

1	<i>Escherichia coli</i> – NÁSTROJ PRO GENOVÉ MANIPULACE	5
2	BAKTERIÁLNÍ PLASMIDOVÉ VEKTORY	7
3	IZOLACE PLASMIDOVÉ DNA	9
3.1	Minipreparace alkalickou lyzí	9
3.2	Purifikace plasmidové DNA	10
4	VNESENÍ PLASMIDOVÉ DNA DO BAKTERIÁLNÍCH BUNĚK	12
4.1	Příprava kompetentních buněk pomocí CaCl ₂	12
4.2	Transformace	13
5	ANALÝZA A MODIFIKACE DNA V BUŇKÁCH OBSAHUJÍCÍCH REKOMBINANTNÍ PLASMID	14
5.1	Restrikční endonukleasy a restrikční analýza DNA	14
5.2	Modifikace fragmentů DNA	18
5.2.1	Oprava přechýlujících konců na tupé konce	18
5.2.2	Vytvoření přechýlujících konců	18
5.2.3	Ligace - spojení fragmentů DNA	19
5.2.3.1	Ligace fragmentů s komplementárními konci	20
5.2.3.2	Ligace fragmentů s tupými konci	20
6	ZNAČENÍ NUKLEOVÝCH KYSELIN RADIOIZOTOPY	22
7	POLYMERASOVÁ ŘETĚZOVÁ REAKCE (PCR)	23
7.1	Požadavky kladené na primery	24
7.2	Termostabilní DNA polymerasy	24
7.3	Termocyklér	25
7.4	Průběh PCR	26
8	ANALÝZA SEKVENCE NUKLEOTIDŮ V DNA	30
8.1	Sekvenování DNA	30
8.2	Southern blot	36
8.3	Biočipy (angl. microarrays nebo arrays)	37
9	PRODUKCE REKOMBINANTNÍCH PROTEINŮ V <i>Escherichia coli</i>	39
9.1	Expres v <i>Escherichia coli</i>	39
9.2	Promotory	40
10	TKÁŇOVÉ KULTURY A JEJICH VYUŽITÍ PRO EXPRESI GENŮ	42
10.1	Uchovávání buněk	45
10.2	Expres v živočišných buňkách	46
11	DETEKCE A ANALÝZA REKOMBINANTNÍCH PROTEINŮ	47
11.1	Stanovení koncentrace bílkovin dle Bradfordové	47
11.2	SDS elektroforéza v polyakrylamidovém gelu (SDS PAGE)	47
11.3	Imunochemická detekce proteinů v gelu – Western blot	52