

Obsah

Úvod	5
1. Pravidla bezpečnosti práce v laboratoři molekulární genetiky	7
2. Příprava roztoků	8
2.1 Izolace DNA	8
2.1.1 Lyzační pufr	8
2.1.2 Digi pufr	9
2.1.3 PBS pufr	10
2.2 Elektroforéza	10
2.2.1 0,5 M EDTA (pH 8)	10
2.2.2 TBE 10x (1 l)	10
2.2.3 TBE 1x (1 l)	11
2.2.4 Nanášecí (žlutý) pufr	11
2.2.5 Ethidium bromid	11
3. Izolace DNA	12
3.1 Izolace DNA fenol-chloroformem	12
3.2 Izolace DNA z plné krve metodou lyze bez čištění	13
3.3 Izolace DNA pomocí komerčně vyrobených kitů	13
3.4 Detekce a kvantifikace nukleových kyselin	14
4. Elektroforéza nukleových kyselin	18
4.1 Gelová elektroforéza	18
4.2 Vizualizace molekul NK při gelové elektroforéze	19
5. Polymerázová řetězová reakce (Polymerase chain reaction – PCR)	22
5.1 Reakční směs	23
5.2 Určení koncentrací komponent reakční směsi	24
6. Kvantitativní polymerázová řetězová reakce (Real-time PCR, qPCR)	27
7. Design primerů	34
7.1 Délka a sekvence primerů	34
7.2 Annealingová teplota (pro nasedání primerů)	34
7.3 Ředění primerů	35
7.4 Koncentrace primerů pro PCR reakci	36
8. Polymorfismus délky restričních fragmentů (Restriction fragment length polymorphism – RFLP)	39
9. Mikroskopování trvalých preparátů	47
9.1 Popis mikroskopu	47
9.2 Zásady práce s mikroskopem	48
9.3 Kreslení biologických objektů	48

9.4 Příprava trvalých preparátů	49
9.4.1 Příprava trvalého preparátu s glycerol-želatinou	49
9.4.2 Příprava trvalého preparátu s kanadským balzámem	50
9.4.3 Příprava suchého trvalého preparátu rámováním	51
9.5 Mikroskopované preparáty	53
9.5.1 Mitóza rostlinných buněk	53
9.5.2 Mitóza živočišných buněk	55
9.5.3 Meióza	55
9.5.4 Chromozomy člověka.....	57
9.5.5 HeLa buňky	59
9.5.6 Obří chromozomy	60
Použitá literatura.....	63