

VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO

FAKULTA VETERINÁRNÍ HYGIENY A EKOLOGIE  
Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat

# BIOLOGIE A MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÉ METODY

## PROTOKOLY NA CVIČENÍ

kombinovaná forma



### **Kolektiv autorů:**

MVDr. Kateřina Kobédová

MVDr. Jiřina Marková

### **Revize:**

Doc. MVDr. Eva Bártová, PhD. (autor fotografií)

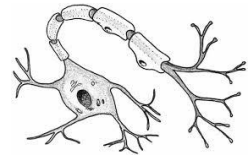
Mgr. Ivo Papoušek, PhD.

**BRNO 2016**

# ŽIVOČIŠNÁ BUŇKA

Jméno:

Skupina:

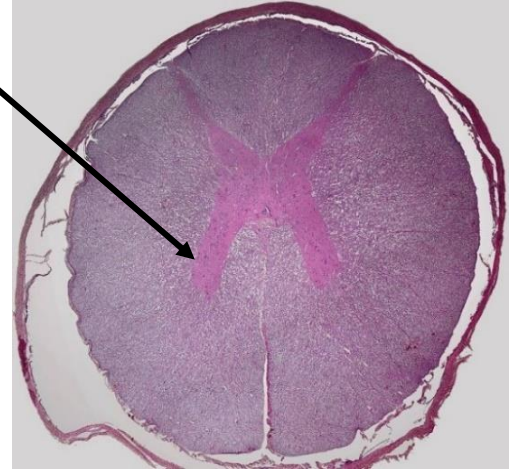


## TVAR BUNĚK – NERVOVÁ BUŇKA

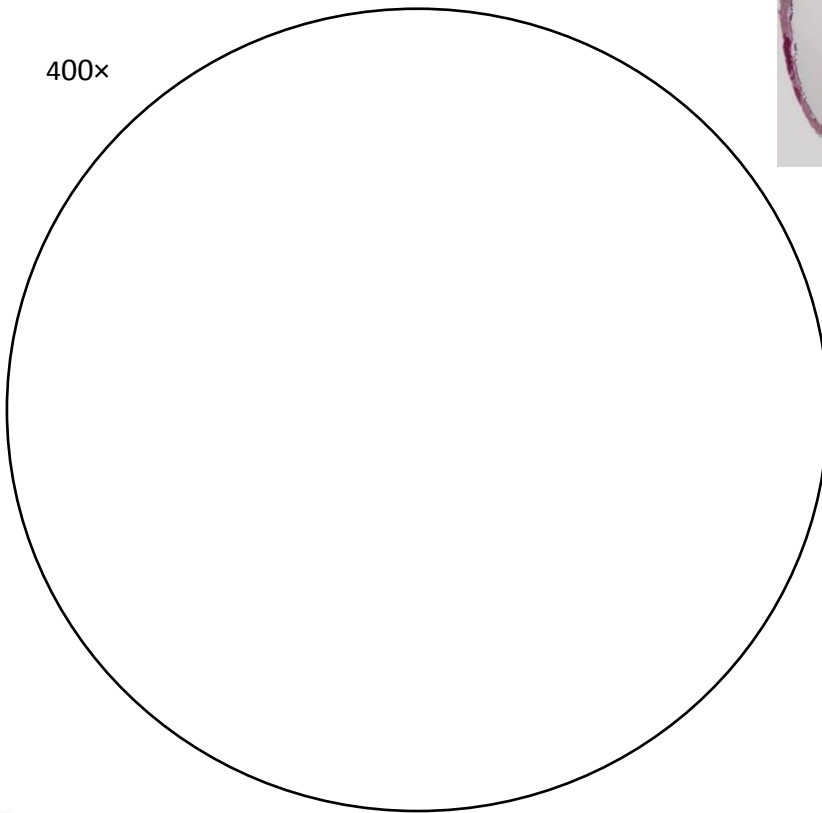
Trvalý preparát: mícha

Vyhledejte nervové buňky (neurony) ve **ventrálních rozích šedé hmoty míšni**.

- **Pozorujte při zvětšení 400x, zakreslete a popište nervovou buňku**



400x



**Popište obrázek neuronu:**



A .....

B .....

C .....

# PROKARYOTA

Jméno:

Skupina:



## PROKARYOTA

### PŘÍPRAVA TRVALÉHO PREPARÁTU SUCHOU CESTOU – ROZTĚR BAKTERIÍ

Praktický úkol: bakterie (koky, tyčky)

- vyžehněte bakteriologickou kličku v plamenu a nechte chvíli vychladnout
- proveďte kličkou stěr z povrchu agarové půdy porostlé koloniemi bakterií (zástupci Gram-pozitivních a Gram-negativních bakterií)
- obsah kličky homogenizujte v kapce vody (čím menší, tím lepší) na podložním sklíčku
- fixujte nad plamenem (3x protáhnout nad plamenem roztěrem nahoru)
- obarvěte preparát dle Grama



Barvení dle Grama:



**VLAK** (violet-Lugol-alkohol-karbolfuchsin)

- na sklíčko s roztěrem bakterií kápněte barvivo **krystalová violet** (**3 min**)
- slijte do Petriho misky, opláchněte destilovanou vodou a převrstvěte **Lugolovým roztokem** (2KI + I + H<sub>2</sub>O) (**2 min**)
- slijte, opláchněte destilovanou vodou a přidávejte alkohol (**etanol**), dokud se bude barvivo vyplavovat (šetřete ale alkoholem!)
- opláchněte destilovanou vodou a převrstvěte **karbolfuchsinem** (**1,5 min**)
- opláchněte destilovanou vodou a zlehka osušte preparát filtračním papírem



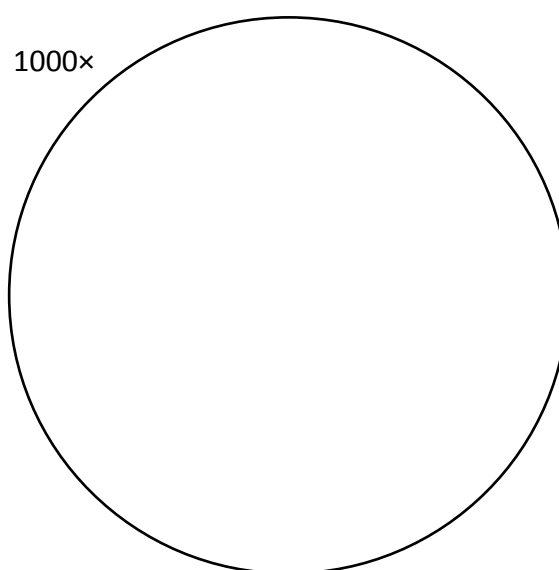
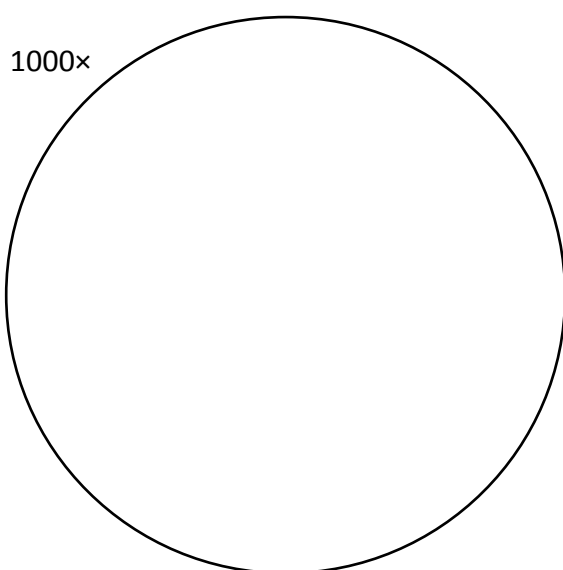
## PROKARYOTA – POUŽITÍ IMERZNÍHO OBJEKTIVU

- zastavte preparát s bakteriemi pod všemi objektivy (od 4× až po 100×), nejděte vhodné místo k pozorování a vystředte objekt v zorném poli, pootočte revolverový měnič objektivů a na krycí sklo kápněte **imerzní olej**
- sjedzte stolkem dolů, nastavte imerzní objektiv (100×) do optické osy mikroskopu a zaostřete preparát pomoci makroposuvu a mikroposuvu

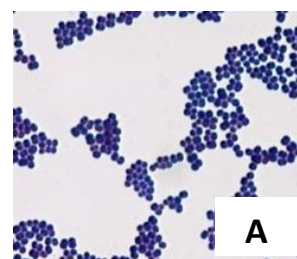


**!!! (po skončení práce s imerzním objektivem je nutné očistit čočku objektivu i sklíčko preparátu ethanolem)**

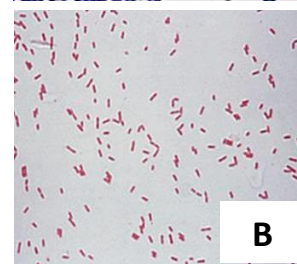
- **Pozorujte preparát s obarvenými bakteriemi pod imerzním objektivem a zakreslete oba typy bakterií**



1. Které bakterie se nachází na obrázku A a B, z hlediska barvení Gram? Uveďte konkrétní příklady jejich zástupců.



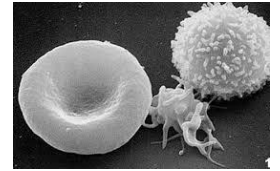
2. Vysvětlete, proč dochází při Gram barvení k rozdílnému obarvení buněčné stěny u G+ a G- bakterií.



# VYŠETŘENÍ KRVE

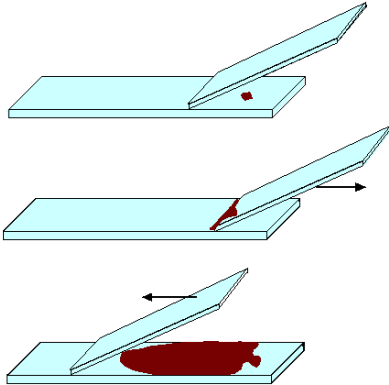
Jméno:

Skupina:



## PŘÍPRAVA TRVALÉHO PREPARÁTU SUCHOU CESTOU - KREVNÍ NÁTĚR

### Praktický úkol:



1. K jedné straně podložního skla kápněte malou kapku savčí krve.

2. Před kapku přiložte pod úhlem 45° podložní sklo se zabroušenými rohy a nechte krev roztéct podél hrany sklíčka.

3. Plynulým tahem roztáhněte kapku po podložním skle.

4. Krevní nátěr nechte zaschnout a prohlédněte jej pod mikroskopem.

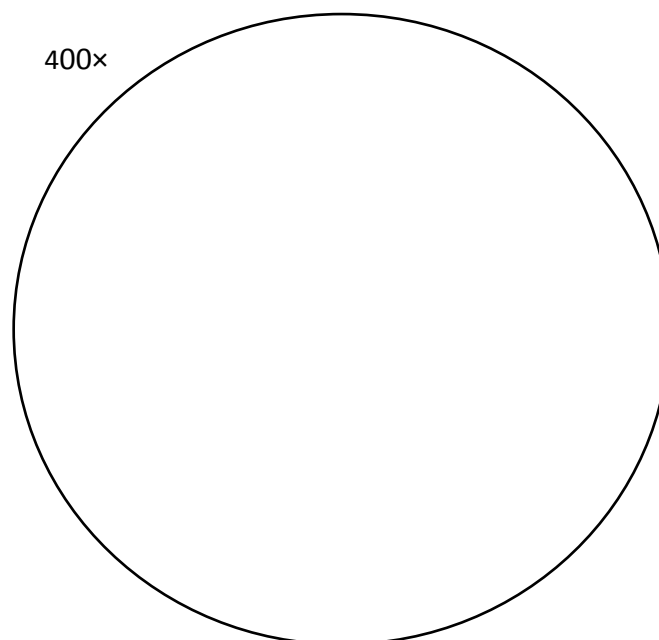
**Závěr** (nehodící se škrtněte): V preparátu pozorujeme jaderné/bezjaderné savčí erythrocyty oválného/kruhového tvaru se světlejším/tmavším středem.



### Zakroužkujte ANO/NE dle pravdivosti jednotlivých tvrzení

- |   |                 |
|---|-----------------|
| 1. Mezi základní metody pro vyšetření krve patří metoda sérologická | <b>ANO – NE</b> |
| 2. Krevní obraz nám poskytuje jen údaj o počtu krevních elementů    | <b>ANO – NE</b> |
| 3. Krevní destičky mají ledvinovité jádro                           | <b>ANO – NE</b> |
| 4. Lymfocyty a monocyty patří mezi červené krvinky                  | <b>ANO – NE</b> |
| 5. Krevní destičky se podílí na procesu srážení krve                | <b>ANO – NE</b> |
| 6. Ptačí erythrocyty jsou bezjaderné                                | <b>ANO – NE</b> |
| 7. Savčí a ptačí erythrocyty mají stejnou velikost                  | <b>ANO – NE</b> |

### ➤ Nakreslete a popište, které krevní buňky vidíte v preparátu



## MĚŘENÍ VELIKOSTI MIKROSKOPICKÝCH OBJEKTŮ

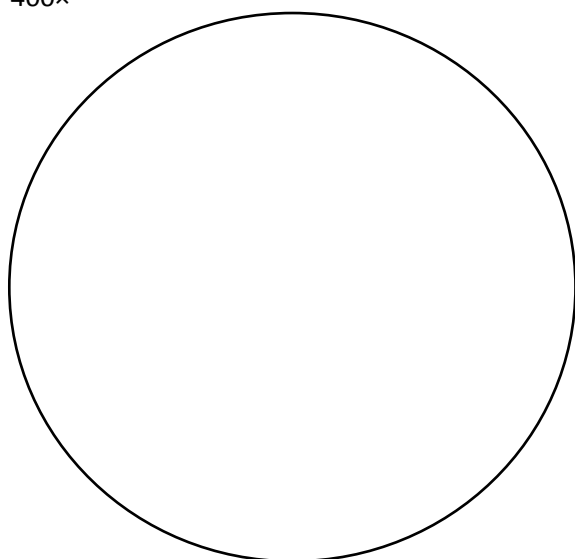
Trvalý preparát (ptačí krev), nativní preparát (savčí krev)

Měření velikosti objektů se provádí pomocí okulárového mikrometru (měřítka), který je umístěn v jednom z okulárů. Při měření velikosti objektu je třeba zjistit, kolika dílkům okulárového mikrometru odpovídá měřený objekt. Tento počet dílků se vynásobí mikrometrickým koeficientem pro daný objektiv (každý objektiv má svůj koeficient) a výsledek se vyjádří v  $\mu\text{m}$ .

Mikrometrické koeficienty pro různé objektivy: **25** (4 $\times$ ), **10** (10 $\times$ ), **2,5** (40 $\times$ ), **1** (100 $\times$ )

➤ **Nakreslete a změřte ptačí erytrocyt**

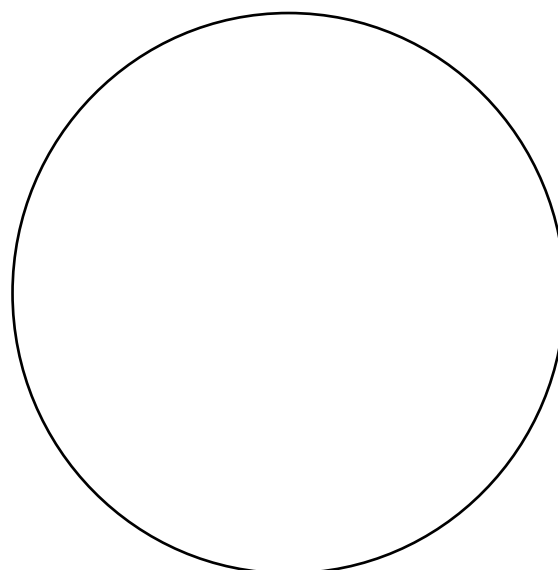
400 $\times$



Velikost ptačího erytrocytu je .....

**Nakreslete a změřte savčí erytrocyt**

400 $\times$



Velikost savčího erytrocytu je .....



**Uvedte, jaký je rozdíl mezi ptačím a savčím erytrocytem (tvar, velikost a přítomnost jádra):**

**Ptačí:**

**Savčí:**

## OSMOTICKÁ HEMOLÝZA

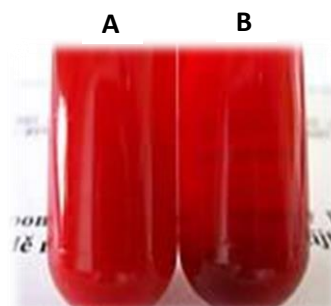
### MAKROSKOPICKY

- Do dvou zkumavek nalijte po 1 ml savčí krve. Do jedné ze zkumavek přidejte 3 ml fyziologického roztoku a do druhé stejné množství destilované vody. Mírně protřepejte, porovnejte obě zkumavky a zamyslete se nad tím, k čemu ve zkumavkách došlo.



Vyberte správné odpovědi (zakroužkujte)

1. Ve zkumavce s **destilovanou vodou** je prostředí hypotonické/hypertonické/izotonické, voda se dostává do buněk/ven z buňky a dochází k prasknutí buněk/svraštění buněk a vyplavení myoglobinu/hemoglobinu. Při provedení čtecí zkoušky je výsledek negativní/pozitivní, zkumavka je průhledná/neprůhledná. Voda byla ve zkumavce A/B.
2. Ve zkumavce s **fyziologickým roztokem** je prostředí hypotonické/hypertonické/izotonické. Při provedení čtecí zkoušky je výsledek negativní/pozitivní, zkumavka je průhledná/neprůhledná. Fyziologický roztok byl ve zkumavce A/B.



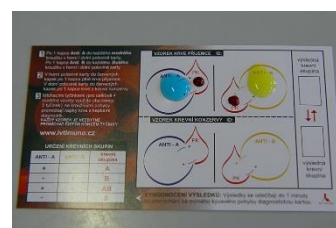
## URČOVÁNÍ KREVNÍCH SKUPIN

### Praktický úkol:

Pomocí diagnostické soupravy pro určování krevních skupin systému ABO určete krevní skupinu a zaznamenejte výsledek.

### Pracovní postup:

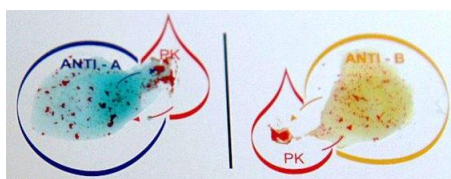
1. Do modrého kroužku karty kápněte 1 kapku monoklonálního diagnostika **Anti-A**
2. Do žlutého kroužku kápněte 1 kapku monoklonálního diagnostika **Anti-B**
3. Do červeného kroužku kápněte 1 kapku krve (po píchnutí do prstu tenkou jehlou stiskněte prst a vymáčkněte kapku krve)
4. Přiloženými tyčinkami se promíchají kapky monoklonálních diagnostik s kapkami krve a to každý vzorek jiným koncem tyčinky



- **Závěr: Jakou krevní skupinu jste určili?**



1. Jak se nazývá **pozitivní reakce indukující přítomnost odpovídajícího antigenu na erythrocytech**? A) hemokoagulace, B) sedimentace, C) aglutinace, D) precipitace, E) hemolýza
2. O jakou krevní skupinu se jedná na obrázku viz. níže?
3. Doplňte prázdná místa v tabulce:

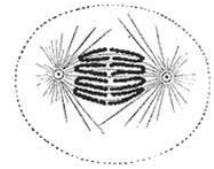


Krevní skupina	Aglutinogen	Aglutinin
A	A	
		anti-A
AB		-
	-	anti-A, anti-B

# BUNĚČNÝ CYKLUS, MITÓZA

Jméno:

Skupina:

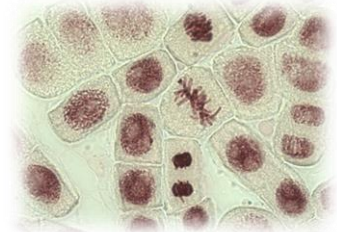


## MITÓZA V BUŇKÁCH KOŘÍNKU CIBULE

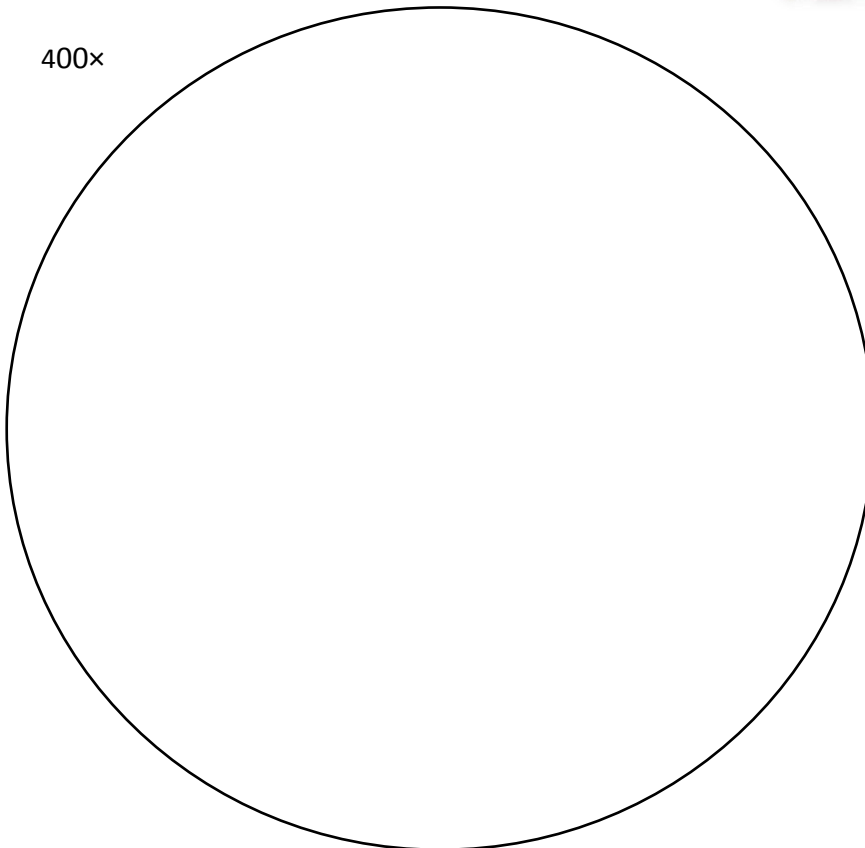
Trvalý preparát: kořínek cibule obarvený v acetoceinu

V buňkách kořínku cibule jsou viditelné různé mitotické figury. Po obarvení acetoceinem jsou patrné jednotlivé chromozomy a mikrotubuly dělicího vřeténka.

➤ **Pozorujte a nakreslete buňky ve všech fázích mitózy a v interfázi**



400x



1. Vyjmenujte fáze buněčného cyklu tak, jak jdou za sebou:
2. Co je to interfáze a které fáze buněčného cyklu do ní patří?

**3. Napište odpovídající fázi buněčného cyklu k jednotlivým charakteristikám:**

..... : kondenzace zreplikovaných chromozomů, karyokineze, cytokineze, rovnoměrné rozdělení genetického materiálu do dvou dceřiných buněk

..... : replikace jaderné DNA, duplikace centrozomů a chromozomů

..... : růst buňky, množení organel, syntéza proteinů a enzymů

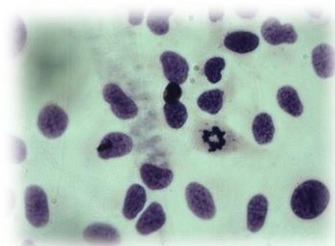
..... : počátek formace mitotického vřeténka, množení organel, růst buňky, syntéza proteinů a enzymů



## MITÓZA V TKÁŇOVÉ KULTUŘE

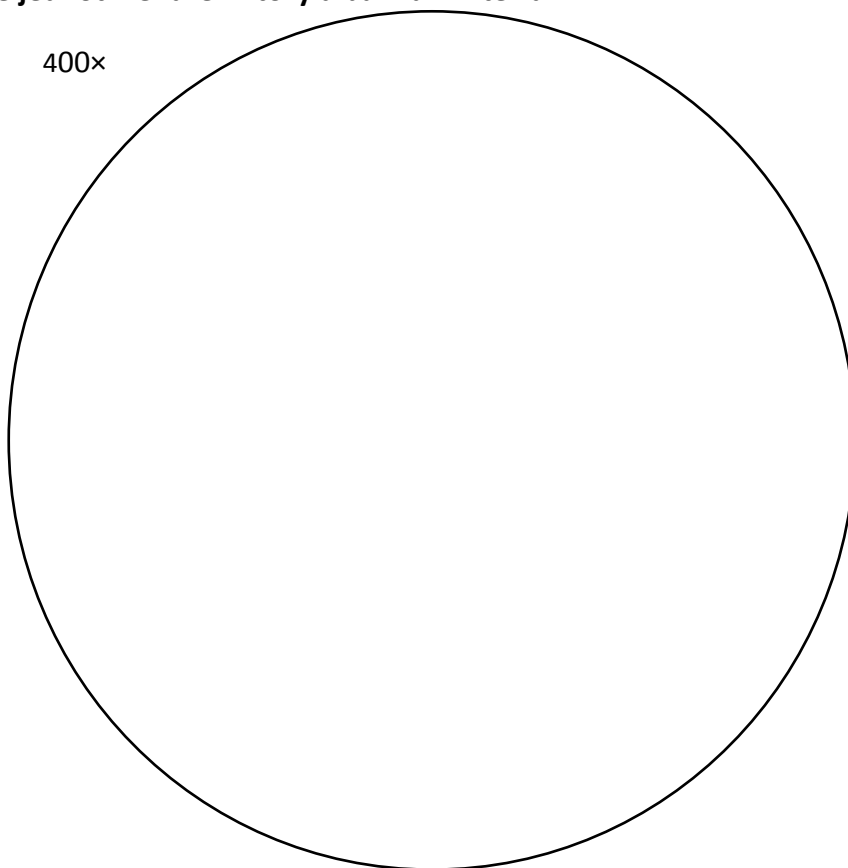
Trvalý preparát: preparát z tkáňové kultury z ledvin králíka

Mitotické buňky jsou oproti buňkám v interfázi větší, světlejší, bez jádra (místo něj některá z mitotických figur). V preparátu lze najít **monaster** (buňka v metafázi) a poruchy mitózy (např. **anafázový most**).



➤ **Nakreslete jednotlivé fáze mitózy a buňku v interfázi**

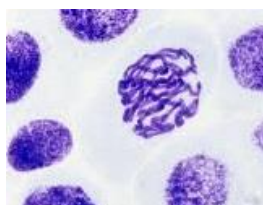
400×



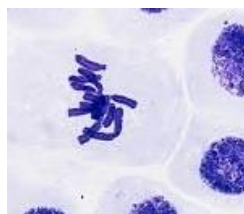
1. **Napište k písmenům pod obrázky odpovídající názvy mitotických fází**



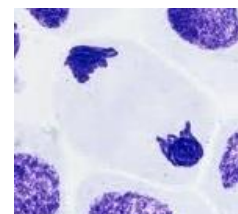
A



B



C

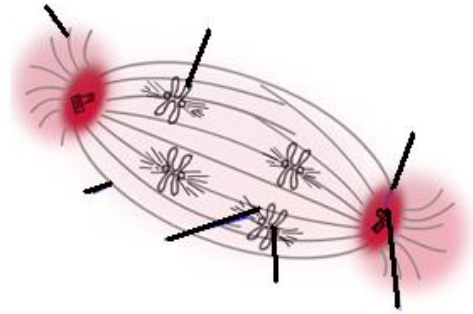


D

1. Jaký útvar je zobrazen na obrázku?

2. Přiřaďte názvy k jednotlivým strukturám

- A) astrální mikrotubuly
- B) centrioly
- C) kinetochorové mikrotubuly
- D) polární mikrotubuly
- E) centrozom
- F) kinetochor
- G) chromatida



Napište fáze mitózy tak, jak jdou za sebou a přiřaďte k nim odpovídající charakteristiky.

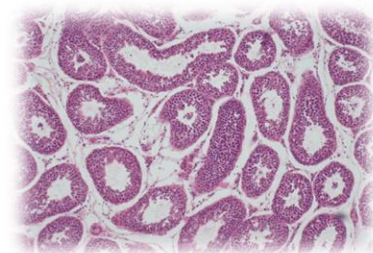
- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

**a)** rozpad jaderného obalu; **b)** chromozomy se shromáždí v ekvatoriální rovině za pomoci mikrotubulů a mol. motorů kinezinů; **c)** navázání kinetochorových mikrotubulů na kinetochor chromozomu; **d)** oddělení sesterských chromatid pomocí proteolytické separázy; **e)** zánik jadérka a kondenzace zreplikovaných chromozomů; **f)** tvorba jaderného obalu z váčků jaderné membrány kolem každé sady chromozomů; **g)** segregace sesterských chromatid k opačným pólům vřetenka zkracováním mikrotubulů a za pomoci molekulových motorů dyneinů; **h)** formace dělicího vřetenka a vznik kinetochorů; **i)** vznik 2 jader s jadérky a zánik dělicího vřetenka

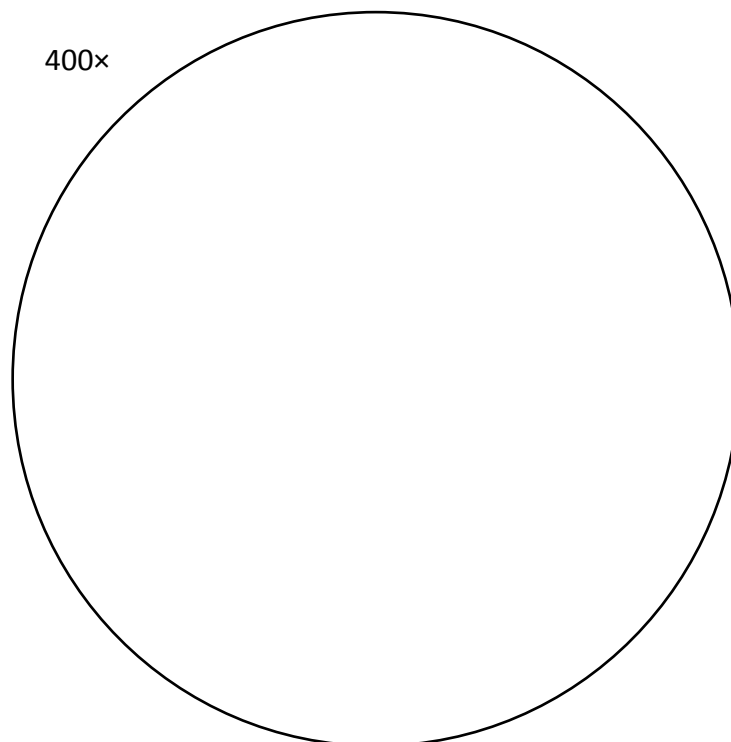
## MITOTICKÉ BUŇKY V HISTOLOGICKÉM ŘEZU VARLAT

Trvalý preparát: varle laboratorního potkana barvené hematoxylin-eosinem

Preparát varlete nejdříve prohlédněte při malém zvětšení a najděte místo, kde je možné pozorovat buňky v mitóze (**na obvodu semenotvorných kanálků**).



- **Nakreslete semenotvorný kanálek s vyznačením místa, kde se nachází buňky v mitóze**



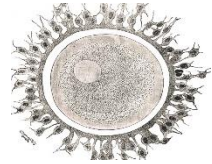
**Doplňte chybějící slova do vět:**

1. Mitóza zahrnuje 2 období: ..... (dělení jádra) a ..... (dělení cytoplazmy).
2. Cytokineze u živočišné buňky probíhá pomocí ....., který je tvořen cytoskeletálním vláknem (.....) a molekulovým motorem (.....).
3. Cytokineze u rostlinné buňky je zajištěna pomocí ....., který je vytvořen ze zbytků polárních ....., podél nichž jsou transportovány váčky z ..... (buněčná organela).

# ROZMNOŽOVÁNÍ A VÝVOJ

Jméno:

Skupina:



## SPERMIOGENEZE

Trvalý preparát: varle potkana barvené hematoxylin-eosinem

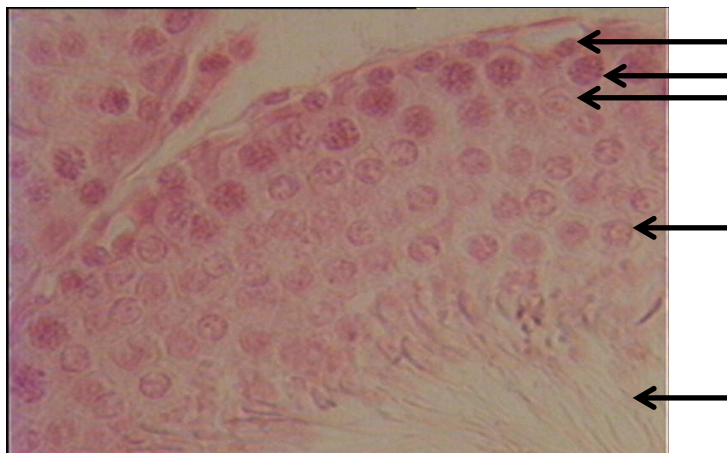
Na příčném řezu semenotvorného kanálku pozorujte směrem od periferie do středu kanálku vývojová stádia spermiogeneze.

➤ **Zakreslete jednotlivé typy buněk (musí být patrný rozdíl v jádru a velikosti buňky)**

400×



1. **Vyznačte v obrázku jednotlivé buňky spermiogeneze:**



- A Spermatogonie
- B Spermatida
- C Spermie
- D Spermatocyt I. řádu
- E Spermatocyt II. řádu

2. **Doplňte do textu vývojová stádia buněk spermiogeneze:**

Na periferii semenotvorného kanálku se nachází ..... (menší buňky s jádrem bohatým na chromatin), směrem do středu kanálku se vyskytují ..... a ..... (liší se velikostí buněk i typem jader). Blíže ke středu jsou patrné ..... (s malým množstvím chromatinu v jádrech) a v centru kanálku můžeme pozorovat dozrávající .....

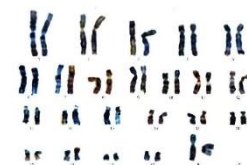
3. **Jak se nazývá samčí pohlavní hormon, který je produkován ve varlatech a ovlivňuje spermiogenezi?**

4. **Jak dlouho trvá spermiogeneze?**

## KARYOTYPY

Jméno:

Skupina:



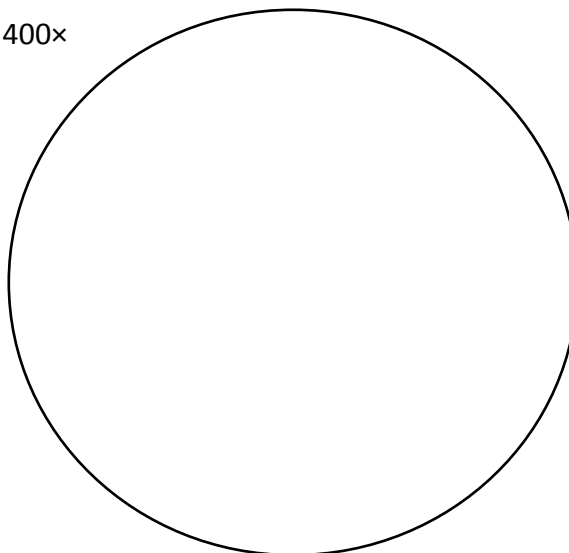
## KARYOTYPY SAVCŮ

Trvalý preparát: karyotyp králíka, ovce, prasete, koně, skotu nebo člověka obarvené Giemsov

➤ **Prohlédněte si karyotypy a nakreslete jeden vybraný preparát**

Karyotyp .....

400×



**Závěr:** K obrázkům uveďte zápis karyotypu daného druhu zvířete. Jaké převládají v preparátech chromozomy podle polohy centromery?



1. **Doplňte v tabulce místo šedých políček**  
(54, skot, cibule kuchyňská, 38, člověk, 44, 64)
2. **Napište pod obrázky, který karyotyp patří skotu, člověku a cibuli**

Druh zvířete	Počet chromozomů
prase	
	46
králík	
kůň	
	60
ovce	
	16



.....



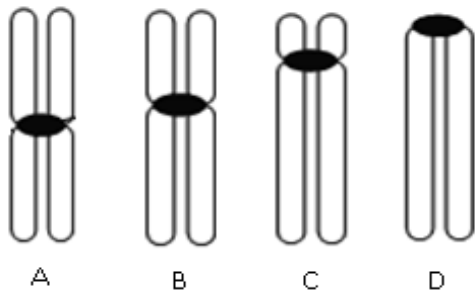
.....



.....

## CHROMOZOMY, KARYOTYPY - DOPLŇUJÍCÍ ÚKOLY

1. Doplňte, o jaké typy chromozomů se jedná podle polohy centromery



- A .....
- B .....
- C .....
- D .....

2. Doplňte šedá políčka v tabulce

Typ chromozomového určení pohlaví	Samec	Samice	Zástupci
	XY		Savci, obojživelníci
		ZW	
Protenor			Ploštice, rovnokřídlý hmyz
včela		2n	Společenský hmyz

3. Doplňte karyotypy:

- a) zdravý muž: .....
- b) muž s Downovým syndromem .....
- c) žena s Edwardsovým syndromem .....
- d) beran .....

4. Uveď, co nejpřesněji (druh, pohlaví, syndrom), komu patří uvedené karyotypy:

- a) 45, XO .....
- b) 47, XXY .....
- c) 47, XX+13 .....
- d) 60, XX .....
- e) 64, XY .....

5. Jaký je rozdíl mezi trisomií a triploidií? Uveďte i zápis

Trisomie:..... Zápis: .....

Triploidie: ..... Zápis: .....

6. Zakroužkujte nesprávné tvrzení, týkající se Baarova tělíska:

- a) Jedná se o tzv. pohlavní chromatin
- b) Vyskytuje se u heterogametického pohlaví
- c) Jde o inaktivovaný chromozom X
- d) Je uloženo na vnitřní straně jaderné membrány

# MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

Jméno:

Skupina:



**Cíl:** Seznámení se se základními metodami, využívanými k analýze DNA

1. izolace DNA
2. amplifikace DNA pomocí PCR
3. restriční štěpení PCR produktu
4. elektroforéza
5. vizualizace DNA a hodnocení výsledku



**Úkol:** Určení pohlaví ptačího jedince z biologického materiálu (svalová tkáň) pomocí restriční analýzy PCR produktu specifického genu.

## MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE I – PŘÍPRAVA TKÁNĚ K IZOLACI DNA

Postup přípravy buněčného lyzátu:

1. vypreparujte kousek tkáně (svalovina ptáků) o velikosti maximálně dvou špendlíkových hlaviček a přeneste do mikrozkušavky (1,5 ml) popsané fixem
2. přidejte **700 µl roztoku TD1**
3. připipetujte **15 µl proteinázy K**
4. uzavřete mikrozkušavku, v ruce promíchejte překlápěním zkumavky a vložte do termobloku (vodní lázně) předehřátého na **56°C** a inkubujte min. 3 hod.
5. buněčný lyzáat se uchová do příštího týdne při pokojové teplotě



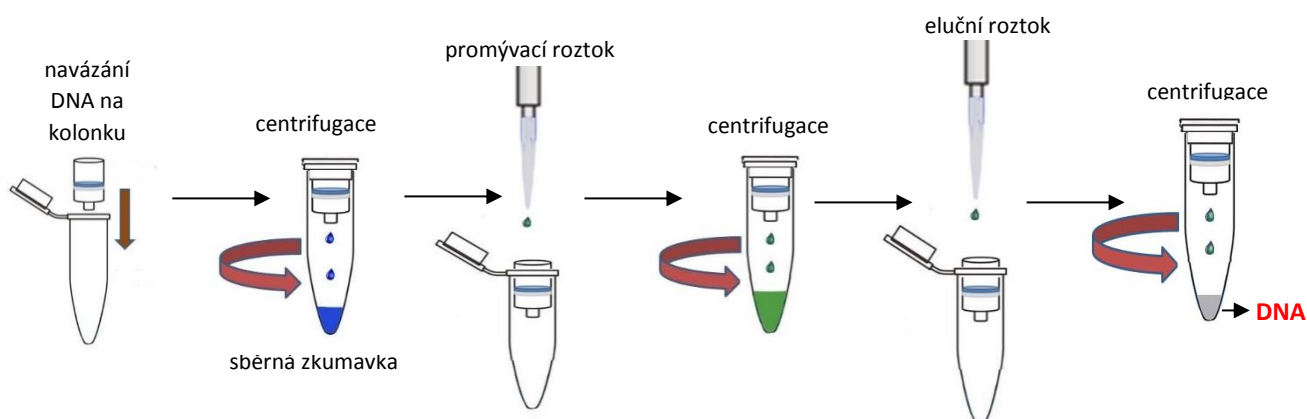
### ZÁSADY PRÁCE

- *studenti zpracovávají vzorek ve dvojicích*
- *mikrozkušavky je třeba označit číslem skupiny a pořadovým číslem dvojice studentů*
- *sada automatických pipet je k dispozici pro pracovní skupinu*
- *je nutné vybrat správnou pipetu dle rozsahu objemu*
- *zkontrolovat a nastavit na pipetě požadovaný objem - pozor na přetočení pipety mimo dané rozmezí!!*
- *k zajištění přesného objemu je třeba důkladně nasadit špičku na pipetu (bezdotykově!!)*
- *k zabránění kontaminace pipet se pro práci s DNA používá špička s filtrem*
- *k zabránění kontaminace vzorku a chemikálií se pro každou chemikálii používá vždy nová špička (jednu špičku lze použít pro stejnou chemikálii)*
- *požadovaný objem se získá stlačením pipety do první polohy a ponořením špičky pipety do nasávané tekutiny, uvolněním stlačení, přenesením požadovaného objemu do zkumavky a stlačením pipety do první polohy*
- *homogenizace vzorku se provádí ve zkumavce tzv. propipetováním tj. po přidání určité chemikálie do zkumavky třikrát opakovaně nasát směs do špičky a vytlačit*
- *odstranění špičky se provádí bezdotykově*

## MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE II – IZOLACE DNA A PCR

### IZOLACE DNA

1. vezměte kolonku se sběrnou zkumavkou a víčko kolonky popište fixem
2. přelijte celý obsah z mikrozukavky do kolonky
3. **centrifugujte 1 min při 10 000** otáčkách
4. obsah sběrné zkumavky vylijte a vraťte pod kolonku
5. do kolonky napipetujte (novou špičkou) **400 µl** promývacího roztoku **TD2**
6. **centrifugujte 1 min při 10 000** otáčkách
7. obsah sběrné zkumavky vylijte a vraťte pod kolonku
8. **centrifugujte 1 min při 10 000** otáčkách
9. vložte kolonku do nové mikrozukavky (1,5 ml) popsané fixem (původní sběrnou zkumavku vyhoďte)
10. napipetujte doprostřed kolonky **40 µl** elučního roztoku **TD3**
11. **inkubujte 1 min** při pokojové teplotě
12. **centrifugujte 1 min** při **10 000** otáčkách
13. odstraňte kolonku (vyhoďte ji do odpadní nádoby) a uzavřete mikrozukavku, která obsahuje izolovanou DNA



### PCR

#### Směs pro jeden vzorek:

- **10 µl** - PCR master mix (směs nukleotidů dNTP, DNA polymerázy a  $Mg^{2+}$  iontů)
- **2 µl** - primer PP
- **2 µl** - primer P8
- **4 µl** - voda pro PCR

Každá pracovní skupina si do mikrozukavky (1,5 ml) připraví společnou PCR směs dle počtu vzorků (n) s rezervou (n+1):

1. napipetujte **18 µl** PCR směsi do PCR zkumavky (**0,2 ml**) označené fixem (na boku i víčku)
2. přidejte **2 µl** izolované DNA
3. uzavřete PCR mikrozukavku a vložte ji do termocyklieru
4. po dokončení PCR bude PCR produkt uchován v lednici



## MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE III – RESTRIKČNÍ REAKCE, ELEKTROFORÉZA

### RESTRIKČNÍ REAKCE

1. napipetujte **1,2  $\mu$ l** směsi **restriktázy Hae III** do nové označené PCR zkumavky (0,2 ml)
2. přidejte pipetou (novou špičkou s filtrem) **10  $\mu$ l PCR produktu**
3. vložte do termocykleru při teplotě **37 °C na 45 min**

### GELOVÁ ELEKTROFORÉZA

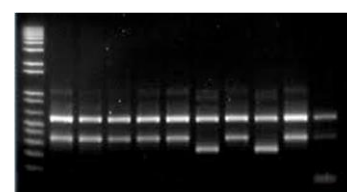
#### Příprava 1,2% agarózového gelu (jeden gel pro 12 studentů)

1. do baňky typu Erlen odvažte **1,2 g agarózy**
2. skleněným válcem odměřte **100 ml TBE pufru**, přidejte do baňky a kroužením promíchejte
3. dejte baňku do mikrovlnné trouby a vařte na max. ohřev **2 min** (jakmile začne obsah kádinky bublat, přerušte ohřev a promíchejte obsah kádinky v ruce s rukavicí)
4. vyjměte baňku z mikrovlnné trouby a ochladte ji pod tekoucí vodou o teplotě 60 °C (teplota, kdy několik sekund udržíte kádinku přiloženou ke hřbetu ruky)
5. napipetujte (novou špičkou) **3  $\mu$ l MIDORI Green** (10000x koncentrovaný roztok) a v ruce promíchejte
6. připravte si nalévací vanu a přelijte do ní rozehřátý agar z baňky
7. do vany vložte hřebínek a pipetovací špičkou odstraňte případné bubliny v gelu (agar ztuhne asi po 30 min)



#### Nanášení vzorků

1. po ztuhnutí gelu vyjměte hřebínek, otočte vanu s gelem a zalijte vanu TBE pufrem tak, aby byl celý gel ponořený
2. do jedné z jamek v gelu (nejlépe do prostřední) naneste **3  $\mu$ l** velikostního markeru (ladderu)
3. do jamek v gelu nanášejte (novou špičkou) opatrně **10  $\mu$ l** vašeho PCR produktu po restriktční analýze (je třeba manipulovat s pipetou opatrně, ať neprotrhnete gel). Každý nanáší svůj vzorek.
4. do jedné z jamek v gelu naneste **10  $\mu$ l** směsného vzorku **PCR produktu** (směsný vzorek PCR produktu připravíte smícháním všech vzorků ve cvičebně)
5. zapojte elektroforetickou vanu do zdroje a pusťte elektrický proud při konstantním napětí **160 V** po dobu min. **15-20 min**
6. po ukončení elektroforézy přemístěte gel na UV-transluminátor a pod UV zářením odečtěte výsledek (v rámci bezpečnosti je třeba pozorovat gel přes plastový kryt)





## KONTROLNÍ OTÁZKY

### 1. Vyberte, z jakého materiálu lze izolovat DNA?

- A) priony, B) savčí krev, C) ptačí krev, D) vlasová cibulka, E) plodová voda, F) sliny, G) bakterie, H) rostlinné pletivo, I) kvasinky, J) viry

### 2. Zakroužkujte ANO/NE dle pravdivosti jednotlivých tvrzení

- |   |          |
|---|----------|
| 1. Molekulární biologie studuje strukturu a interakci biomakromolekul | ANO – NE |
| 2. Chromatografie <u>nepatří</u> mezi metody molekulární biologie     | ANO – NE |
| 3. DNA je možné izolovat i z virových částic                          | ANO – NE |
| 4. Tkáně nebo orgány musí být před izolací nejprve homogenizovány     | ANO – NE |
| 5. Lysozym slouží k odstranění kontaminant a k extrakci DNA z roztoku | ANO – NE |
| 6. Termocykler je přístroj k izolaci DNA                              | ANO – NE |

### 3. Nakreslete strukturu DNA tak, aby bylo patrné, co tvoří základ řetězce a jak jsou oba řetězce spojeny, vyznačte i orientaci řetězců

### 4. Napište alespoň tři různé konkrétní účely, ke kterému se využívají metody molekulární biologie

1. ....
2. ....
3. ....

### 5. Kdo se zasloužil o rozvoj metody PCR?

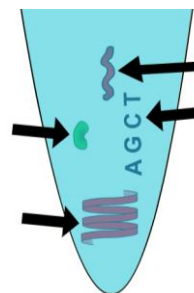
- A) Jeffreys, B) Mullis, C) Sanger, D) Linné

### 6. Popište obrázek - složky reakční směsi pro PCR

### 7. Kolik cyklů mívá obvykle PCR?

- A) 15-20, B) 25-35, C) 30-50, D) 50-100, E) víc než 100

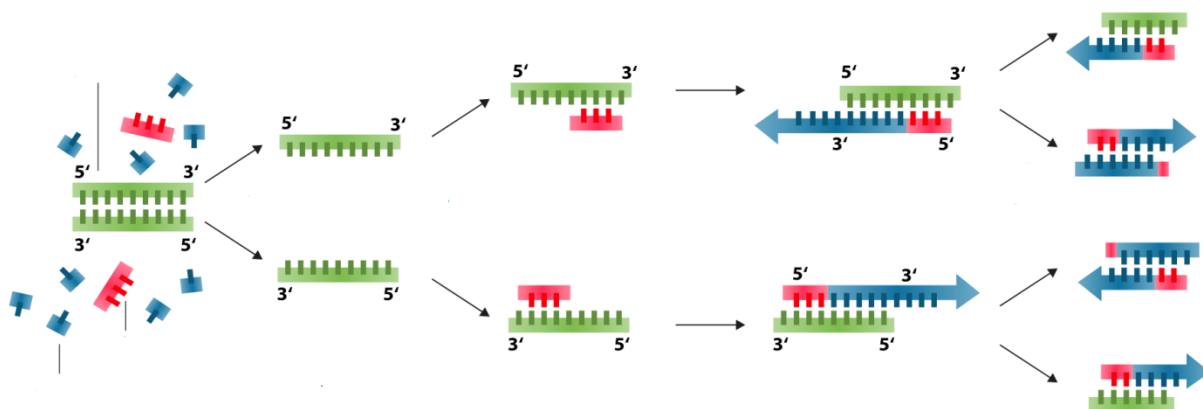
### 8. Kolik kopií DNA vznikne z jedné výchozí molekuly DNA po čtyřech cyklech PCR reakce?



**9. Která tvrzení o primerech jsou pravdivá?**

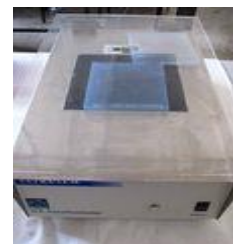
- |  |                 |
|--|-----------------|
| A) jsou to chemicky syntetizované oligonukleotidy                  | <b>ANO - NE</b> |
| B) slouží jako templáty (vzory) pro syntézu nového řetězce DNA     | <b>ANO - NE</b> |
| C) vymezují úsek, který bude amplifikován (množen)                 | <b>ANO - NE</b> |
| D) k zahájení PCR reakce stačí jeden specifický primer             | <b>ANO - NE</b> |
| E) připojují se ke komplementárním úsekům protilehlých DNA řetězců | <b>ANO - NE</b> |

**10. Do schématu doplňte, o které fáze PCR se jedná a přiřaďte k nim teploty při kterých obecně probíhají (72 °C, 94-95 °C, 55-65 °C)**



Fáze: (teplota) 1) ..... 2) ..... 3) .....

**11. Jak se nazývají přístroje na obrázcích a k čemu slouží?**



.....  
 .....  
 .....  
 .....

**12. Jak lze orientačně zjistit velikost úseků DNA v gelu? Vyberte správnou odpověď.**

- A) pravítkem, B) pomocí velikostního standardu (žebříčku), C) pomocí enzymů, D) nelze zjistit, musí se sekvenovat

**13. Při jaké teplotě probíhá štěpení DNA pomocí restrikční endonukleázy?**

- A) 94°C, B) 20°C, C) 75°C, D) 37°C

**14. Opravte text (nehodící se škrtněte, doplňte, nebo vyberte správnou možnost)**

**A. Izolace DNA**

Izolace DNA se provádí pomocí izolační soupravy, založené na principu adsorpce ..... na silikát. Vyšetřovaný materiál (ptačí tkáň) je lyzován pomocí ..... (obsahuje detergenty, které rozpouští membrány a denaturuje .....), enzymu ..... (štěpí bílkoviny včetně histonů vázajících se na DNA) a enzymu ..... (rozkládá RNA).

Výběr odpovědí: *lyzační pufr, RNAáza, DNA, proteináza K, bílkoviny*

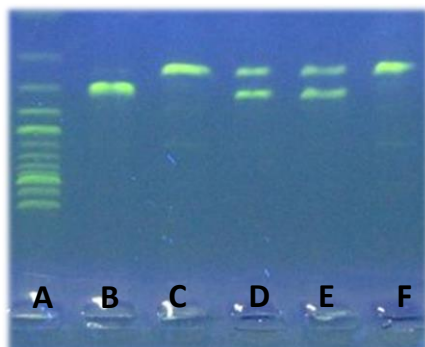
Buněčný lyzát byl přenesen na izolační kolonku/do sběrné zkumavky, jejíž součástí je silikonový/silikátový povrch. V přítomnosti choanotropních solí, které jsou součástí lyzačního pufu adheruje/precipituje DNA na silikát. Opakovanou denurací/centrifugací byla kolonka s navázanou DNA promyta pomocí promývacího roztoku a nakonec uvolněna pomocí elučního/lyzačního roztoku.

**B. Restrikční reakce**

K určení pohlaví u ptáků se využívá gen CHD/ gen SRY, který kóduje lipid/protein, jež reguluje aktivaci transkripce na úrovni chromatinu. Tento gen je u ptáků lokalizován na autozomech/gonozomech. Samčí pohlaví je u ptáků homogametické/heterogametické s pohlavními chromozomy XX/XY/ZZ/ZW. Samičí pohlaví se značí .....

Pomocí PCR byla namnožena RNA/DNA odpovídající části genu na chromozomu ..... a na chromozomu..... PCR produkt byl štěpen pomocí enzymu ..... PCR produkt genu CHD-Z toto místo obsahuje/neobsahuje, proto dojde působením enzymu k odštěpení fragmentu DNA, zatímco PCR produkt genu ..... se enzymem neštěpí. Fragменты DNA byly separovány pomocí spektrofotometru/gelové elektroforézy, vizualizovány pod ultrafialovým/elektromagnetickým zářením a vyhodnoceny.

**15. K písmenům z fotky gelu přiřipšte, zda se jedná o samce, samici, nenaštěpený PCR produkt či velikostní standart (žebříček).**



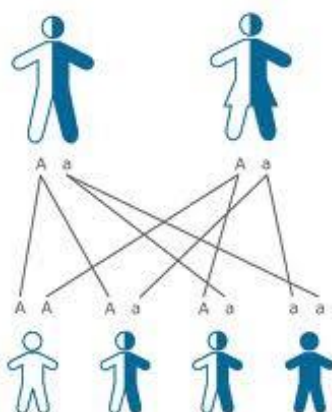
- A. ....
- B. ....
- C. ....
- D. ....
- E. ....
- F. ....

VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO

FAKULTA VETERINÁRNÍ HYGIENY A EKOLOGIE

Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat

# GENETICKÉ PŘÍKLADY



# Genetické příklady I: MENDELISMUS, MONOHYBRIDISMUS

Jméno:

Skupina:



## Vzorový úkol: 1

Napište úplný rozpis křížení homozygotních forem hledíku (*Antirrhinum maius*) červenokvětého (AA) s bělokvětým (aa). Heterozygot (Aa) má květy růžové.



- Doplňte genotypy a napište fenotypový a genotypový štěpný poměr v F1 a F2 generaci.
- Jak je dědičně založena barva květů hledíku (úplná nebo neúplná dominance)?
- Na zahrádce vyrostlo 14 červených, 58 růžových a 28 bílých rostlin. Pomocí  $\chi^2$  testu zjistěte, zda odpovídají teoretickému štěpnému poměru. (tabulková hodnota - příloha skript 1).

## Řešení

a) P: AA × aa

	A	A
a	Aa	Aa
a	Aa	Aa

Aa × Aa

	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

F1 : Aa (uniformní potomstvo)

F2: fenotypový poměr **1:2:1**  
genotypový poměr **1:2:1**

b) Mezi alelami je vztah **neúplné dominance**

c)

$x_i$  .....

očekávaný poměr:

$e_i$

14	58	28
1	2	1
25	50	25

( $e_i$  hodnoty vypočítáte sečtením  $14+58+28 = 100/4=25$ , poté násobíte  $25 \times 1$ ,  $25 \times 2$  a  $25 \times 1$ )

$$\chi^2_{(N)} = \sum \frac{(x_i - e_i)^2}{e_i} \quad (\text{do vzorce se dosazují hodnoty } x_i \text{ a } e_i, \text{ viz ovály})$$

$$\chi^2 = \frac{(14-25)^2}{25} + \frac{(58-50)^2}{50} + \frac{(28-25)^2}{25} = 4,84 + 1,28 + 0,36 = \underline{\underline{6,48}}$$

$$N = (\text{počet štěpných tříd} - 1) = 3 - 1 = \underline{\underline{2}}$$

$$P = (\text{berte hodnotu pro 5\% odchylku, která se ve statistice používá nejčastěji}) = \underline{\underline{0,05}}$$

Tabulková hodnota: **5,99**

**6,48 < 5,99** (vypočtená hodnota je větší než tabulková).....znak se nevyštěpil v očekávaném fenotypovém štěpném poměru.



### Vyřešte následující úkoly:

2. Pomocí  $\chi^2$  testu zjistěte, zda experimentální štěpný poměr F2 generace; 79 kuních tmavých, 170 kuních světlých a 95 ruských králíků odpovídá zjištěnému teoretickému fenotypovému štěpnému poměru (tabulková hodnota - příloha skript 1).

3. U tykví je bílá barva plodu dominantní nad žlutou. Alela **W** podmiňuje bílé zbarvení, alela **w** žluté zbarvení.

a) Po křížení tykví s bíle zbarvenými plody byly získány asi 3/4 potomků s bílými a 1/4 potomků se žlutými plody. Jaké byly genotypy rodičů a potomků?

b) Máte tykev s bílými plody. Jaký způsob křížení zvolíte ke zjištění, zda jde o homozygota či heterozygota? Napište rozpis možných křížení (genotypy i fenotypy zúčastněných rostlin).

4. Modrou a hnědou barvu očí člověka podmiňují různé alely téhož genu. Při studiu jedné populace byly u 337 rodin zjištěny tyto údaje:

Rodiče (barva očí)	Počet rodin	Děti barva očí	
		modrá	hnědá
Modré × modré	150	625	0
Modré × hnědé	158	317	322
Hnědé × hnědé	29	25	82

Která barva očí je dominantní? Užijte symbolů B, b a napište každý z typů křížení.

5. Dvě černé myši samičky byly kříženy s hnědými samečky. V několika vrzích měla jedna samička 9 černých a 7 hnědých myší, druhá samička měla v několika vrzích 57 černých myší.

a) Odvoďte, jak se dědí černé a hnědé zbarvení srsti u myší. Která barva srsti je dominantní, která recesivní a proč?

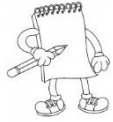
b) Jaké byly genotypy rodičů v uvedených kříženích (použijte symboly pro alel **D** a **d**)?

## VÝPOČTY

## Genetické příklady II: DI-, POLYHYBRIDISMUS

Jméno:

Skupina:



### Vzorový úkol: 1

Odvodte fenotypový a genotypový štěpný poměr v F2 a B1 generaci při dihybridismu za použití kombinačního čtverce/závorkové/rozvětovací metody. U obou sledovaných genů (A a B) je mezi alelami vztah úplné dominance.



### Řešení:

**F1: AaBb × AaBb**

gamety: AB, Ab, aB, ab × AB, Ab, aB, ab

### Kombinační čtverec:

	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

**F2: fenotypový štěpný poměr: 9:3:3:1** (různé kombinace fenotypů)

genotypový štěpný poměr: **1:2:1:2:4:2:1:2:1** (různé kombinace alel)

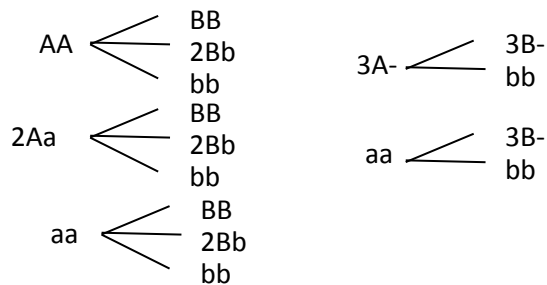
### Závorková metoda:

Aa × Aa ...AA, 2Aa, aa = genotypový štěpný poměr (1:2:1), fenotypový štěpný poměr (3:1)

Bb × Bb.....BB, 2Bb, bb = genotypový štěpný poměr (1:2:1), fenotypový štěpný poměr (3:1)

(3:1) × (3:1) = **9:3:3:1**

(1:2:1) × (1:2:1) = **1:2:1:2:4:2:1:2:1**



### Rozvětovací metoda:

**Zpětné křížení: AaBb × aabb**

gamety: AB, Ab, aB, ab

	AB	Ab	aB	ab
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

**B1: genotypový i fenotypový štěpný poměr: 1:1:1:1**





### Vyřešte následující úkoly:

1. Vyplňte dihybridní kombinační čtverec a odvodte fenotypový a genotypový štěpný poměr potomstva morčat dihybridů genotypů **RrBb** (**R** - hrubá srst, **r** - hladká srst, **B** - černá srst, **b** - bílá srst). U obou genů je mezi alelami vztah úplné dominance.  
Jaký bude štěpný poměr při zpětném křížení?
  2. Za použití rozvětvací metody stanovte genotypy gamet jedince s genotypem:
    - a) RrssTtUU
    - b) AaBBCcddEe
    - c) KklmmNnOOppQq
  3. Pomocí rozvětvací (nebo závorkové) metody určete genotypový a fenotypový štěpný poměr u potomstva po křížení hybridů: AaBBCcddEe × aaBBCcDdee (u všech genů je mezi alelami vztah neúplné dominance).
  4. Křížením černého hrubosrstého morčete s morčetem bílým hrubosrstým (značení alel viz úkol 1) vzniklo následující potomstvo: 32 černých hrubosrstých, 33 bílých hrubosrstých, 12 černých hladkosrstých a 9 bílých hladkosrstých.
    - a) Jaké byly genotypy obou křížených morčat?
    - b) Pomocí rozvětvací metody zjistěte teoretické frekvence genotypů potomků vzniklých tímto křížením.
    - c) Pomocí  $\chi^2$  testu ověřte shodu mezi vzniklým (empirickým) a teoretickým fenotypovým štěpným poměrem (tabulková hodnota – skripta příloha 1).
  5. U holubů je hladká hlava (**C**) dominantní nad chocholkou (**c**) a oranžové zbarvení oka (**T**) dominantní nad perlovým (**t**). Určete genotypy rodičů v těchto kříženích:
    - a) holub s hladkou hlavou a oranžovým okem × holubice s hladkou hlavou a perlovým okem (potomstvo:  $\frac{3}{4}$  s hladkou hlavou a oranžovým okem +  $\frac{1}{4}$  s chocholkou a oranžovým okem)
    - b) holub s hladkou hlavou a oranžovým okem × holubice s hladkou hlavou a perlovým okem (potomstvo:  $\frac{1}{2}$  s hladkou hlavou a oranžovým okem +  $\frac{1}{2}$  s hladkou hlavou a perlovým okem)
    - c) holub s hladkou hlavou a oranžovým okem × holubice s hladkou hlavou a oranžovým okem (potomstvo: 9 hladká hlava s oranžovým okem + 3 hladká hlava s perlovým okem + 3 hlava s chocholkou a oranžovým okem + 1 hlava s chocholkou a perlovým okem)
- 

## VÝPOČTY

## Genetické příklady III: POLYMORFNÍ GENY

Jméno:

Skupina:



### Vzorový úkol: 1

U králíků existuje alelová série s dominancí v tomto pořadí: zbarvená srst (**C**), himálajský albinismus (**c<sup>h</sup>**), albinismus (**c<sup>a</sup>**).

- Jaká bude srst u potomků z křížení dvou homozygotů, a to zbarveného králíka s králíkem s albinem?
- Určete genotypy rodičů při křížení albína a himálajského králíka, kdy  $\frac{1}{2}$  potomků jsou albíni a  $\frac{1}{2}$  himálajští albíni.



### Řešení:

**C**- (CC, Cc<sup>h</sup>, Cc<sup>a</sup>) zbarvený

**c<sup>h</sup>**- (c<sup>h</sup>c<sup>h</sup>, c<sup>h</sup>c<sup>a</sup>) himálajský albinismus

**c<sup>a</sup>**- (c<sup>a</sup>c<sup>a</sup>) albinismus

a) CC × c<sup>a</sup>c<sup>a</sup>

**Cc<sup>a</sup>** Potomci budou mít zbarvenou srst.

b) c<sup>a</sup> × c<sup>h</sup>

$\frac{1}{2}$  c<sup>a</sup>c<sup>a</sup>,  $\frac{1}{2}$  c<sup>h</sup>

Druhá alela u obou rodičů musí být c<sup>a</sup>, aby mohli mít potomka s genotypem c<sup>a</sup>c<sup>a</sup>.

Genotypy rodičů jsou: c<sup>a</sup>c<sup>a</sup> a c<sup>h</sup>c<sup>a</sup>



### Vyřešte následující úkoly:

2. U králíků existuje alelová série s dominancí v tomto pořadí: zbarvená srst (**C**), himálajský albinismus (**c<sup>h</sup>**), albinismus (**c<sup>a</sup>**).

- Jaká bude srst u potomků z křížení dvou homozygotů, a to zbarveného králíka s králíkem s himálajským albinismem?
- Určete genotypy rodičů při křížení zbarveného a himálajského králíka, kdy  $\frac{1}{2}$  potomků je zbarvená,  $\frac{1}{4}$  himálajská a  $\frac{1}{4}$  albinotická.

3. Krevní skupiny u lidí určují tři alely **I<sup>A</sup>**, **I<sup>B</sup>** a **i**. Alely **I<sup>A</sup>**, **I<sup>B</sup>** jsou dominantní nad alelou **i** a vůči sobě jsou kodominantní (podílí se na tvorbě krevní skupiny AB). U lidí se tak vyskytují 4 krevní skupiny: **A** (genotypy: I<sup>A</sup>I<sup>A</sup>, I<sup>A</sup>i), **B** (genotypy: I<sup>B</sup>I<sup>B</sup>, I<sup>B</sup>i), **AB** (genotyp: I<sup>A</sup>I<sup>B</sup>), **O** (genotyp: ii).

- Jaké krevní skupiny mohou mít děti, jejichž rodiče mají genotypy I<sup>A</sup>i a I<sup>B</sup>i?
- Určete genotypy rodičů, když otec měl skupinu AB, matka B a jejich děti z  $\frac{1}{4}$  A,  $\frac{1}{4}$  AB a  $\frac{1}{2}$  B.
- Kterého z mužů lze vyloučit jako otce dítěte? Matka má krevní skupinu B, dítě O, jeden muž A a druhý AB.
- Oba rodiče mají heterozygotně krevní skupinu B. Jaká je pravděpodobnost, že jejich prvorozený syn zdědí skupinu B? A jaká je tato pravděpodobnost, bude-li prvorozeným potomkem dcera?

e) Na porodním oddělení se v krátkém časovém úseku během téže noci narodily čtyři děti s krevními skupinami A, B, AB, 0. Kvůli omylu porodní asistentky nebylo jisté, které dítě se narodilo které matce. Byly proto vyšetřeny krevní skupiny všech čtyř párů rodičů těchto dětí a zjištěno, že pár 1 má krevní skupiny B x B, pár 2 má skupiny 0 x AB, pár 3 skupiny A x B a pár 4 skupiny 0 x 0. Mohly být nyní všem rodičům předáno s jistotou jejich děti? A které kterým?

4. Krevní skupiny u koček určují tři alely **A**, **a<sup>ab</sup>**, **b** (dominance alel je v tomto pořadí: **A** > **a<sup>ab</sup>** > **b**). U koček se tak vyskytují tři krevní skupiny: **A** (genotypy: AA, Aa<sup>ab</sup>, Ab) **AB** (genotypy: a<sup>ab</sup>a<sup>ab</sup>, a<sup>ab</sup>b) a **B** (genotyp bb).

- a) Kočka s krevní skupinou B byla spářena s kocourem s neznámou krevní skupinou. Při vyšetření krevních skupin jejich koťat se ukázalo, že čtyři koťata mají krevní skupinu A a tři krevní skupinu B. Jaké byly genotypy rodičů a koťat?
- b) Kočka s krevní skupinou A byla spářena s kocourem s krevní skupinou B. Jaké krevní skupiny mohou mít jejich koťata?

---

## VÝPOČTY

## Genetické příklady IV: DĚDIČNOST VÁZANÁ NA POHLAVÍ

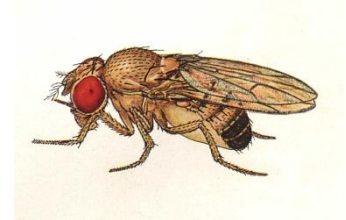
Jméno:

Skupina:



### Vzorový úkol: 1

Mutace (*miniature*, *m*) u *Drosophila melanogaster* představuje typ s malými úzkými křídly, jen nepatrně přesahujícími abdomen. Jejich tmavě šedé zbarvení je způsobeno chloupky hustě nahloučenými na buňkách zmenšených rozměrů. Křížením jedinců z populace, v níž se tato mutace vyskytuje, byly získány níže uvedené číselné poměry v potomstvech. (normální velikost +)



+		m	
samice	samec	samice	samec
204	100	0	96

Jaké byly genotypy rodičů?

### Řešení:

	$X^?$	$X^?$
$X^?$	$X^+X^?$	$X^+X^?$
$Y$	$X^+Y$	$X^mY$

	$X^+$	$X^m$
$X^+$	$X^+X^+$	$X^+X^m$
$Y$	$X^+Y$	$X^mY$

Genotyp otce byl  $X^+Y$ , genotyp matky  $X^+X^m$ .

### **Vyřešte následující úkoly:**



**2.** Barva očí u *Drosophila melanogaster* je podmíněna dvěma alelami, které se značí horním indexem  $^+$  (dominantní alela) a  $^m$  (recesivní alela). Červená barva je dominantní nad bílou.

- Na kterém chromozomu se nachází gen pro barvu očí? O jaký typ dědičnosti se jedná?
- Zjistěte ideální štěpné poměry potomstva F1 generace po křížení červenooké samičky drozofily s bělookým samečkem a bělooké samičky s červenookým samečkem.

**3.** Dominantní alela genu  $Y$  v homozygotním stavu u koček a v hemizygotním stavu u kocourů podmiňuje černé zbarvení srsti. Recesivní alela podmiňuje žluté zbarvení. Heterozygotní kočky mají želvovinové zbarvení.

- Na kterém chromozomu se nachází gen pro zbarvení srsti koček? O jaký typ dědičnosti se jedná?
- Černá kočka měla želvovinově zbarvené kotě a 4 černá kořata. Jaký genotyp a barvu srsti měl jejich otec? Jakého pohlaví byla černá kořata?
- Želvovinově zbarvená kočka byla spárena se žlutě zbarveným kocourem. Jaká je pravděpodobnost vzniku žlutě zbarvených kocourků a koček v potomstvu?

4. Barvoslepost (daltonismus) se dědí gonozomálně recesivně (gen **D**). Manželé měli barvoslepotou dceru, její matka však rozlišovala barvy normálně. Jaké byly genotypy obou rodičů?

5. Hemofilie je choroba recesivně dědičná, vázaná na chromozom X (gen **H**). Muži hemofilikovi a jeho homozygotně zdravé ženě se narodila dcera. Jaký je genotyp této dcery?

6. U ayrshirského skotu je zbarvení dáno genem **M**. Krávy i býci genotypu MM mají mahagonové zbarvení. Recesivní homozygoti mm jsou červenostrakatí. Býci genotypu Mm jsou mahagonoví, zatímco krávy jsou červenostrakaté.

a) O jaký typ dědičnosti se jedná? Jaké bude zbarvení srsti jedinců v F2 generaci?

b) Červenostrakatá kráva, jejíž otec byl mahagonový býk, byla křížena s červenostrakatým býkem. Uvedte genotypy a fenotypy rodičů i potomků.

c) Mahagonová kráva porodila červenostrakaté tele. Můžete zjistit pohlaví tohoto telete?

#### **Doplňková sada:**

7. U mužů je gen pro plešatost **P** dominantní nad stavem bez plešatosti, tj. muž s genotypy PP, Pp je plešatý, zatímco žena je plešatá pouze s genotypem PP. Gen **B** podmiňuje barvu očí, hnědá barva očí je dominantní nad modrou.

a) O jaký typ dědičnosti se v případě plešatosti jedná?

b) Hnědooký plešatý muž, jehož otec nebyl plešatý a měl modré oči, se oženil s modrookou blondýnkou, jejíž otec i bratři byli plešatí. Jaké budou jejich děti co do barvy očí a plešatosti?

8. U akvariijní ryby bojovnice pestré (*Betta splendens*) vyvolává dominantní alela genu **Z** zvětšení ploutví pouze za přítomnosti samčích pohlavních hormonů.

a) O jaký typ dědičnosti se jedná? Jaká bude velikost ploutví jedinců v F2 generaci?

b) Uvedte příklad křížení, při kterém odhalíte heterozygotní genotyp samců a homozygotně dominantní genotyp samic. Máte k dispozici čisté linie recesivních homozygotů (zz).

---

## **VÝPOČTY**

## Genetické příklady V: GENOVÉ INTERAKCE

Jméno:

Skupina:



### Vzorový úkol: 1

Purpurové zbarvení u hrachoru je způsobeno přítomností alespoň jedné dominantní alely ale současně u obou genů (C-P-). Ostatní kombinace genotypů podmiňují bílé zbarvení květů.



- Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci jde v tomto případě?
- Jaká bude barva květů potomstva z křížení: 1) CcPp × CcPP, 2) Ccpp × ccPp?

### Řešení:

#### a) CcPp × CcPp

gamety: CP, Cp, cP, cp × CP, Cp, cP, cp

	CP	Cp	cP	cp
CP	CCPP	CCPp	CcPP	CcPp
Cp	CCPp	CCpp	CcPp	Ccpp
cP	CcPP	CcPp	ccPP	ccPp
cp	CcPp	Ccpp	ccPp	ccpp

Fenotypový štěpný poměr: **9 (purpurové) : 7 (bílá)**, jedná se o komplementaritu.

#### b) CcPp × CcPP

	CP	Cp	cP	cp
CP	CCPP	CCPp	CcPP	CcPp
cP	CcPP	CcPp	ccPP	ccPp

#### Ccpp × ccPp

	Cp	cp
cP	CcPP	ccPp
cp	Ccpp	ccpp

Fenotypový štěpný poměr: **3(purpurové):1(bílá)**

Fenotypový štěpný poměr: **3(bílá):1(purpurová)**



### Vyřešte následující úkoly:

1. U prasat plemene Duroc je červená barva podmíněna současnou přítomností dominantních alel v genech **R** a **S**. Přítomnost dominantní alely v jednom z těchto genů vede k pískovému zbarvení, zatímco jedinci dvojnásobně recesivně homozygotní jsou bělaví.

- Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci se jedná?
- Jaké bude zbarvení selat a fenotypový štěpný poměr v kříženích: 1) RRSs × rrSs, 2) rrss × RrSs?

2. Dědičnost barvy peří kanárů je podmíněna geny **A**, **B**. Dominantní alela genu **A** podmiňuje červené zbarvení, dominantní alela genu **B** podmiňuje žluté zbarvení. V homozygotní sestavě aabb je peří zbarveno bíle, jedinci genotypu A-B- jsou bílí.

- Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci (nebo pomocí rozvětovací metody) fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci se jedná?
- Třetí gen **C** určuje upravení peří. Ptáci s dominantní alelou C jsou hladcí, ptáci s kombinací cc mají rozčepýřené peří. Pomocí rozvětovací metody zjistěte fenotypový štěpný poměr u potomků vzniklých křížením rodičů s genotypy: AaBbCC × AabbCc.

3. Předpokládejme, že u andulky vlnkované (*Melopsittacus undulatus*) je barva peří podmíněna interakcí genů F a O. Gen **F** podmiňuje žluté zbarvení (genotypy F-oo), gen **O** zbarvení modré (genotypy ffO-). Jsou-li přítomny F a O společně, je andulka zelená (genotypy F-O-). Jedinci dvojnásobně recesivní mají zbarvení bílé (genotypy ffoo).

- Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci (nebo pomocí rozvětovací metody) fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci jde v tomto případě?
- Jaké bude zbarvení peří a fenotypový štěpný poměr u potomstva v kříženích: 1) FFOo × ffOo, 2) FfOO × Ffoo?
- Při křížení žluté andulky s modrou bylo v potomstvu 6 andulek žlutých a 5 zelených. Určete genotypy rodičů.
- Zelená andulka snesla jedno vejce, z něhož se vylíhlo mládě bíle zbarvené. Jaký byl genotyp samice andulky?

4. U některých druhů hlemýžďů je proužkování ulity podmíněno přítomností dominantní alely současně v genech **C** a **S**. Jedinci ostatních genotypů mají ulitu bez proužků.

- Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci se jedná?
- Pomocí rozvětovací metody zjistěte fenotypový štěpný poměr u potomků vzniklých křížením rodičů s genotypy: Ccss × ccSs.

5. U myši je pro tvorbu melaninu nezbytná přítomnost dominantní alely genu **C**. Dominantní alela genu **A** podmiňuje přeměnu tmavého barviva ve žluté.

- Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci (nebo pomocí rozvětovací metody) fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci jde v tomto případě?
- Jaké bude potomstvo po křížení černé myši (CCaa) s bílou (ccAA)?

6. U slepic vyvolává dominantní alela genu **A** zbarvení peří, alela jiného genu **I** toto zbarvení potlačuje, ale sama nemá účinek na fenotyp.

- Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci se jedná?
- Jaká bude barva peří slepic u potomstva z křížení: Aali × Aaii?

7. Délka uší králíků je ovlivněna třemi geny **A**, **B**, **C**. Jedinci recesivně homozygotní ve všech třech genech mají uši dlouhé 10 cm a každá dominantní alela způsobí prodloužení uší o 2 cm. Jaké očekáváme délky uší a fenotypový štěpný poměr v potomstvu dvou králíků genotypů  $aaBbCc \times AABbcc$ ?

8. U dýní je gen pro oranžovou barvu plodu **W** a gen pro barvu bílou **Y**. Rostliny ( $W-Y-$ ) a ( $W-yy$ ) jsou oranžové, ( $wwY-$ ) bílé a ( $wwyy$ ) zelené.

a) Různou barvou či šrafováním rozlište v kombinačním čtverci fenotypové kategorie vznikající křížením dvou dihybridů (jedinců heterozygotních pro oba geny). O jakou genovou interakci jde v tomto případě?

b) Jakou barvu plodů budou mít potomci z křížení  $WwYy \times Wwyy$ ? Jaký bude fenotypový štěpný poměr?

9. Ošupení u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) je podmíněno geny **S** a **N**, mezi nimiž je reciproká interakce s letálním efektem genu, který se dědí společně s dominantní alelou **N**. Jedinec genotypu **NN** hyne, protože nese homozygotně dominantní kombinaci letálního genu. Další typy ošupení jsou: řádkový ( $S-Nn$ ), šupináč ( $S-nn$ ), hladký ( $ssNn$ ), lysec ( $ssnn$ ).

a) Jaký je podíl jednotlivých typů ošupení a letálního efektu genotypu **NN** v potomstvu dvou řádkových kaprů s genotypy:  $SsNn \times SsNn$ ?

b) Pomocí rozvětovací metody zjistěte fenotypový štěpný poměr u potomků vzniklých křížením kapra s řádkovým uspořádáním šupin s kaprem hladkým.

---

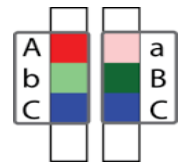
## VÝPOČTY



## Genetické příklady VI: VAZBA GENŮ

Jméno:

Skupina:



### Vzorový úkol: 1

Určete vzájemnou lokalizaci genů **RST** a sílu vazby mezi sousedními geny na základě genetické analýzy potomstva vzniklého z testovacího křížení:  $RrSsTt \times rrsstt$ .

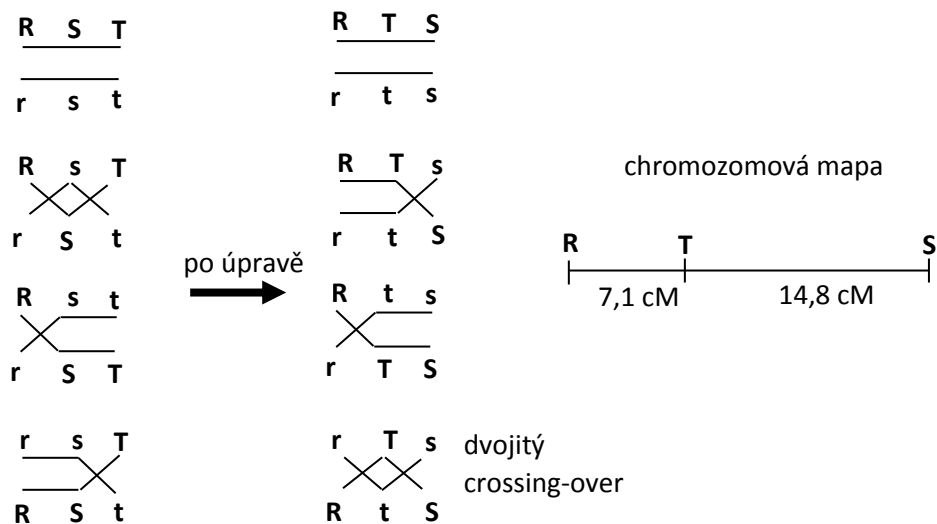
### Řešení:

- 1) Stanovíme skutečné pořadí genů podle fenotypu, který má nejmenší četnost, tj. vznikl dvojitým crossing-overem. Kdyby bylo pořadí genů RST, pak by dvojitým crossing-overem vznikla kombinace  $RsT/rSt$  (viz obr.)“ Je proto potřeba změnit pořadí genů v rámci téhož chromozomu, tak aby vznikl dvojitý crossing-over a tím zjistíme i správné pořadí genů (v tomto případě to je **RTS**).
- 2) Změníme pořadí genů u všech odlišných fenotypů (viz obr.)
- 3) Vypočítáme sílu vazby pro geny RT a TS (síla vazby souvisí s četností crossing-overu, proto sečteme četnosti, kde mezi danými geny došlo ke crossing-overu (viz obr. po úpravě).

Fenotypy	%
<u>RST</u>	78,5
rst	
<u>RsT</u>	14,4
rSt	
<u>Rst</u>	6,7
rST	
<u>rsT</u>	0,4
RSt	

**Síla vazby pro geny RT:**  $p(RT) = 6,7 + 0,4 = 7,1 \text{ cM}$ ; **pro geny TS:**  $p(TS) = 14,4 + 0,4 = 14,8 \text{ cM}$ .

- 4) Sestavíme chromozomovou mapu (jak jsou geny řazeny za sebou a jaká je mezi nimi vzdálenost).



### Vyřešte následující úkoly:

1. Jaké gamety (genotypy) mohou vzniknout z gametogonie **AaBb**? Vyřešte pro:
  - a) neúplnou vazbu
  - b) úplnou vazbu a to v případě, že se bude jednat o vazbovou fázi cis a vazbovou fázi trans.

2. Vypočítejte teoretický štěpný poměr B<sub>1</sub> generace, která vznikla křížením jedinců uvedených genotypů, když víte, že síla vazby p(AB) = 16,6 cM a počet potomstva n = 1152.

$$\frac{AB}{ab} \times \frac{ab}{ab}$$

3. U slepic jsou opeřené nohy dominantní nad neopeřenými (gen A), hráškovitý tvar hřebínku dominantní nad jednoduchým (gen B) a bílé zbarvení dominantní nad tmavým (gen C).

Určete vzájemnou lokalizaci genů ABC a sílu vazby mezi sousedními geny na základě genetické analýzy potomstva vzniklého z testovacího křížení: AaBbCc × aabbcc.

B<sub>1</sub> křížení:

$$\frac{ABC}{abc} \times \frac{abc}{abc}$$

Fenotypy	%
<u>ABC</u> abc	80,9
<u>ABc</u> abC	3,9
<u>Abc</u> aBC	14,6
<u>AbC</u> aBc	0,6

4. Zjistěte genovou mapu V. chromozomu rajčete. Jde o seřazení genů K, L, N, S za sebou a o výpočet síly vazeb (p) v cM mezi sousedními geny. Fenotypové frekvence potomků vzniklých testovacím křížením jsou uvedeny v tabulkách.

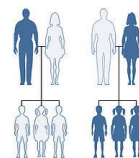
Fenotypy	%	Fenotypy	%
<u>NKS</u> nks	67,8	<u>KSL</u> ksl	49,6
<u>NkS</u> nKs	29,2	<u>kSl</u> KsL	21,4
<u>Nks</u> nKS	2,2	<u>KSl</u> ksL	20,4
<u>nKS</u> NKs	0,8	<u>Ksl</u> kSL	8,6

## VÝPOČTY

## Genetické příklady VII: NEMENDELISTICKÁ DĚDIČNOST

Jméno:

Skupina:



### Vzorový úkol: 1

Směr vinutí ulity plovatky toulavé je dán alelami jaderného genu. Genotyp (DD, Dd) s dominantní alelou D určuje pravotočivou ulitu (P), genotyp (dd) s recesivními alelami d určuje levotočivou ulitu (L). Mezi alelami je úplná dominance.

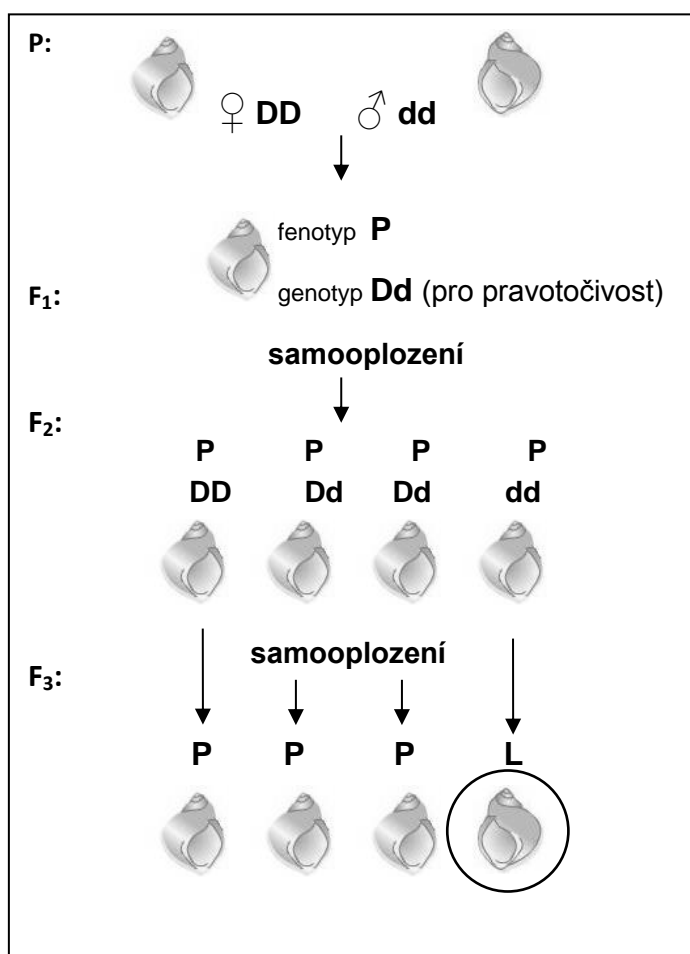
**Fenotyp potomka** (bez ohledu na jeho genotyp) **závisí na genotypu matky** (bez ohledu na její fenotyp).

Jaký bude fenotyp potomstva v F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> a F<sub>3</sub> generaci po zkřížení plovatky s genotypem pro pravotočivou (DD) a genotypem pro levotočivou (dd) ulitu?



**Princip:** již před fertilizací je v oocyty přítomen protein (produkt genu matky), který ovlivňuje orientaci mitotického vřeténka v první mitóze po fertilizaci a tím ovlivňuje vinutí ulity (doprava nebo doleva) u potomka.

### Řešení:



**P:** křížení samice s genotypem pro pravotočivost a samce s genotypem pro levotočivost ulity.

**F<sub>1</sub>:** vzniká fenotypově uniformní potomstvo s pravotočivou ulitou (dáno genotypem matky DD pro pravotočivost). Potomstvo má genotyp pro pravotočivost (Dd).

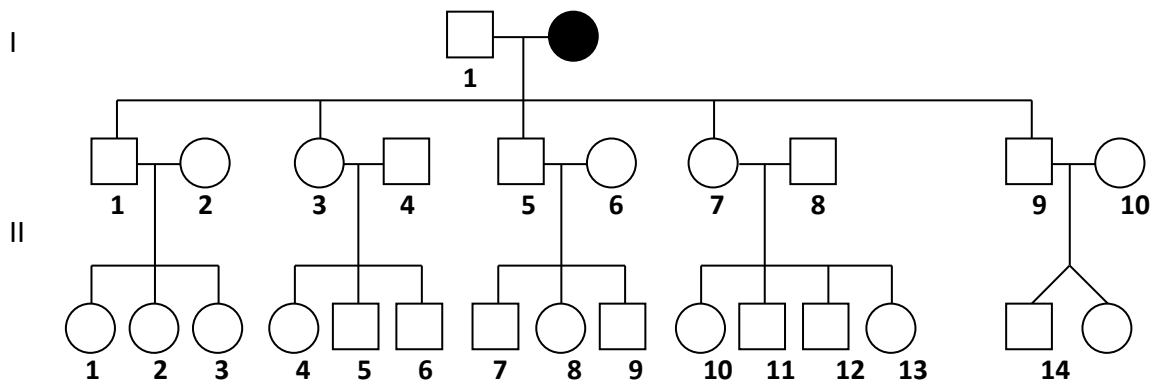
**F<sub>2</sub>:** vzniká potomstvo s třemi různými genotypy (DD, Dd, dd), fenotypově jsou ale všichni pravotočiví po matce, která měla genotyp pro pravotočivost (Dd).

**F<sub>3</sub>:** matka s genotypem (DD nebo Dd) produkuje potomstvo s pravotočivou ulitou, matka s genotypem (dd) produkuje potomstvo s levotočivou ulitou.



**Vyřešte následující úkoly:**

1. Muž s mitochondriálně podmíněnou neuropatií optického nervu si vzal zdravou ženu. Jaká je pravděpodobnost, že se u jejich dítěte projeví stejná choroba?
2. Recessivní mutací genů na chloroplastové DNA dochází k panašování (skvrnitosti) listů snížením obsahu chlorofylu. Jaké rostliny lze očekávat v potomstvu, křížíme-li panašovanou mateřskou rodičovskou rostlinu a zelenou otcovskou rodičovskou rostlinu?
3. Jaké listy budou mít potomci po opylení normální rostliny pylem z panašované rostliny?
4. Jak se budou lišit fenotypově a genotypově  $F_1$ ,  $F_2$  a  $F_3$  generace, když budete křížit samici plovatky s levotočivou ulitou (dd) a samce s pravotočivou ulitou (DD).
5. Jaký genotyp a fenotyp měli rodiče potomka s levotočivou ulitou? Jaký je genotyp tohoto potomka?
6. V následujícím rodokmenu byla sledována dědičnost genetické choroby (Kearns-Sayreova syndromu) spojené s mutací mtDNA. Jedná se o multisystémovou chorobu charakterizovanou výskytem progresivní oftalmoplegie (ochrnutí okohybných svalů) s různou závažností. Černě zaznamenejte do rodokmenu jedince s tímto onemocněním.



---

**VÝPOČTY**

## Genetické příklady VIII: KVANTITATIVNÍ GENETIKA

Jméno:

Skupina:



### Vzorový úkol: 1

Vypočtete průměr, rozptyl a směrodatnou odchylku hmotnosti vajec kura domácího u 2 skupin a zhodnoťte variabilitu hmotnosti.



	Hmotnost (g)			
Skupina 1	52	60	54	55
Skupina 2	48	50	49	51

### Řešení

**Průměr skupiny 1 ( $x_1$ )** ..... $52+60+54+55/4 = 55,25$  g

**Průměr skupiny 2 ( $x_2$ )**..... $48+50+49+51/4 = 49,5$  g

**Rozptyl ( $s^2$ ), směrodatná odchylka (s)**

$$s_1^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$$

**n-1**

$$s_1^2 = \frac{(52-55,25)^2 + (60-55,25)^2 + (54-55,25)^2 + (55-55,25)^2}{4 - 1} = s_1^2 = 34,5/3 = 11,5$$

$$s = 3,4$$

$$s_2^2 = \frac{(48-49,5)^2 + (50-49,5)^2 + (49-49,5)^2 + (51-49,5)^2}{4 - 1} = s_1^2 = 5/3 = 1,7$$

$$s = 1,3$$

Skupina 1 měla větší průměrnou hmotnost vajec a byla více variabilní, zatímco skupina 2 měla nižší průměrnou hmotnost, ale hmotnosti se vzájemně příliš nelišily.



### Vyřešte následující úkoly:

**2.** Zhodnoťte variabilitu hmotnosti u 2 skupin myší domácích a skupiny navzájem porovnejte. K analýze použijte průměr a rozptyl. U 1. skupiny byly naměřeny hodnoty: 15,5 g, 10,3 g, 11,7 g, 17,9 g, 14,1 g. U 2. skupiny byly naměřeny hodnoty: 20,2 g, 21,2 g, 20,4 g, 22,0 g, 19,7 g.

**3.** Na základě níže uvedených koeficientů dědivosti zjistěte, kolika procenty se na fenotypové hodnotě kvantitativních znaků podílí vliv prostředí?

a) Výška postavy má koeficient dědivosti  $h^2N = 0,9$ .

b) Velikost vejce u kura domácího má koeficient dědivosti  $h^2N = 0,5 - 0,6$ .

c) Intenzita zbarvení žlutku u vejce kura domácího má koeficient dědivosti  $h^2N = 0,15$ .

4. Byla měřena výška dětí (synů a dcer) a jejich rodičů (viz tabulka).

a) Vypočítejte průměr a rozptyl výšky dětí a rodičů.

b) Vypočítejte korelační koeficient mezi výškou dětí a rodičů a zhodnoťte (pozitivní/negativní, silná/slabá korelace).

c) Vypočítejte heritabilitu v užším slova smyslu pro dědičnost výšky postavy (k výpočtu použijte regresní koeficient). Jedná se o slabou nebo silnou heritabilitu a co to znamená?

Výška dětí (cm), první dítě z každé rodiny	Výška rodičů (cm), průměr otce a matky v rodině
175	175
180	190
177	180
160	175
165	175
175	173
185	195
175	185
183	172

5. U 8 kachen byla měřena šířka hlavy a délka křídla:

a) Vypočítejte průměr a směrodatnou odchylku pro šířku hlavy a délku křídla.

b) Vypočítejte korelační koeficient pro vztah mezi šířkou hlavy a délkou křídla.

c) Jaký je vztah mezi šířkou hlavy a délkou křídla u těchto kachen? (pozitivní/negativní, silná/slabá korelace)

Kachna	Šířka hlavy (cm)	Délka křídla (cm)
1	2,75	30,3
2	3,20	36,2
3	2,86	31,4
4	3,24	35,7
5	3,16	33,4
6	3,32	34,8
7	2,52	27,2
8	4,16	52,7

## VÝPOČTY

## Genetické příklady IX: POPULAČNÍ GENETIKA

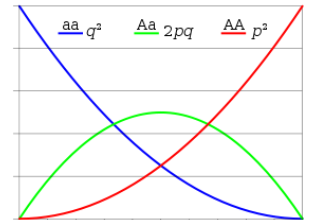
Jméno:

Skupina:



### Vzorový úkol: 1

V populaci (celkem 100 jedinců) se vykytuje hypotetický znak. Dominantní fenotyp mělo 75 jedinců. Určete frekvenci alel a frekvenci genotypů (populace je v HW rovnováze).



$$(p+q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Frekvence alel      Frekvence genotypů

**Dominantní fenotyp zahrnuje dominantní homozygoty a heterozygoty (úplná dominance).**

**Spočítáme frekvenci recesivních homozygotů (recesivní fenotyp)**

$q^2(aa) \dots 100 - 75 = 25 \dots$  vydělíme 100 (celkový počet jedinců) = 0,25

**Frekvence alel**

$q$  (a) získáme odmocněním  $0,25 = 0,5$

$p$  (A) =  $1 - q = 1 - 0,5 = 0,5$

**Frekvence genotypů**

$P$  (AA) =  $p^2 = 0,5^2 = 0,25$

$H$  (Aa) =  $2pq = 2 \times 0,5 \times 0,5 = 0,5$

$Q$  (aa) =  $q^2 = 0,5^2 = 0,25$

*Výsledky se dají vyjádřit i procentuálně.*

### Vzorový úkol: 2

Albinismus je neschopnost syntézy pigmentu melaninu. Je to recesivně dědičné onemocnění.

V populaci se vyskytuje jeden albín (aa) na 10 000 obyvatel (0,0001). Vypočítejte četnost alely a pro albinismus. Kolik % přenašečů albinismu (Aa) je v populaci?

Postup:

1) Nejprve je třeba si převést slovní zadání do symboliky zápisu alelových a genotypových četností. V tomto případě ze zadané genotypové frekvence recesivních homozygotů  $Q(aa)$  máme spočítat četnost recesivní alely  $q(a)$ .

2) Pokud je populace v rovnováze podle HW zákona (a není-li řečeno jinak, předpokládáme, že ano), pak platí, že  $Q = q^2$  a tedy alelová četnost recesivní alely je rovna druhé odmocnině z četnosti recesivních homozygotů, tj.  $q(a) = 0,01$ .

Dále máme spočítat četnost přenašečů, tj. genotypovou četnost heterozygotů v populaci  $H(Aa)$ . Podle HW zákona platí, že  $H = 2pq$ . K provedení tohoto výpočtu si ale napřed musíme spočítat četnost dominantní alely  $p(A)$ . Protože součet četností obou alel vždy dává dohromady 1 ( $p + q = 1$ ), pak  $p = 1 - q = 0,99$ . Hledaná genotypová četnost heterozygotů  $H = 2 \times 0,99 \times 0,01 = 0,0198$ , tj. **1,98 %**.



### Vyřešte následující úkoly:

3. Vypočtěte frekvenci jednotlivých genotypů a fenotypů v panmiktické populaci za předpokladu, že gen I (krevního systému ABO) se v populaci vyskytuje ve třech formách ( $I^A$ ,  $I^B$ , i), přitom frekvence alely  $I^B$  ( $q$ ) = 0,4, frekvence alely i ( $r$ ) = 0,4.

4. V náhodném souboru 100 studentů jsme zjišťovali formu přisedání ušního lalůčku. Jedná se o monofaktoriálně založený znak, který má tři formy. Nasedající ušní lalůček (aa) mělo 17 posluchačů, středně nasedající lalůček (Aa) mělo 45 posluchačů a volný ušní lalůček (AA) mělo 38 posluchačů.

a) Zjistěte frekvenci alely **A** a alely **a**.

b) Ověřte, zda platí HW rovnováha (použijte  $\chi^2$  test, tabulková hodnota - příloha skript).

5. Populace je v rovnováze podle HW zákona. Frekvence alely pro modrou barvu očí  $q$  ( $b$ ) = 0,6. Vypočítejte četnost modroookých lidí v populaci.

6. Modroookých jedinců (bb) je v populaci 36 %, hnědoookých (BB, Bb) 64 %. Kolik % v populaci tvoří jedinci hnědoocí homozygotní a kolik % jedinci hnědoocí heterozygotní?

7. V naší populaci je 84 % lidí Rh+ (DD, Dd) a 16 % lidí je Rh- (dd). Jaká je frekvence dominantní alely D?

8. Četnost recesivní alely a pro myopii (krátkozrakost) je v dané populaci 0,14, tj.  $q$  ( $a$ ) = 0,14. Jaká je četnost nemocných (aa) a přenašečů (Aa) v této populaci?

---

## VÝPOČTY



**Příloha 1: Hodnoty chí kvadrát testu ( $\chi^2$ ) pro pravděpodobnost P = 0,95 až 0,001 a pro počet stupňů volnosti N = 1 až 30. Většinou se používá hodnota P 0,05 tj. 5%.**

N	0,95	0,9	0,8	0,7	0,5	0,3	0,1	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,004	0,016	0,064	0,15	0,46	1,07	2,71	3,84	5,41	6,64	10,83
2	0,103	0,21	0,45	0,71	1,39	2,41	4,61	5,99	7,82	9,21	13,82
3	0,35	0,58	1,01	1,42	2,37	3,67	6,25	7,82	9,84	11,34	16,27
4	0,71	1,06	1,65	2,2	3,36	4,88	7,78	9,49	11,67	13,28	18,47
5	1,15	1,61	2,34	3	4,35	6,06	9,24	11,07	13,39	15,09	20,52
6	1,63	2,2	3,07	3,83	5,35	7,23	10,65	12,59	15,03	16,81	22,46
7	2,17	2,83	3,82	4,67	6,35	8,38	12,02	14,07	16,62	18,48	24,32
8	2,73	3,49	4,59	5,53	7,34	9,52	13,36	15,51	18,17	20,09	26,13
9	3,32	4,17	5,38	6,39	8,34	10,66	14,68	16,92	19,68	21,67	27,88
10	3,94	4,87	6,18	7,27	9,34	11,78	15,99	18,31	21,16	23,21	29,59
11	4,57	5,58	6,99	8,15	10,34	12,9	17,28	19,68	22,62	24,73	31,26
12	5,23	6,3	7,81	9,03	11,34	14,01	18,55	21,03	24,05	26,22	32,91
13	5,89	7,04	8,63	9,93	12,34	15,12	19,81	22,36	25,47	27,69	34,53
14	6,57	7,79	9,47	10,82	13,34	16,22	21,06	23,69	26,87	29,14	36,12
15	7,26	8,55	10,31	11,72	14,34	17,32	22,31	25	28,26	30,58	37,7
16	7,96	9,31	11,15	12,62	15,34	18,42	23,54	26,3	29,63	32	39,25
17	8,67	10,09	12	13,53	16,34	19,51	24,77	27,59	31	33,41	40,79
18	9,39	10,87	12,86	14,44	17,34	20,6	25,99	28,87	32,35	34,81	42,31
19	10,12	11,65	13,72	15,35	18,34	21,69	27,2	30,14	33,69	36,19	43,82
20	10,85	12,44	14,58	16,27	19,34	22,78	28,41	31,41	35,02	37,57	45,32
21	11,59	13,24	15,45	17,18	20,34	23,86	29,62	32,67	36,34	38,93	46,8
22	12,34	14,04	16,31	18,1	21,34	24,94	30,81	33,92	37,66	40,29	48,27
23	13,09	14,85	17,19	19,02	22,34	26,02	32,01	35,17	38,97	41,64	49,75
24	13,85	15,66	18,06	19,94	23,34	27,1	33,2	36,42	40,27	42,98	51,18
25	14,61	16,47	18,94	20,87	24,34	28,17	34,38	37,65	41,57	44,31	52,6
26	15,38	17,29	19,82	21,79	25,34	29,25	35,56	38,89	42,86	45,64	54,05
27	16,15	18,11	20,7	22,72	26,34	30,32	36,74	40,11	44,14	46,96	55,5
28	16,93	18,94	21,59	23,65	27,34	31,39	37,92	41,34	45,42	48,28	56,89
29	17,71	19,77	22,47	24,58	28,34	32,46	39,09	42,56	46,69	49,59	57,45
30	18,49	20,6	23,36	25,51	29,34	33,53	40,26	43,77	47,96	50,89	59,7



Název:	Protokoly na cvičení – Biologie a molekulární biologické metody
Autoři:	MVDr. Kateřina Kobédová, MVDr. Jiřina Marková, Doc. MVDr. Eva Bártová, Ph.D., Mgr. Ivo Papoušek, Ph.D.
Ústav:	Biologie a choroby volně žijících zvířat
Počet stran:	42
Rok vydání:	2016
Podpořeno:	IVA VFU Brno 2016FVHE/2150/34