



Fakulta zemědělská
a technologická
Faculty of Agriculture
and Technology

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ

Katedra genetiky a biotechnologií

Doplnění Errata

Studium genetické diverzity kolonií *Pectinatella magnifica*
(Leidy 1851)

Autorka práce: Ing. Vendula Moravcová

Vedoucí práce: prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.
doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D

České Budějovice
2023

Zpracování analýzy AFLP – doplnění sekvencí adaptorů a primerů použitých při vyhodnocování genetické diverzity pomocí AFLP markeru, včetně podmínek pro zpracování fragmentační analýzy pomocí kapilární elektroforézy

Jako základ pro analýzy AFLP byla použita publikace AFLP: a new technique for DNA fingerprinting autora Vos et al., 1995. Na základě této publikace byly zvoleny i adaptory, preselektivní i selektivní primery.

Adaptor EcoRI

5' CTCGTAGACTGCGTACC 3'

3' CATCTGACGCATGGTTAA 5'

Adaptor MseI

5' GACGATGAGTCCTGAG 3'

3' TACTCAGGACTCAT 5'

Pro potřeby selekce byly zvoleny primery, které odpovídají svým párováním zvoleným adaptorům.

EcoRI 5' GACTGCCGACCAATTCACG 3'

MseI 5' GATGAGTCCTGAGTAAAGT 3'

Analyzované vzorky byly umístěny do standartní 96 jamkové destičky s opakováním pro každý vzorek. Fragmentační analýza byla zpracovávána v autorizované laboratoři na analyzátoru ABI 3500 společnosti Life Technologies. K označení produktu analýzy AFLP byl použit fluorescenční standard GeneScan™ 500 LIZ® společnosti Life Technologies a takto značený produkt byl zpracován pomocí fragmentační analýzy. Jako polymer posloužil univerzální polymer POP 7 na kapiláře o délce 50 cm. Nastavení kapilární elektroforézy odpovídalo doporučení výrobce, uvedenému v uživatelské příručce.

Doplnění údajů o podmínkách analýzy ISSR, včetně sekvencí testovaných primerů

Vzhledem k faktu, že analýza ISSR byla zvolena jako experimentální pro studie genetické diverzity bochnatky americké, pro níž nejsou v odborné literatuře dostupné doporučené postupy ani techniky, byly zvoleny takové primery, které byly na pracovišti volně k dispozici a dle zkušenosti a doporučení školitele poskytovaly kvalitní výsledky u široké škály organismů. S ohledem na nízké prostudování tohoto organismu a náhodnost výběru vhodného primeru nebylo hospodárné pořizovat nové primerové kombinace, které by nebylo potenciálně možné využít k dalším výzkumům. Primerové kombinace byly získány v databázi University of British Columbia (UBC).

UBC 810 GAGAGAGAGAGAGAGAT

UBC 825 ATATATATATATATATT

UBC 881 GGGTGGGGTGGGGTG

UBC 890 GTG GTG TGT GTG TGT GT