

ÚLOHA A.

Detekce aktivity askorbát peroxidasy v polyakrylamidovém gelu

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

- Srovnajte 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/ μ l.

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 Václavků 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 popsany gel Skupina 1-9.

- Uveďte koncentraci a na základě naměřených dat zhodnoťte čistotu izolované DNA
- Na základě délky amplifikátu a výsledku restrikční analýzy restriktázou *HinfI* určete, jaký druh václavky obsahoval váš vzorek půdy, výsledek zdůvodněte.

ÚLOHA F

Expresa 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 přímkou 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
- Vypočtete aktivitu ADH ($\epsilon_{440} \text{ NDMA} = 34 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)