

VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

Jméno a UČO:

Datum:

Identifikace jednotlivých druhů Václavek ze vzorku půdy

VYHODNOCENÍ

- A. Uveďte koncentraci a na základě naměřených dat zhodnoťte čistotu izolované DNA.
- B. Na základě délky amplifikátu a výsledku restrikční analýzy určete, jaký druh václavky obsahoval váš vzorek půdy, a výsledek zdůvodněte.
- C. Porovnejte separaci DNA fragmentů pomocí agarozové elektroforézy a HPLC.
- D. Na základě sekvencí jednotlivých druhů václavek z NCBI databáze zkuste navrhnout dvojice specifických primerů a TaqMan sondu pro detekci Vámi identifikovaného druhu václavky.

ÚLOHA A

Analýza izoenzymů askorbát peroxidasy (APX) pomocí nativní PAGE a aktivity phenylalanin amoniak-lyasy (PAL)

VYHODNOCENÍ

- Srovnajte změny aktivity askorbát peroxidasy po aplikaci jednotlivých látek v závislosti na čase.
- Výsledek zdůvodněte.

- Spočítejte aktivitu fenylalanin amoniak-lyasy (PAL) v čase 24h po aplikaci neznámého vzorku v kat na g rostlinného pletiva.
- Výsledky vyneste do grafu, kde budou srovnány změny aktivity PAL po aplikaci vašeho neznámého vzorku s kontrolou (voda).
- Výsledek zdůvodněte.

ÚLOHA C

Klonování PCR produktu do plasmidu

VYHODNOCENÍ

- Uvedte přibližnou délku klonovaného PCR produktu
- Uvedte celkový počet kolonií po transformaci.
- Uvedte kvantitu a čistotu vyizolované plasmidové DNA.
- Uvedte vypočítané hodnoty koncentrací plasmidové DNA pro jednotlivý počet kopií/ μ l.

ÚLOHA D

Identifikace neznámého elicitoru na základě jeho aktivity

VYHODNOCENÍ

- Na základě výsledku RealTime PCR vypočítejte metodami absolutní nebo relativní kvantifikace za použití $\Delta\Delta C_t$ metody, zdali dochází po přidání neznámého vzorku ve sledovaném časovém intervalu (24h) ke zvýšení transkriptů vybraných genů a o jak velké zvýšení se jedná.
- Z pořízených fotek vypočítejte dle vztahu z kapitoly „Vyhodnocení nekrózy“ míru nekrózy po přímé infiltraci a takéž po infiltraci skrze petiolu.
- Na základě výsledků z RT-PCR a nekrotického působení určete, jaký efektor byl ve vašem neznámém vzorku. Pro vyhodnocení použijte tabulku:

Tabulka 1: Schéma odpovědi rostlin tabáku na jednotlivé testované molekuly.

Typ molekuly		Nekróza		RT-qPCR	
		Přímá infiltrace	Nasátí petiolou	PR5	ntPRP27
Cryptogein	Ⓜ-elicitor	+++	+++	+++	+++
Infestin	Ⓜ-elicitor	+++	-/+	+++	+++
K. salicylová	Fytohormon	-/+	-/+	+++	+
Voda	Kontrola	-	-	-	-

Nekróza:

RT-PCR:

Relativní kvantifikace:

Absolutní kvantifikace:

VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

Výsledky:

Náš neznámý vzorek indukovalkrát zvýšenou/sníženou/nezměněnou expresi PR5
.....krát zvýšenou/sníženou/nezměněnou expresi PI-1

Náš neznámý vzorek způsoboval% nekrózu na listech tabáku po přímé infiltraci
.....% nekrózu na listech tabáku po nasátí petiolou

Dle výsledků výše byl v našem neznámém vzorku

Odůvodněte:

ÚLOHA E

Analýza polymorfismu pro ADH a stanovení její aktivity v séru

VYHODNOCENÍ

- Vypočtete specifickou aktivitu ADH ($\epsilon_{440} \text{NDMA} = 34 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) v kat/ml séra

ÚLOHA F

Analýza Leidenské mutace

VYHODNOCENÍ

- Na základě výsledku restrikční analýzy určete, jaký genotyp genu pro FV obsahoval váš vzorek krve a jestli jste nositeli Leidenské mutace.