

O B S A H

ÚVOD (M.Ondřej)	1
1. NĚKTERÉ ZÁKLADNÍ KULTIVAČNÍ TECHNIKY (J.Vlasák)	1
1.1. Sterilizace (J.Vlasák)	1
1.2. Bakteriální média (J.Vlasák)	2
1.2.1. Média pro Escherichia coli (J.Vlasák)	2
1.2.2. Média pro Acrobacterium tumefaciens (J.Dusbábková)	3
1.2.3. Příprava médií - udávání a výpočty koncentrací (J.Vlasák)	3
1.3. Pěstování bakterií na živných médiích (J.Vlasák)	3
1.4. Uchovávání zásobních kultur bakterií (J.Dusbábková, J.Vlasák)	4
1.5. Příprava médií pro sterilní kultivaci rostlin a tkáňových kultur (D.Pavingerová)	4
1.6. Dodávání antibiotik do médií (M.Ondřej)	6
2. NĚKTERÉ OBECNÉ METODY GENOVÉHO INŽENÝRSTVÍ (J.Vlasák)	7
2.1. Izolace plazmidové DNA. Stanovení plazmidů ve kmenech bakterií (J.Vlasák)	7
2.1.1. Úvod	7
2.1.2. Materiál	8
2.1.3. Pracovní postup	9
2.1.4. Poznámky	10
2.2. Klonování DNA (J.Vlasák)	12
2.2.1. Úvod	12
2.2.2. Materiál	16
2.2.3. Pracovní postup	16
2.2.4. Poznámky	18
2.3. Transformace bakterií rodu Agrobacterium (M.Ondřej)	18
2.4. Přenos vektorových plazmidů z Escherichia coli na Agrobacterium tumefaciens bakteriální konjugací (M.Ondřej)	19
2.5. Některé číselné údaje významné pro molekulární genetiku a genové inženýrství (J. Vlasák)	20
3. NĚKTERÉ ZÁKLADNÍ METODY GENOVÉHO INŽENÝRSTVÍ ROSTLIN	21
3.1. Transformace segmentů rostlinných pletiv bakterií Agrobacterium (M.Ondřej)	21
3.1.1. Transformace listových segmentů tabáku diskovou metodou (M.Ondřej)	21
3.2. Hodnocení stupně rezistence transformovaných buněk a pletiv rostlin ke kanamycinu (M.Ondřej)	21
3.3. Hodnocení mendelistického štěpení v potomstvech transformantů obsahujících gen pro rezistenci ke kanamycinu (M.Ondřej)	22
3.4. Detekce oktopinu a nopalinu (D.Pavingerová)	22
3.4.1. Úvod	22
3.4.2. Pracovní postup	22

3.4.3.	Zásobní roztoky	23
3.5.	Detekce agropinu a manopinu (R. Bísková)	23
3.5.1.	Úvod	23
3.5.2.	Pracovní postup	24
3.6.	Izolace rostlinné DNA (M.Hrouda)	24
3.6.1.	Úvod	24
3.6.2.	Postup izolace rostlinné DNA	25
3.6.3.	Roztoky pro izolaci DNA	26
3.7.	Southernova hybridizace (M.Hrouda)	26
3.7.1.	Úvod	26
3.7.2.	Štěpení DNA restrikční endonukleázou	26
3.7.3.	Elektroforéza a přenos	27
3.7.4.	Hybridizace	27
3.7.5.	Roztoky pro hybridizaci	28