



Laboratórium genetických analýz

Ing. Peter Socha, PhD.

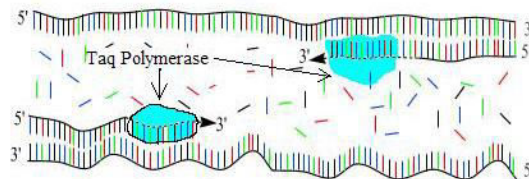
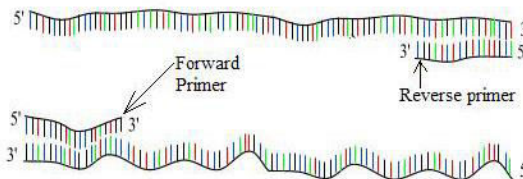
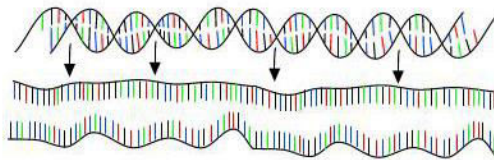


Nitra, 18.05.2016

Technické zameranie laboratória

Polymerázová reťazová reakcia (PCR)

- rýchle zmnoženie (amplifikácia) konkrétneho úseku DNA



1. Denaturácia (90-95°C)

- rozpletenie dvojzávitnice

2. Hybridizácia (36-70°C)

- naviazanie primerov

3. Elongácia (72°C)

- rast DNA vlákna

Technické zameranie laboratória

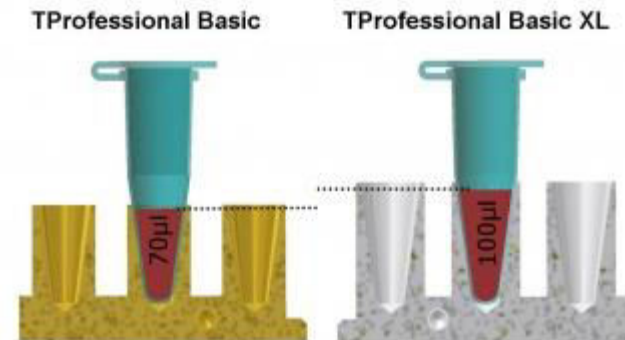
Modifikácie PCR

- *SSR, EST, SSCP, RAPD...*
 - analýzy polymorfizmu DNA
- *duplex a multiplex PCR*
 - použitie dvoch a viacerých párov primerov súčasne v jednej PCR reakcii
- *RT-PCR (PCR s reverznou transkripciou)*
 - určená k amplifikácii molekúl RNA (mRNA, rRNA)
- *real-time alebo qPCR (kvantitatívna PCR)*
 - kvantitatívna detekcia cieľenej sekvencie DNA
- a mnoho ďalších (hot-start, touchdown, nested...)

Prístrojové vybavenie laboratória

TProfessional Basic Gradient PCR termocyklér (Biometra)

- XL 96-jamkový blok určený pre analýzy vyžadujúce veľké objemy vzoriek do 100 μl , napr. emulzná PCR pre NGS sekvenovanie



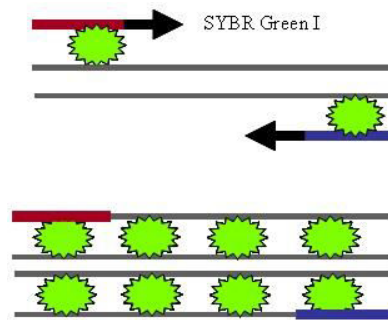
Prístrojové vybavenie laboratória

Real-Time PCR termocyklér TOptical gradient 96 (Biometra)

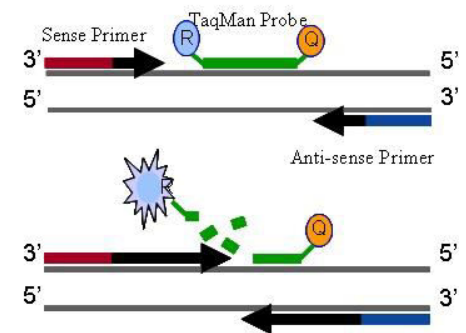
- kvantitatívna detekcia určitej sekvencie vznikajúceho PCR produktu po každom cykle s využitím fluorescenčných prób



Jednotka
TProfessional
s modulom TOptical



A



B

Prístrojové vybavenie laboratória

Sterilné PCR boxy

- pre amplifikáciu PCR produktov citlivých na kontamináciu
- 2 UV lampy s 12-hod. časovým spínačom
- 2 fluorescenčné lampy



Zameranie výskumu

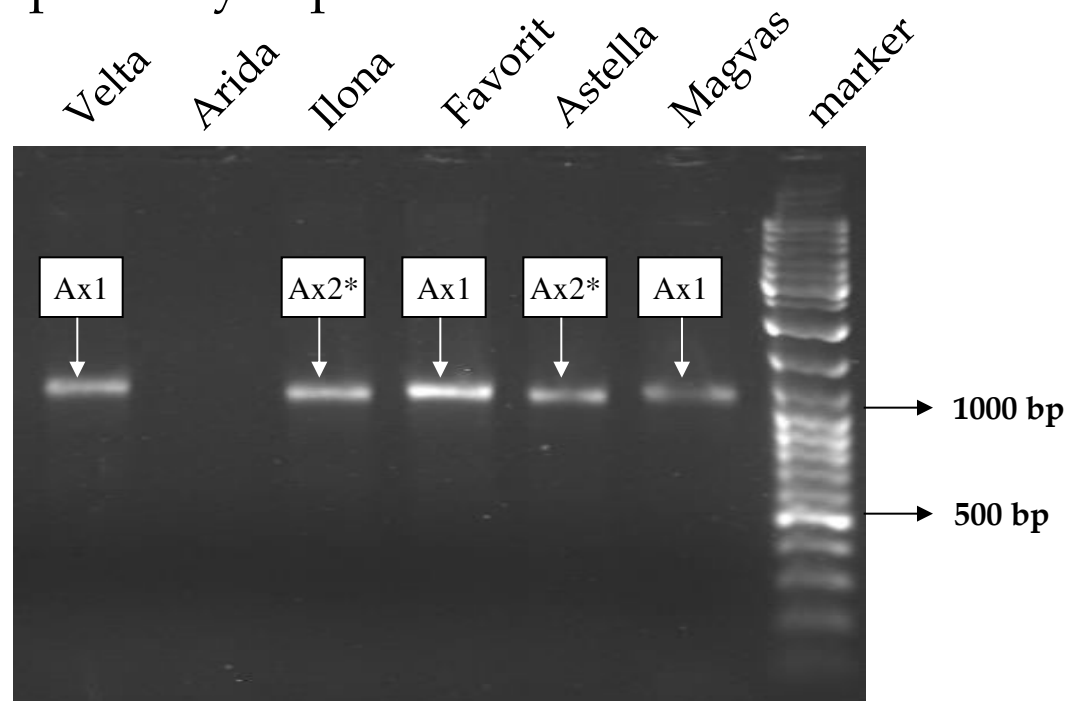
Aplikácie PCR reakcie

- humánna medicína
 - diagnostika gen. predispozícií, detekcia infekčných patogénov
- kriminalistika a súdne lekárstvo
 - usvedčenie páchatel'ov trestných činov
- archeológia
 - štúdium evolúcie a genetickej diverzity človeka
- genetika hospodárskych zvierat
 - genetické markery pre produkčné (kvalita mäsa, mlieka...) a reprodukčné (počet narodených mláďat) vlastnosti, detekcia gen. chorôb, určenie pohlavia
- genetika rastlín
 - identifikácia, diferenciácia a charakterizácia rastlinných genotypov, identifikácia patogénov rastlinných chorôb

Zameranie výskumu

Využitie DNA analýz na predikciu technologickej kvality pšenice

- detekcia génov Ax1 (1090 bp) a Ax2* (1063 bp) pomocou alelovo špecifických primerov



Zameranie výskumu

Využitie SSR analýzy na predikciu nízkej akumuláčnej schopnosti pre Cd v sóji

- detekcia alely *Cda1* kódujúcej nízku akumuláčnú schopnosť pre Cd pomocou SSR markerov



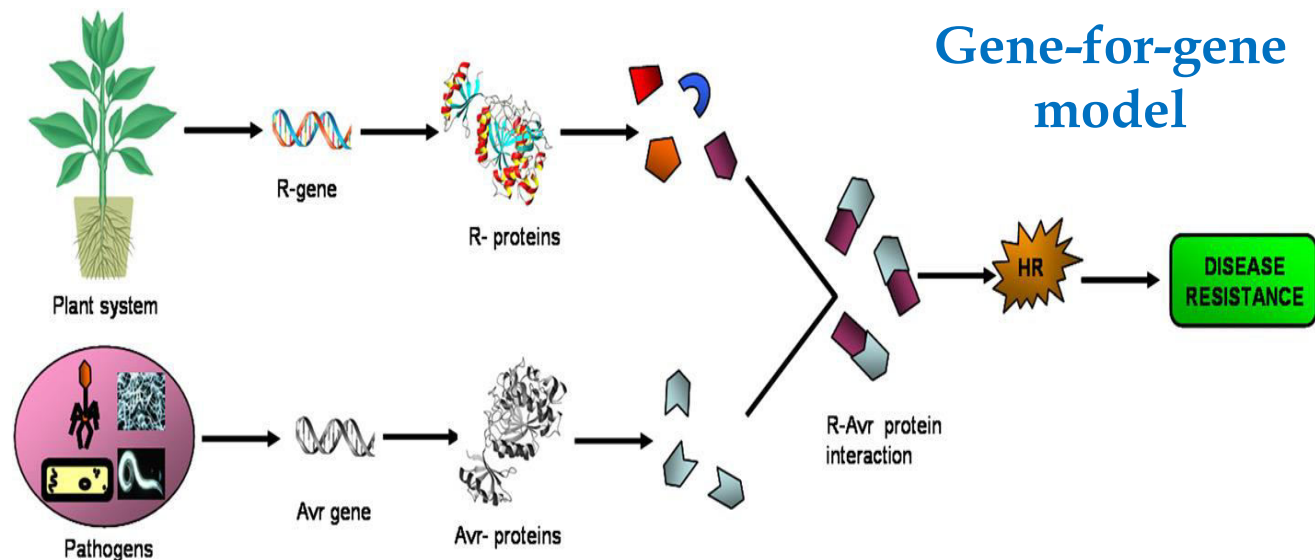
+ *Cda1* alela prítomná
- *Cda1* alela neprítomná

	Genotyp sóje	<i>Cda1</i> alela
1.	Boróka	-
2.	BS-31	-
3.	Evans	+
4.	Borostyán	+
5.	Chernyatka	-
6.	Ustya	+
7.	Kyivska 98	+
8.	Alma-ata	-

Zameranie výskumu

Monitoring génov rezistencie a identifikácia biomarkerov stresu

- identifikácia I-2 génu voči *Fusarium oxysporum* v genotypoch rajčiaka jedlého
- detekcia miRNA a rDNA stresových markerov pomocou RT-PCR analýzy



Zameranie výskumu

Návrh primerov a bioinformatické spracovanie dát



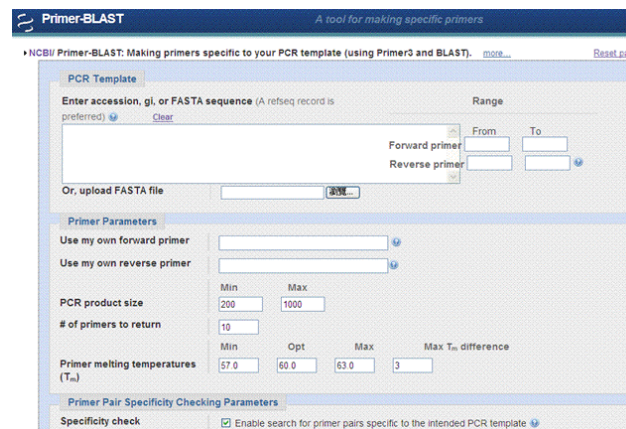
Oligo.net *Since 1989* **Molecular Biology Insight**

Home Tutorials Downloads Ordering Contact Us

OLIGO Primer Analysis Software is the essential tool for designing and analyzing sequencing and PCR primers, synthetic genes, and various kinds of probes including siRNA and molecular beacons. Based on the most up-to-date nearest neighbor thermodynamic data, Oligo's search algorithms find optimal primers for PCR, including TaqMan, highly multiplexed, consensus or degenerate primers. Multiple file batch processing is possible. It is also an invaluable tool for site directed mutagenesis.

For each primer or primer pair, Oligo's various analysis windows show a multitude of useful data, such as DNA and RNA secondary structure, dimer formation, false priming and homology, internal stability, composition and physical properties. With Oligo you can analyze open reading frames down to predicted molecular weight and pKa of proteins, and search for restriction enzyme sites, not only in DNA but also in reverse-translated proteins.

The first version of the software appeared on the market in 1989. It went through several modifications, and the last one, the change from version 6 to 7, was the most comprehensive. Oligo 7 can automatically select multiplex primers, process sequence files in batch modes, automatically design PCR primers to cover multiple DNA regions in just one search and automatically find primer/probe sets for real time PCR or finds nested primers sets. Oligo search protocols (scoring system) may be customized in detail, so you may optimize the results according to your specific needs.



Primer-BLAST *A tool for making specific primers*

• NCBI/ Primer-BLAST: Making primers specific to your PCR template (using Primer3 and BLAST). [more...](#) [Reset page](#)

PCR Template

Enter accession, gi, or FASTA sequence (A reseq record is preferred) From To

Forward primer Reverse primer

Or, upload FASTA file

Primer Parameters

Use my own forward primer

Use my own reverse primer

PCR product size Min Max

of primers to return Min Opt Max Max T_m difference

Primer melting temperatures (T_m) Min Opt Max

Primer Pair Specificity Checking Parameters

Specificity check Enable search for primer pairs specific to the intended PCR template



ExPASy
Bioinformatics Resource Portal

Prepojenie na ďalšie laboratóriá

Laboratórium živočíšnych biotechnológií

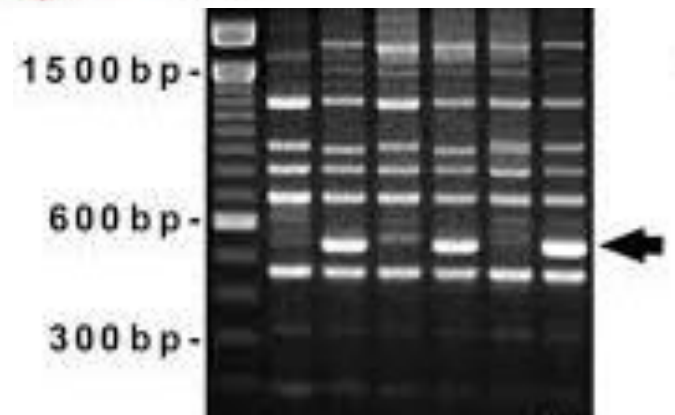
- optimalizácia a tvorba génových knižníc pre celogenómové sekvenovanie druhej generácie
- populačná genetika a ochrana prírody
- vysledovateľnosť potravín a nutrigenomika



Prepojenie na ďalšie laboratóriá

Laboratórium rastlinných biotechnológií

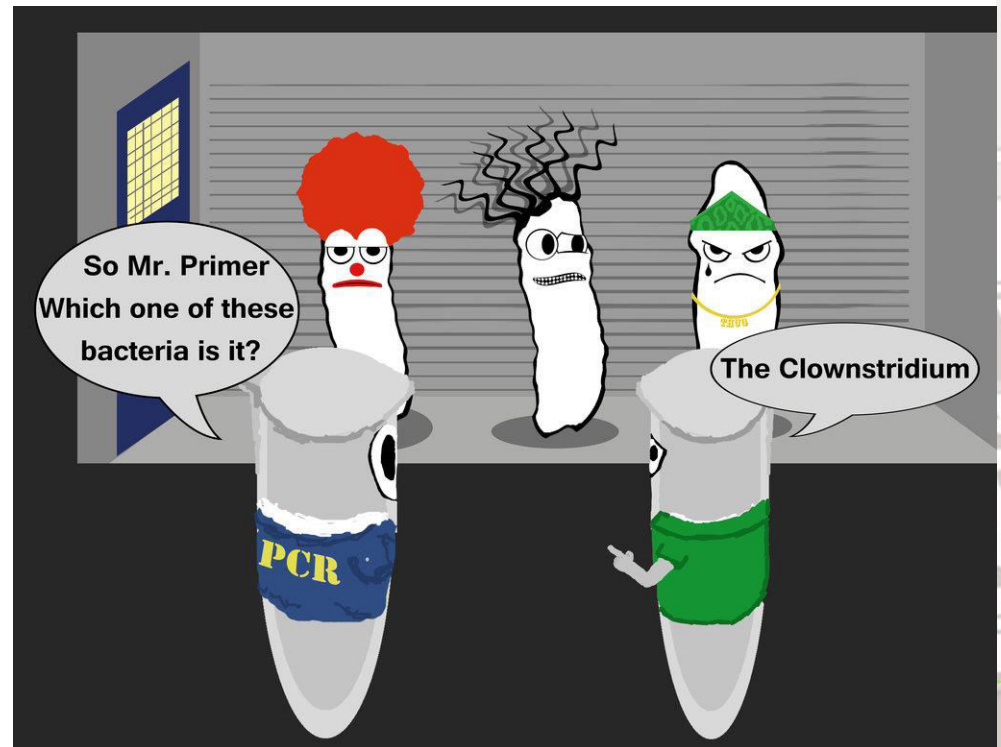
- analýzy rastlinných genómov pomocou rôznych markerov (STMS, IRAP, RAPD...)
- detekcia hospodársky významných génov a sledovanie mutácií



Prepojenie na ďalšie laboratóriá

Laboratórium experimentálnej mikrobiológie

- rýchla identifikácia patogénnych baktérií a vláknitých mikroskopických húb izolovaných z rôznych potravín a krmív





Ďakujem Vám za pozornosť

