

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE

Fakulta agrobiológie
a potravinových zdrojov

Katedra genetiky
a šľachtenia rastlín

doc. Ing. PaedDr. Jana Žiarovská, PhD. – doc. Ing. Katarína Ražná, PhD.

GENETICKÉ TECHNOLOGIE RASTLÍN – ZÁKLADNÉ PRINCÍPY A POSTUPY

(Návody na cvičenia)

Nitra 2018

Vydala Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
vo Vydavateľstve SPU

Autori: doc. Ing. PaedDr. Jana Žiarovská, PhD. (6,17 AH)
Katedra genetiky a šľachtenia rastlín,
FAPZ, SPU v Nitre

doc. Ing. Katarína Ražná, PhD. (2 AH)
Katedra genetiky a šľachtenia rastlín
FAPZ, SPU v Nitre

Recenzenti: doc. Ing. Martina Miluchová, PhD.
Ing. Veronika Lancíková, PhD.

Schválila rektorka Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre dňa 18. 9. 2018
ako skriptá pre študentov SPU.

© J. Žiarovská, K. Ražná, Nitra 2018

ISBN 978-80-552-1884-7

PREDHOVOR

Učebné texty „Genetické technológie rastlín – základné princípy a postupy (návody na cvičenia)“ si kladú za cieľ priblíženie praktického postupu vo vybraných základných metodikách, ktoré sú dnes široko využívané v oblastiach genetických technológií, molekulárnej genetiky a molekulárnej biológie rastlín, živočíchov aj mikroorganizmov. Všetky tieto oblasti dnes vo výskume ale aj v aplikovanej, najmä diagnostickej praxi uplatňujú PCR, separáciu nukleových kyselín, restriktčné štiepenie či sekvenovanie. Väčšina učebných textov však objasňuje tieto aplikácie najmä z teoretického hľadiska. Súčasťou týchto učebných textov je uchopenie predmetných postupov z hľadiska praktických postupov protokolov a ich realizácie v laboratórnych podmienkach. Princípy jednotlivých spracovaných metodík sú vysvetlené stručne, s dôrazom na aplikačnú rovinu, posilnené sú aspekty riešenia rôznych možností, ktoré pri získaných dátach môžu nastať.

Učebné texty sú v obsahovej zhode so študijnými odbormi a ich študijnými programami akreditovanými na fakultách SPU v Nitre z oblastí genetických technológií, špeciálnych produkcií, aplikovanej biológie či agrobiotechnológií. Prínosné však budú pre všetky odbory, kde aktuálna potreba interdisciplinarity privedie študentov k zoznamovaniu sa s genetickými analýzami.

Poďakovanie autoriek patrí obom recenzentkám, doc. Ing. Martine Miluchovej, PhD. a Ing. Veronike Lancíkovej, PhD., ktorých odborná erudovanosť a bohaté praktické laboratórne skúsenosti pomohli cez ich pripomienky predložené učebné texty pripraviť tak, aby slúžili ambícii, ktorú majú – praktickému zorientovaniu sa študentov v základných postupoch genetických technológií.

V Nitre august 2018

Autorky

OBSAH

1. Základné laboratórne prepočty v genetických technológiách	5
2. Techniky pipetovania	9
3. Izolácia nukleových kyselín	13
3.1 Izolácia DNA z rastlín	13
3.2 Izolácia RNA z rastlín	22
3.3 Stanovenie čistoty a koncentrácie nukleových kyselín	26
4. Restriktčné endonukleázy a restriktčné štiepenie	31
5. Techniky elektroforeotickej separácie nukleových kyselín	40
5.1 Klasická gélová elektroforéza	40
5.2 Kapilárna gélová elektroforéza	45
5.3 Pulzná gélová elektroforéza	46
5.4 Denaturačná gradientová gélová elektroforéza	46
5.5 Denaturačná elektroforéza sekvenačných produktov	47
6. Polymerázová reťazová reakcia	51
7. Návrh primérov pre polymerázovú reťazovú reakciu	59
8. Spätný prepis	69
9. PCR v reálnom čase	75
10. Priame sekvenovanie PCR produktov	85
11. Fylogenetika a konštrukcia dendrogramov	95
11.1 Princíp konštrukcie dendrogramov	96
11.2 UPGMA analýza	99
Praktické úlohy	105
Zoznam použitej literatúry	111

Autorky	doc. Ing. PaedDr. Jana Žiarovská, PhD. doc. Ing. Katarína Ražná, PhD.
Názov	GENETICKÉ TECHNOLOGIE RASTLÍN – ZÁKLADNÉ PRINCÍPY A POSTUPY (Návody na cvičenia)
Určené	Pre študentov SPU
Vydavateľ	Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Vydanie	Prvé
Vytlačené	September 2018
Náklad	80 kusov
Počet strán	112
AH-VH	8,17–8,36
Tlač	Vydavateľstvo SPU v Nitre
ISBN 978-80-552-1884-7	Cena 3,80 €

Rukopis neprešiel redakčnou úpravou vo vydavateľstve.
Za odbornú náplň vydania zodpovedajú autori.

