

# Úloha č. 6

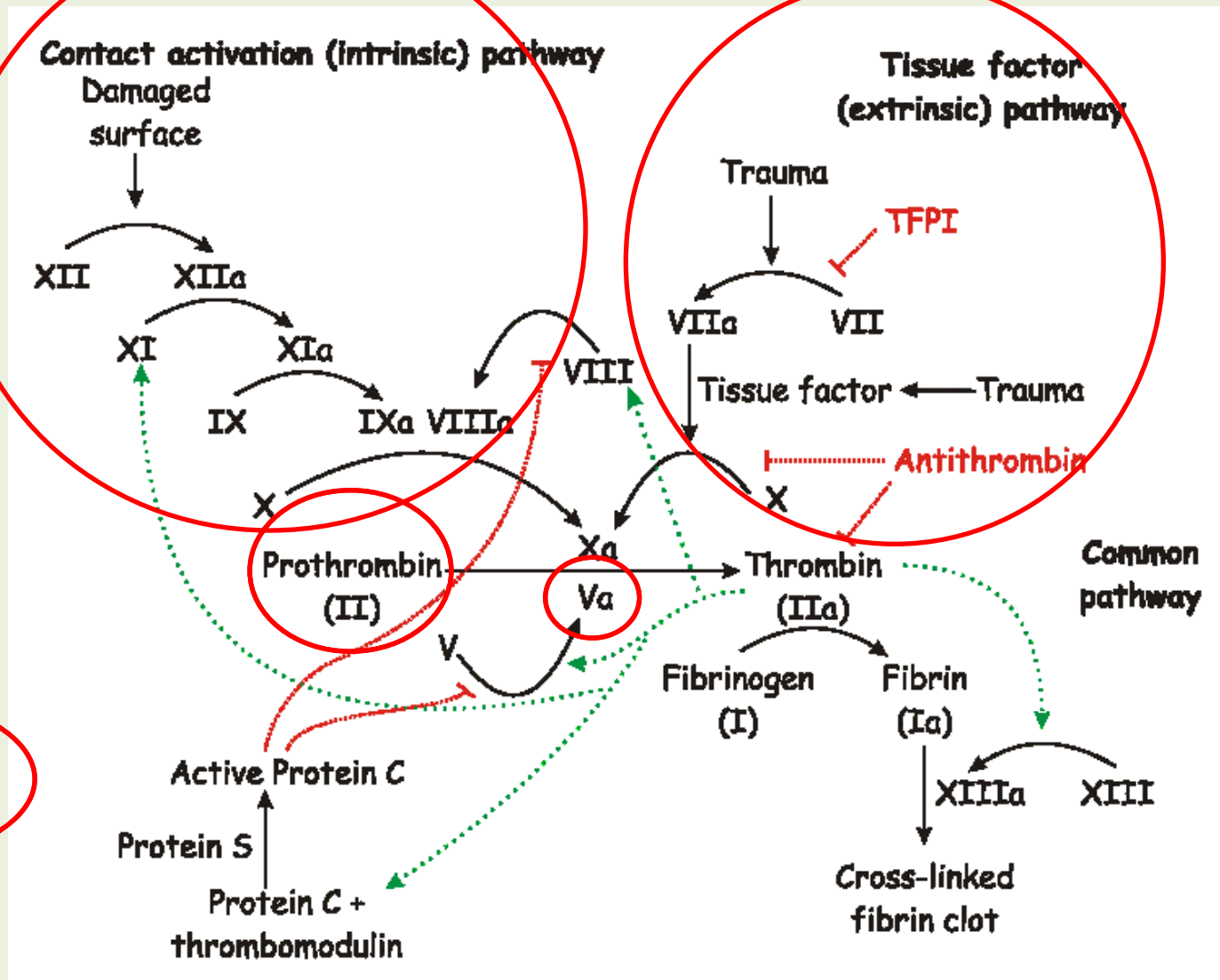
Detekce trombofilních  
faktorů pomocí  
fragmentační analýzy

# Srážlivost krve

- Důležitý homeostatický proces
- Složky koagulační (srážecí) kaskády:
  - Koagulační faktory – proenzymy přítomné v krvi (I – XII).
  - Fosfolipidy v membránách trombocytů.
  - Ionty  $\text{Ca}^{2+}$  (faktor IV).
  - Antikoagulační faktory (antitrombin, protein C, trombomodulin).

Srážecí kaskáda

MTHFR



# Polymorfizmy

- *Polymorfizmus 20210 G/A genu pro faktor II*
- *Polymorfizmus 1691 G/A genu pro faktor V*
- *Polymorfizmus 677 C/T genu pro MTHFR*

# Postup

- PCR
- Restrikční analýza
- Fragmentační analýza

# PCR + restriční analýza

- multiplexová PCR – v reakční směsi použity primery všech analyzovaných genů.
- primery – a) jeden z páru obsahuje mismatch = vytváří restriční místo.  
b) druhý z páru nese na 5' konci fluorofor (TAMRA / FAM).



restrikce – detekce SNP polymorfizmu  
všechny polymorfizmy mají TaqI restriční místo

# Fragmentační analýza

- detekce fragmentů po restrikční analýze při kapilární elektroforéze.



# Vyhodnocení

