

PRACOVNÍ LIST II.

TRANSDUKCE A STANOVENÍ POČTU KOPIÍ TRANSDUKOVANÝCH PLAZMIDŮ V BUŇCE POMOCÍ QPCR

Vypracoval:

Jméno, Příjmení, UČO

Semestr (skupina)

1. Vypočítejte frekvenci vámi provedené transdukce plazmidů

- Frekvence transdukce pro plazmid pT181 (tetK, rezistence k tetracyklinu):
- Frekvence transdukce pro plazmid pHOUMR-like (rezistence ke kadmiu):
- Je frekvence transdukce stejná pro oba typy plazmidů? Vysvětlete.

2. Vytvořte graf závislosti log koncentracena C_p standardu a neznámých vzorků u vámi provedené qPCR.

- použijte data uvedená v pdf souborech, které exportujete po dokončení reakce
- proložte datové body regresní přímkou a vypočítejte rovnici přímkou a R^2 pro oba běhy (kvantifikace genu blaZ nebo tetK a genu SAU) do jednoho grafu
- vypočítejte a uveďte efektivitu obou běhů v %
- zdůvodněte proč je hodnota E menší případně větší než 100%
- srovnajte svoje výpočty s výsledky uvedenými v pdf souborech

3. Vypočítejte hodnoty PCN (počet plazmidů na buňku) pro transduktanty.

4. Proč se do transdukční směsi přidává citrát sodný?

5. Jak byste ověřili, že na selekčních plotnách vyrostly transduktanty a ne jedná se o kontaminaci donorem nebo jiným druhem?

6. Jak byste odlišili transdukující částice od životaschopných fágů?

7. Jakým způsobem se bakterie brání přijímání cizorodé DNA? A jakými mechanismy podporují příjem nové genetické informace?