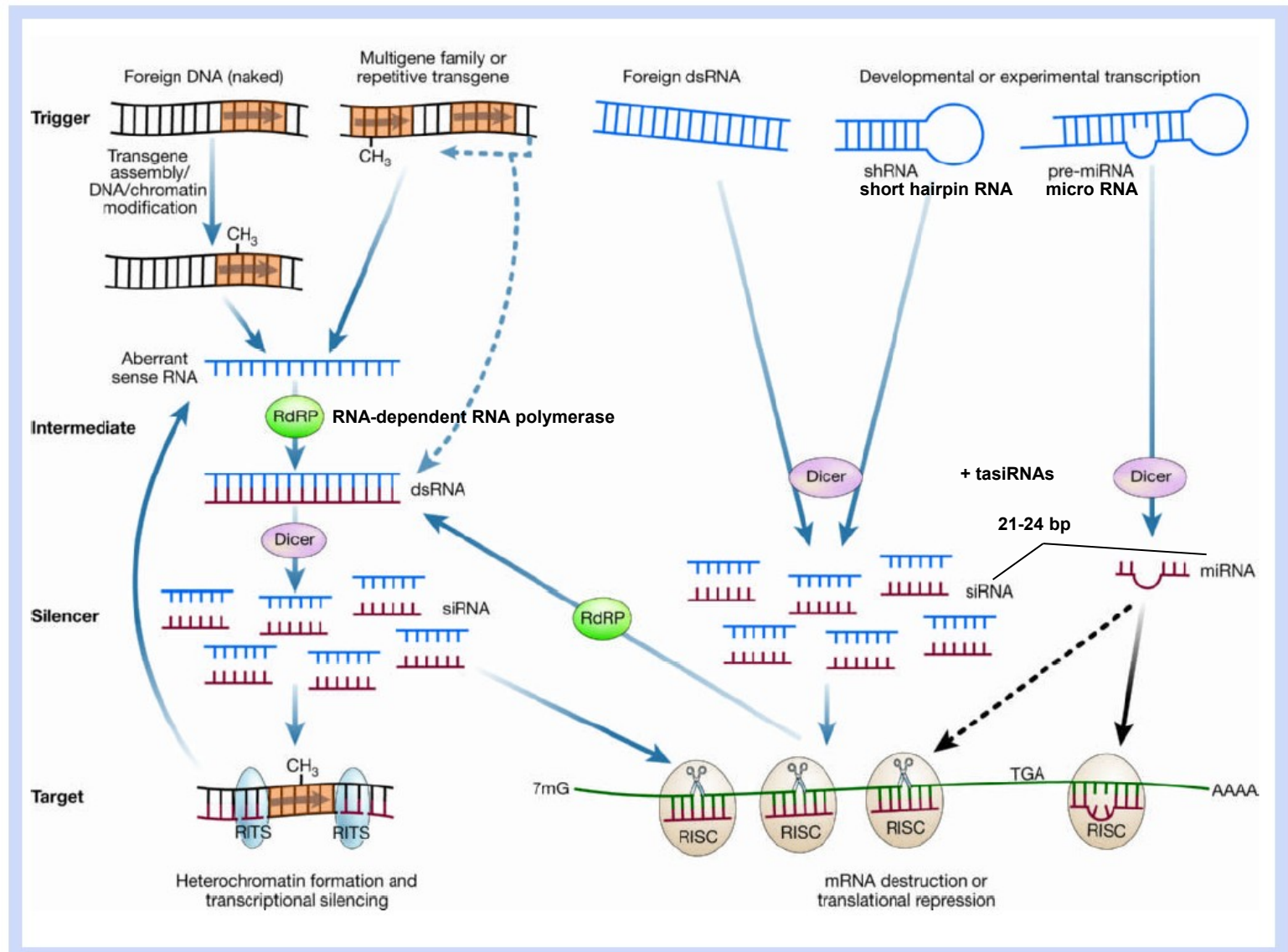


DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

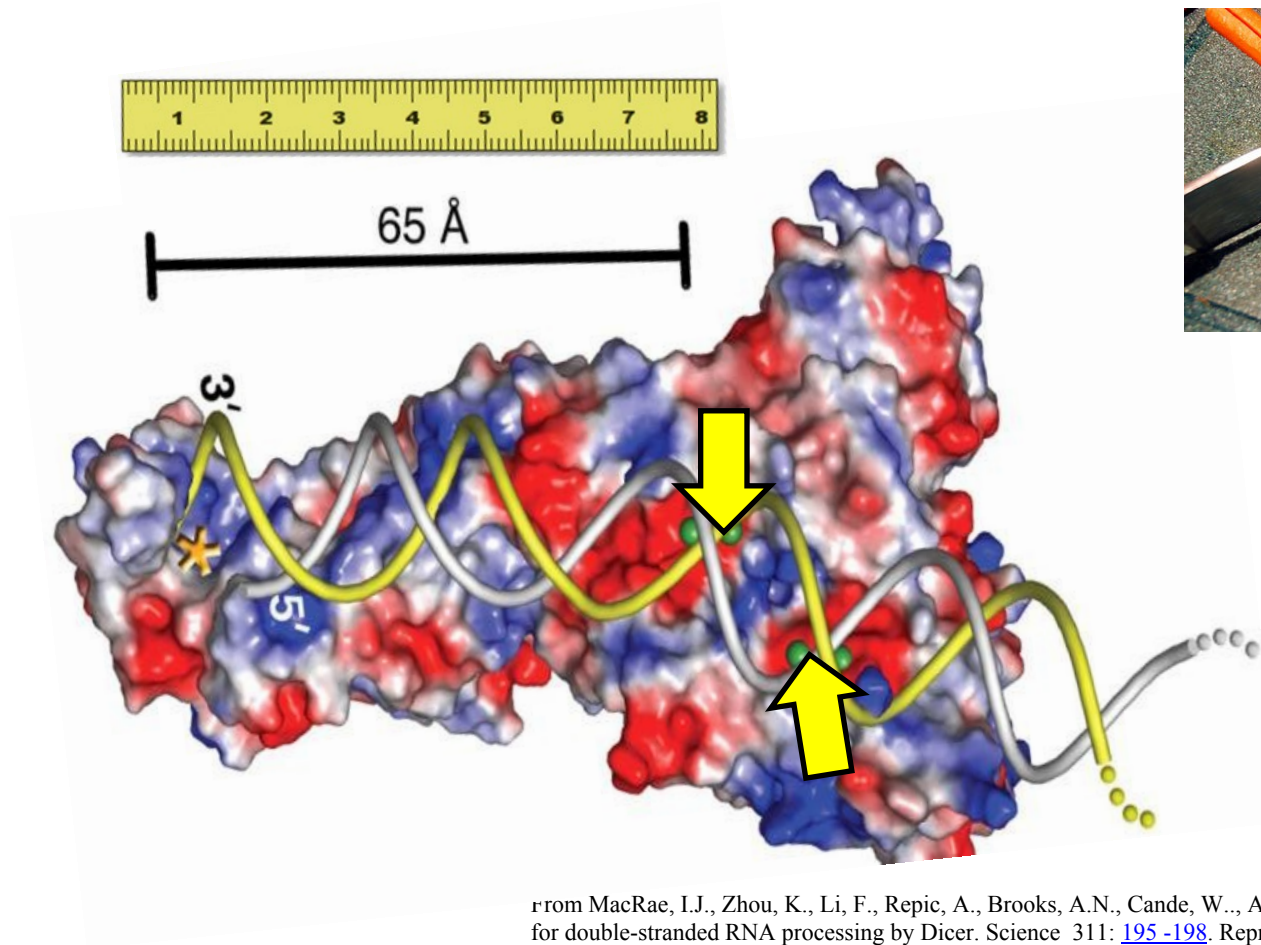


Mechanism of RNA interference



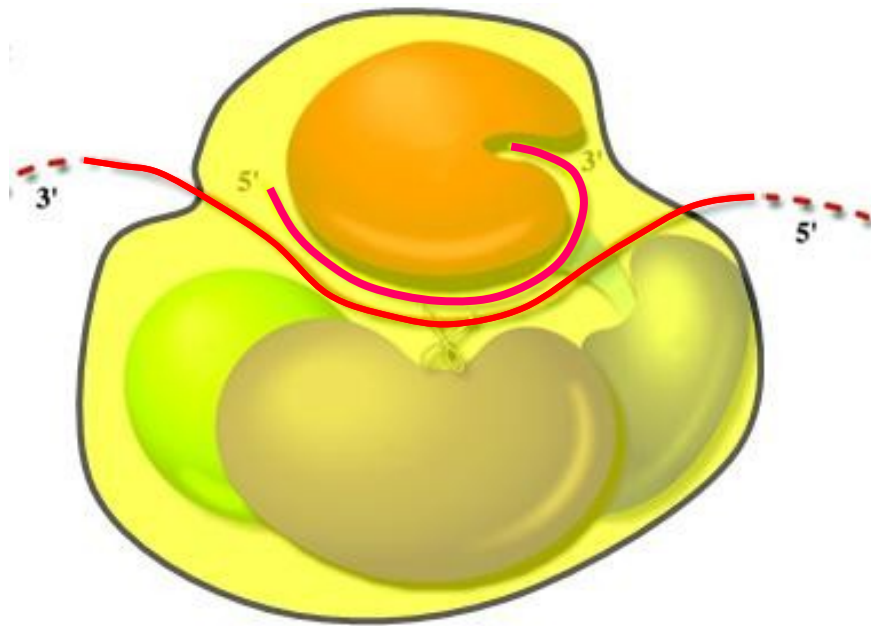
Mello and Conte, *Nature* (2004)

Dicer and Dicer-like proteins



from MacRae, I.J., Zhou, K., Li, F., Repic, A., Brooks, A.N., Cande, W., Adams, P.D., and Doudna, J.A. (2006) Structural basis for double-stranded RNA processing by Dicer. *Science* 311: [195-198](#). Reprinted with permission from AAAS. Photo credit: [Heidi](#)

Argonaute proteins



ago1



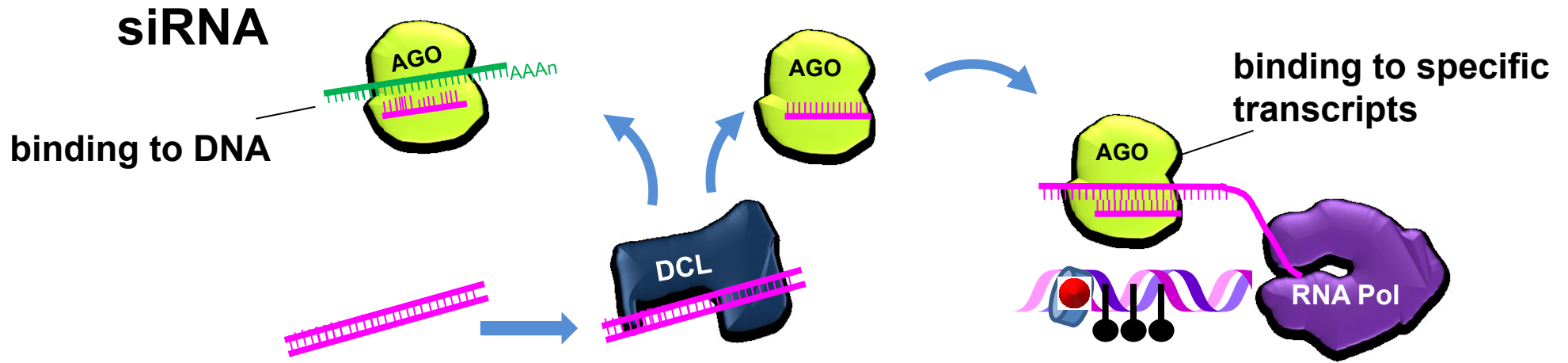
Argonauta argo
argonaut pelagický



Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd: EMBO J. Bohmert, K., Camus, I., Bellini, C., Bouchez, D., Caboche, M., and Benning, C. (1998) *AGO1* defines a novel locus of *Arabidopsis* controlling leaf development. EMBO J. 17: [170–180](#). Copyright 1998; Reprinted from Song, J.-J., Smith, S.K., Hannon, G.J., and Joshua-Tor, L. (2004) Crystal structure of Argonaute and its implications for RISC slicer activity. Science 305: [1434–1437](#). with permission of AAAS.

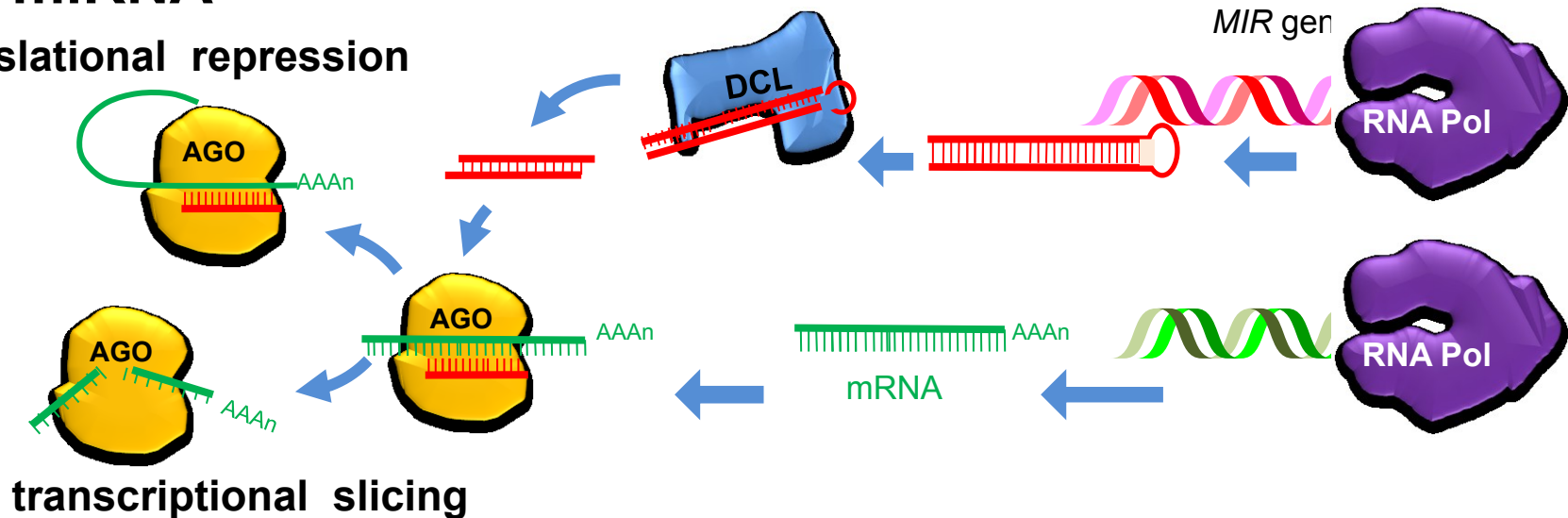
transcriptional gene silencing

post-transcriptional gene silencing



miRNA

translational repression



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2006



Andrew Z. Fire

USA

Stanford University
School of Medicine
Stanford, CA, USA

b. 1959



Craig C. Mello

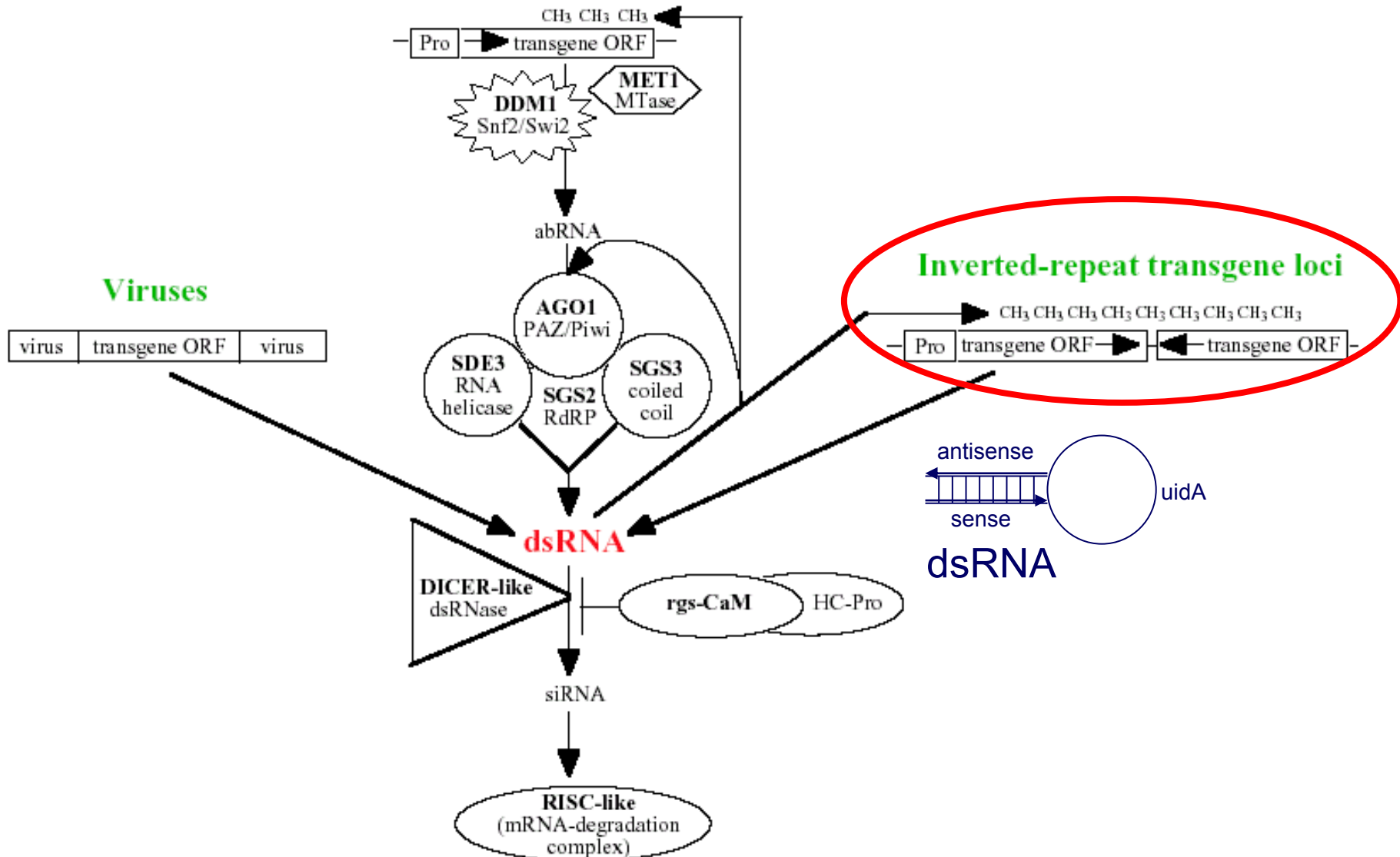
USA

University of
Massachusetts Medical
School
Worcester, MA, USA

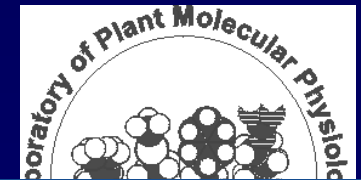
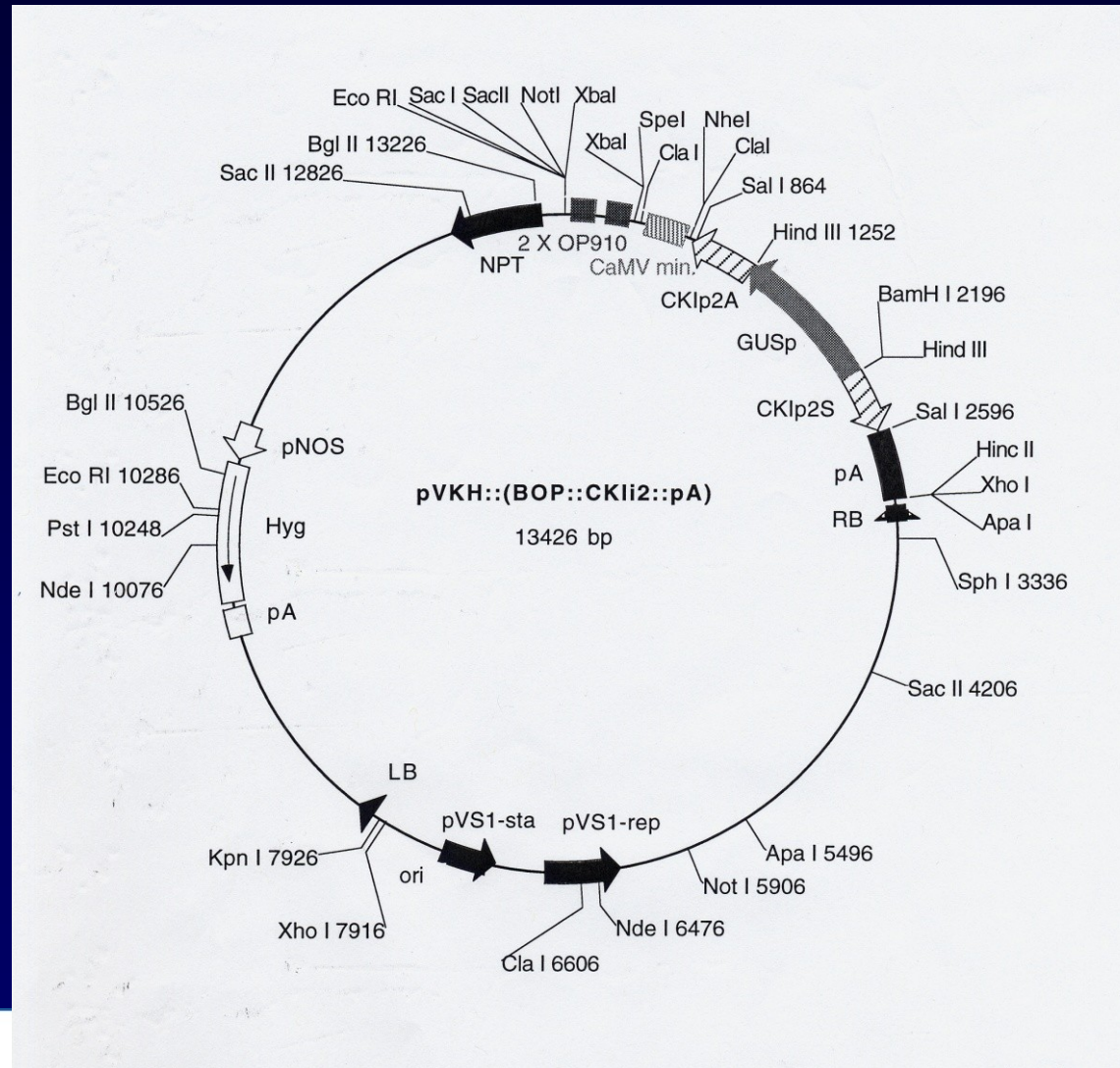
b. 1960

Mechanismus posttranskripčního umlčování genů pomocí RNA interference (iRNA)

Highly transcribed single-copy transgene loci



- 2. RNAi approach using regulated expression system



O ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

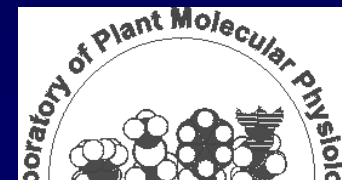
Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky



Genomika III.-shrnutí

Přístupy reverzní genetiky

- Metody identifikace sekvenčně specifických mutantů
 - příprava sbírky mutantů
 - vyhledávání sekvenčně specifických mutantů pomocí PCR
 - vyhledávání sekvenčně specifických mutantů v elektronických databázích
- Analýza fenotypu a potvrzení příčinné souvislosti mezi fenotypem a inzerční mutací
 - kosegregační analýza
 - identifikace nezávislé inzerční alely
 - využití nestabilních inzerčních mutagenů a izolace revertantních linií
- Umlčování genů pomocí RNAi

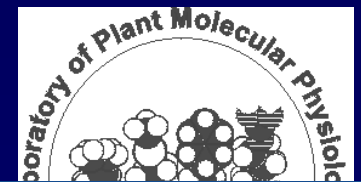


INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Genomika III.-diskuse

Přístupy reverzní genetiky



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky