**ÚLOHA A.**

**Detekce aktivity askorbát peroxidasy v polyakrylamidovém gelu**

Vyhodnoťte prosím po skupinách, abyste vždy měli všechny tři časy (0, 24 a 48h)

- Srovnejte změny aktivity askorbát peroxidasy po aplikaci cryptogeinu ve srovnání s kontrolou (voda) v závislosti na čase.

- Výsledek zdůvodněte.

**ÚLOHA C.**

**Klonování PCR produktu do plasmidu**

- Uveďte celkový počet kolonií po transformaci.

- Uveďte kvantitu a čistotu vyizolované plasmidové DNA.

- Uveďte vypočítané hodnoty koncentrací plasmidové DNA pro jednotlivý počet kopií/μl.

**Úloha D.**

**Stanovení změny exprese genů pro pathogenesis related (PR) proteiny u rostlin tabáku**

Vyhodnoťte prosím po skupinách, abyste vždy měli všechny tři časy (0, 24 a 48h)

- Uveďte koncentraci a na základě naměřených dat zhodnoťte čistotu izolované RNA

- Na základě výsledku RealTime PCR vypočítejte metodami absolutní a relativní kvantifikace za použití delta Ct metody, zdali dochází po přidání cryptogeinu ve sledovaných časových intervalech ke zvýšení transkriptů vybraných PR proteinů a o jak velké zvýšení se jedná. Výsledek prezentujte ve formě sloupcových grafů.

- Dále na základě vypočtených výsledků porovnejte metodiky relativní a absolutní kvantifikace.

**Úloha E**

**Identifikace jednotlivých druhů Václavek ze vzorku půdy**

Z důvodu nízké amplifikace jsem Vám přiložil po skupinách gely z minula, takže prosím vyhodnoťte tyto gely a určete druh Václavky. Máte popsaný gel Skupina 1-9.

- Uveďte koncentraci a na základě naměřených dat zhodnoťte čistotu izolované DNA

- Na základě délky amplifikátu a výsledku restrikční analýzy restriktázou *Hinf*I určete, jaký druh václavky obsahoval váš vzorek půdy, výsledek zdůvodněte.

**ÚLOHA F**

**Exprese a purifikace rekombinantních proteinů**

* Popište výsledek na gelu a okomentujte čistotu proteinu před purifikací (v celkovém lyzátu) a po purifikaci.
* Pomocí hmotnostního markeru na gelu a znalosti sekvence pET32a vektoru spočítejte molekulovou hmotnost exprimované GTPasy. Vynést prosím kalibrační přímku pro odečet molekulové hmotnosti.

**ÚLOHA G.**

**Vliv polymorfismu v genu pro alkoholdehydrogenázu na její aktivitu**

- Na základě výsledku restrikční analýzy určete, zda váš vzorek krve obsahoval některý z polymorfismů v genu pro ADH

- Vypočtěte aktivitu ADH (Ɛ440 NDMA = 34 . 103 M-1.cm-1)