

# Genetické testování rodičovství u zvířat

## Laboratorní příklady

**Modul no. 4: Precizní chov hospodářských zvířat**

Petra Bartoňová, Aleš Knoll,

Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta



Co-funded by  
the European Union

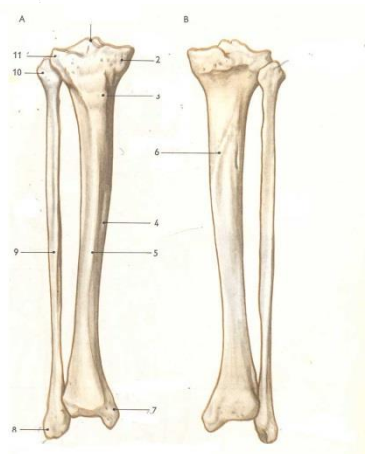
# Postup analýzy

1. Izolace genomové DNA testovaného zvířete, ověření kvality DNA pomocí gelové agarózové elektroforézy
2. Multiplex PCR - PCR pro mnoho produktů (mikrosatelitů) naráz v jedné zkumavce, označení mikrosatelitu příslušnou barvou (jeden z primerů každého páru)
3. Fragmentační analýza (kapilární elfo) - přesné rozdělení produktů dle velikosti (počtu bp)
4. Určení velikostí píků (srovnáním s kalibrační křivkou standardu, automaticky pomocí software)
5. Určení alel jednotlivých mikrosatelitů: rozlišení mikrosatelitu dle barvy a známého rozsahu alel (ten odpovídá počtu repetice v alele)
6. Ověření



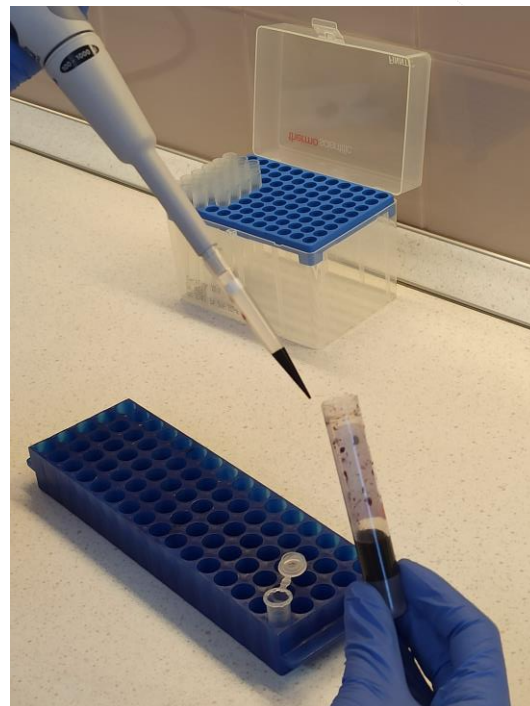
Co-funded by  
the European Union

# Izolace DNA

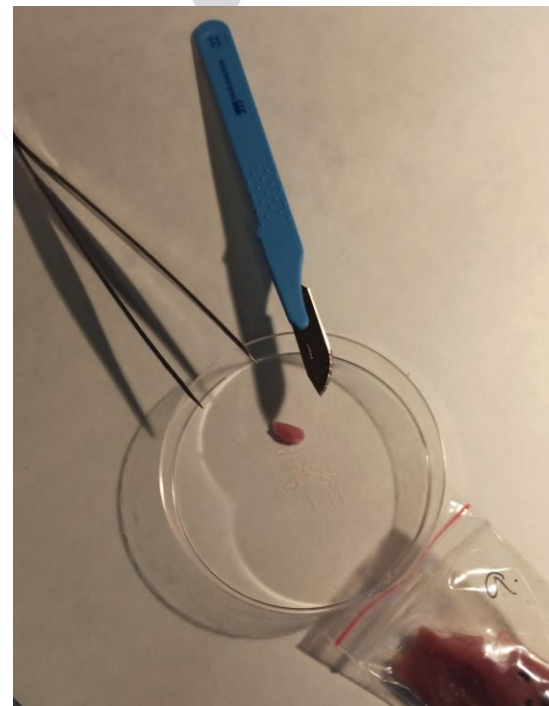


Co-funded by  
the European Union

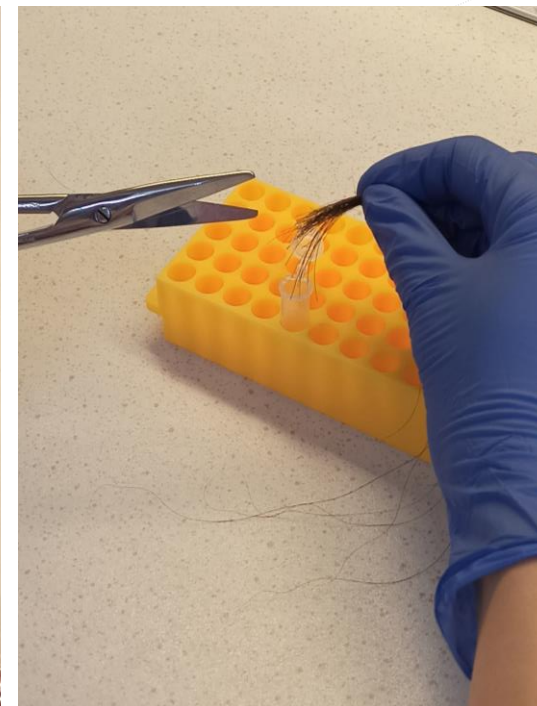
# Izolace DNA kolonkovou metodou



krv

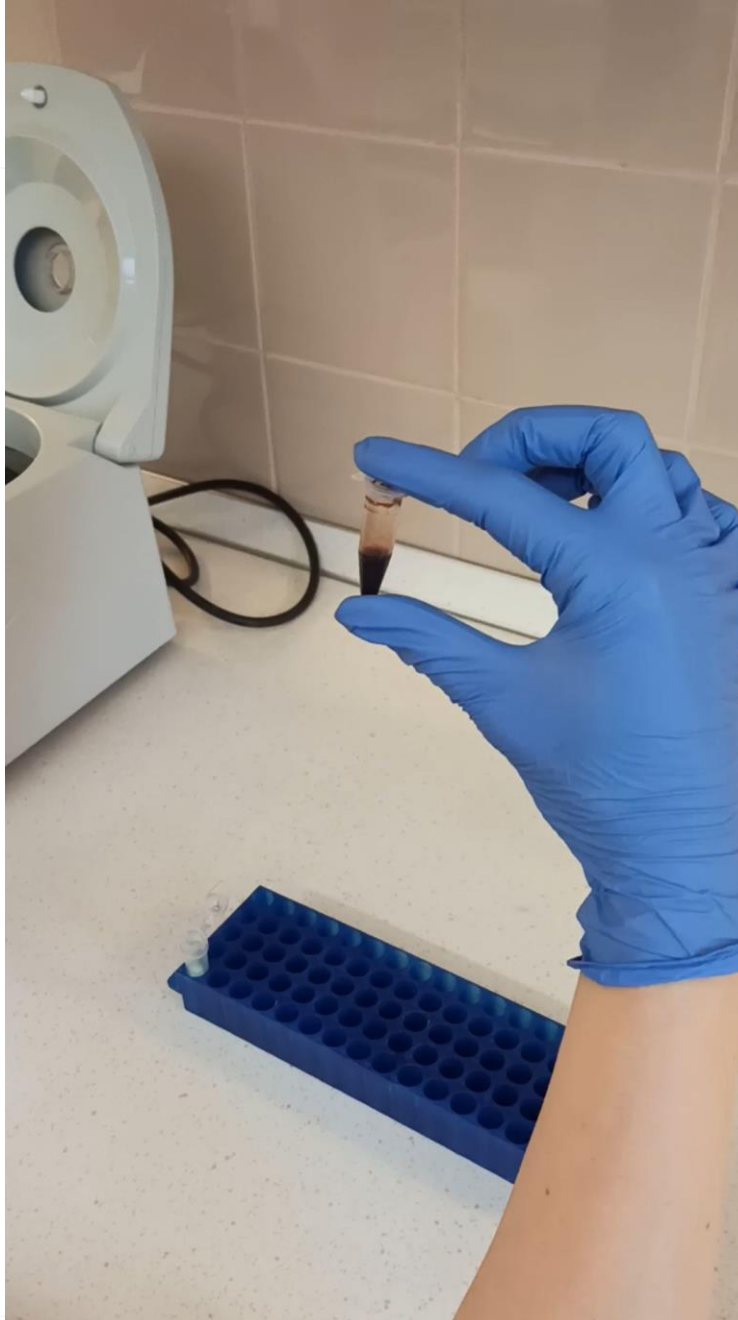


tkáň (maso)



chlupové cibulky (vzorky srsti)

# Lýza buněk



Erasmus+ project 2021-1-SK01-KA220-HED-000032068

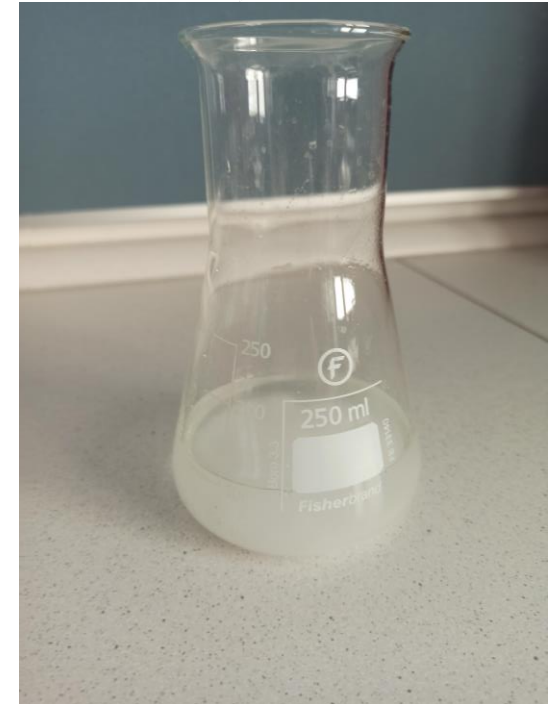
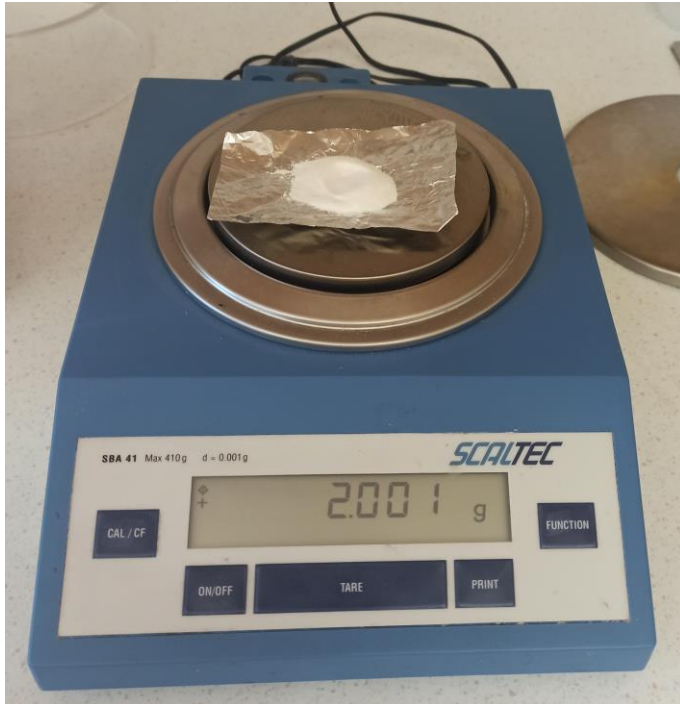
# Navázání DNA a její purifikace



# Agarózová gelová elektroforéza

ověření množství a specifity DNA – příprava 2% agarózového gelu

ISAGREED



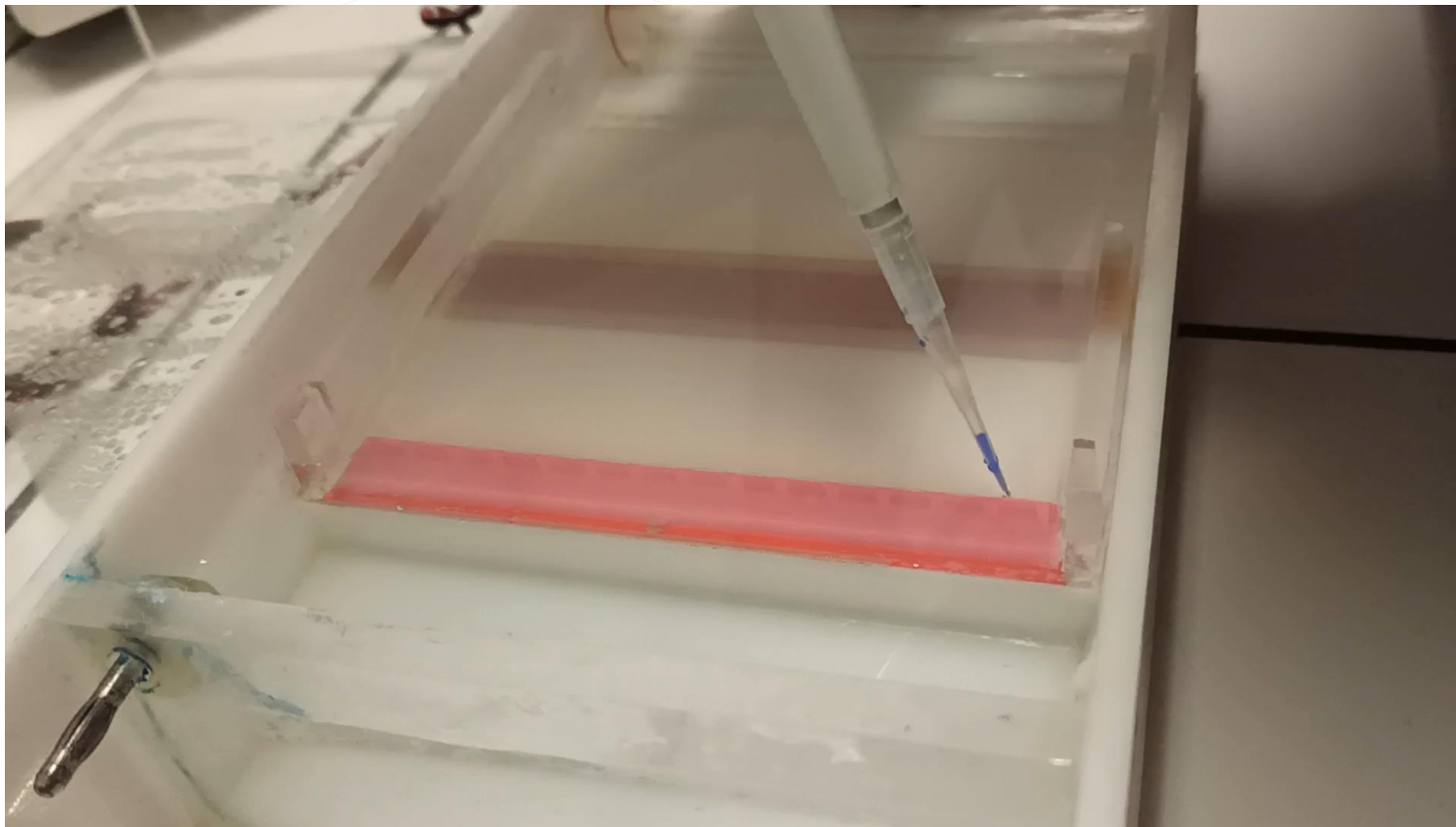
# Příprava agaróзовého gelu

ISAGREED



# Nanášení vzorků

ISAGREED

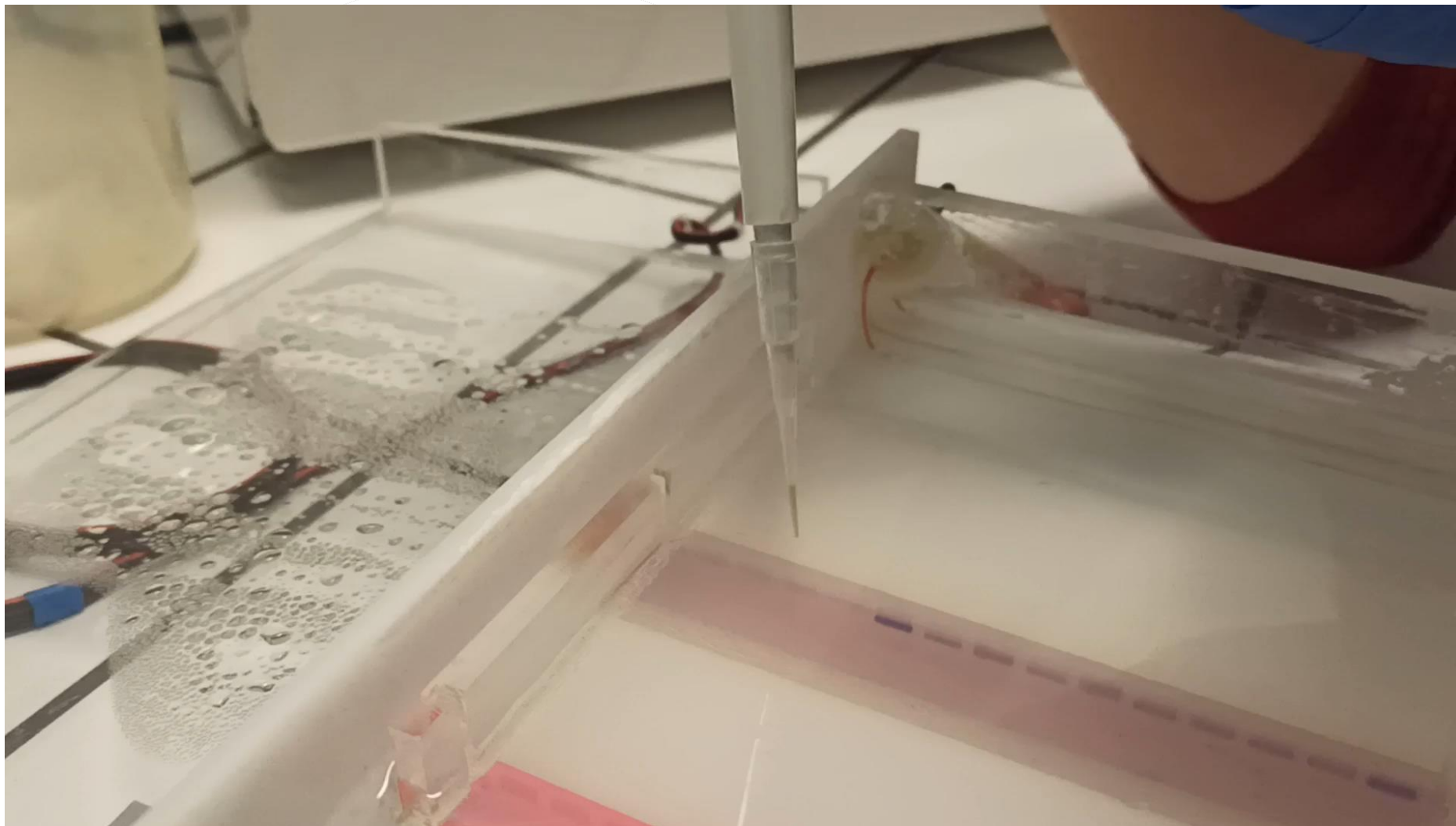


Erasmus+ project 2021-1-SK01-KA220-HED-000032068

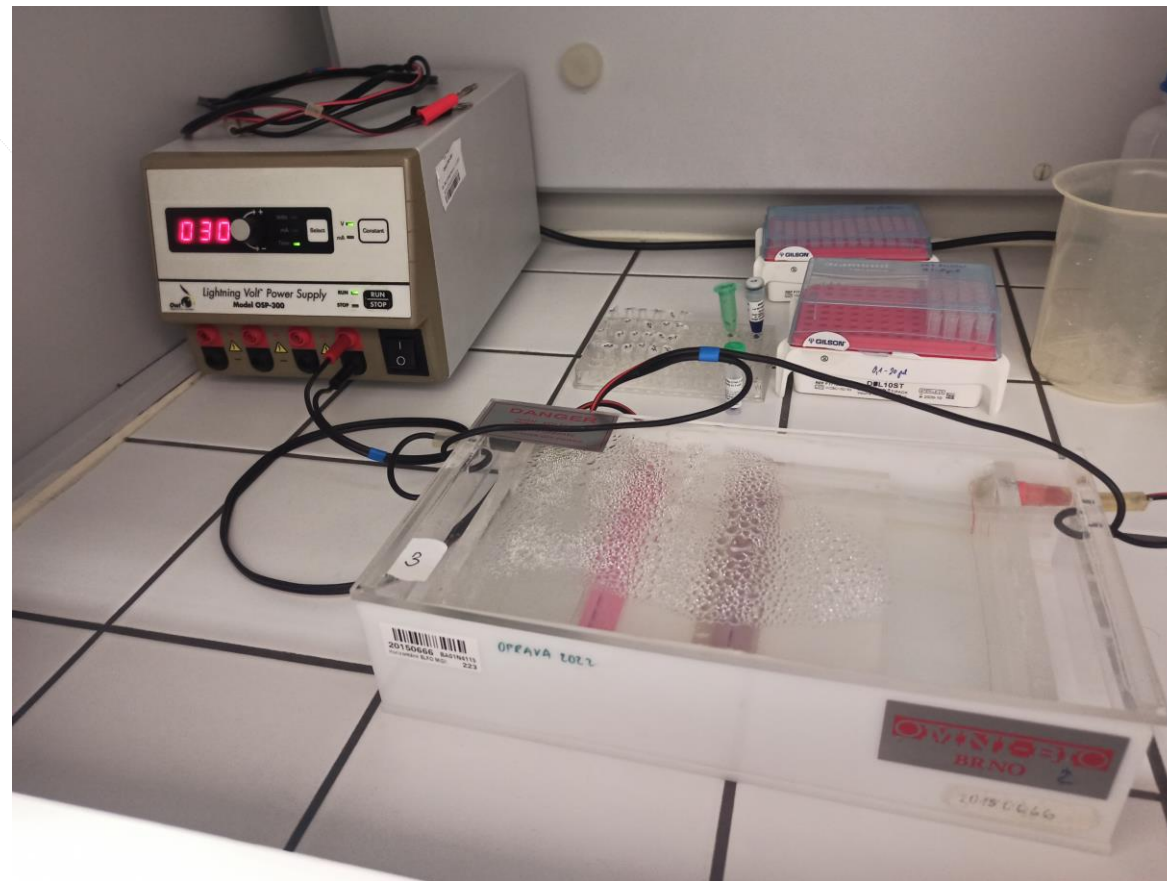
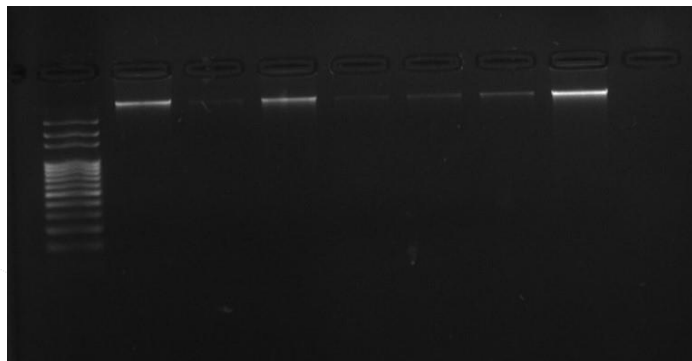
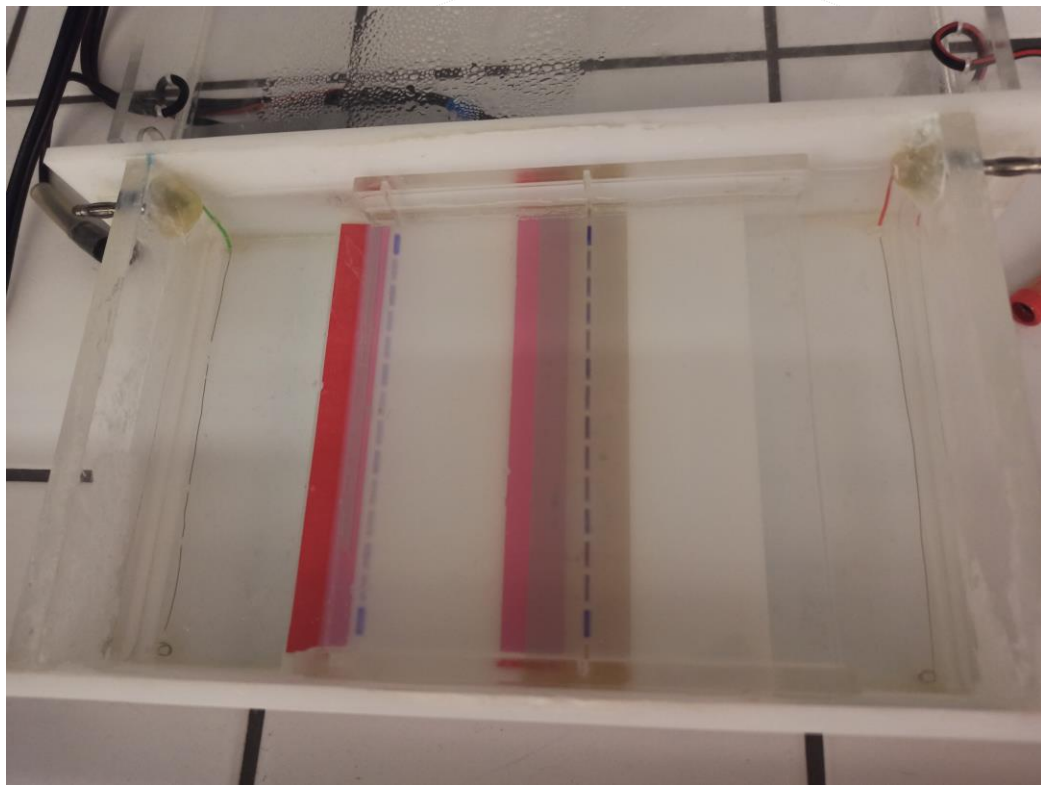


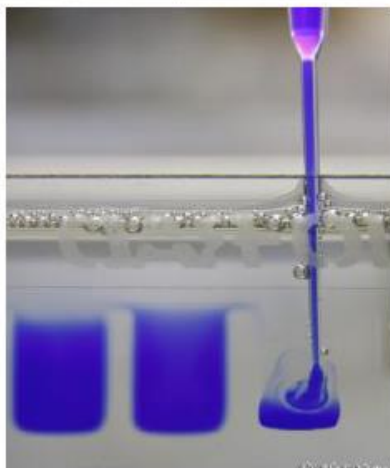
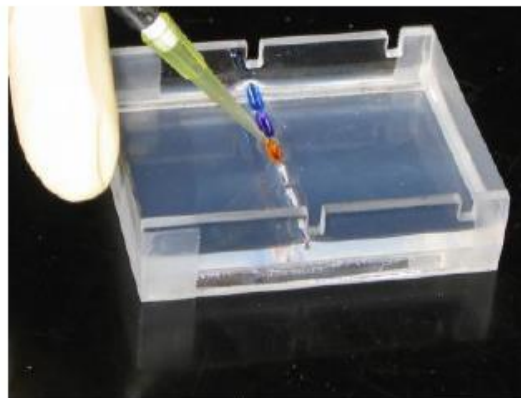
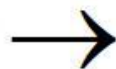
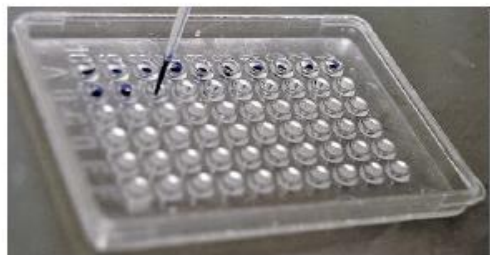
Co-funded by  
the European Union

# Agarózová elektroforéza



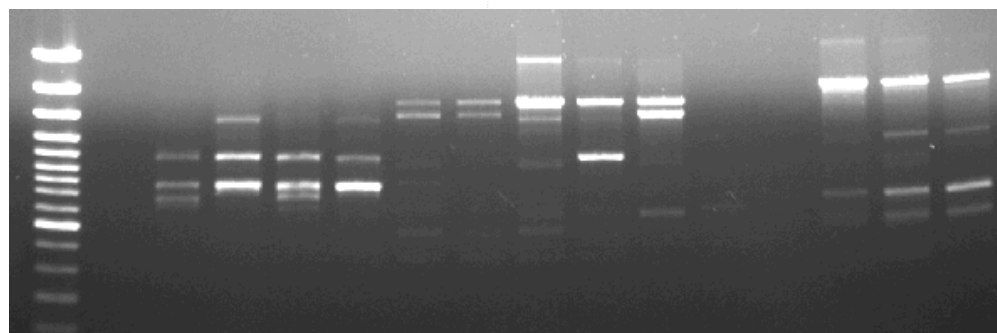
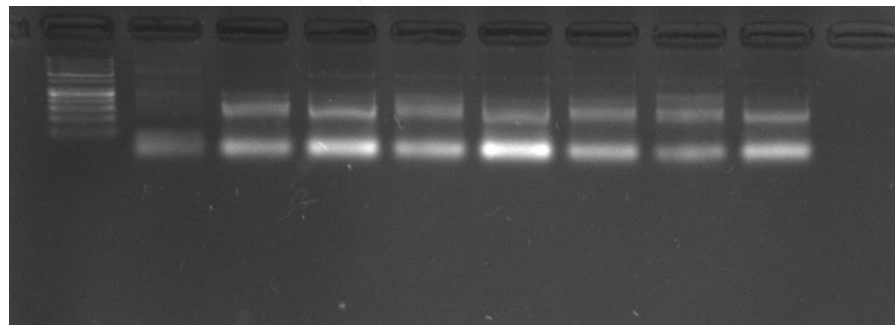
# Agarózová elektroforéza





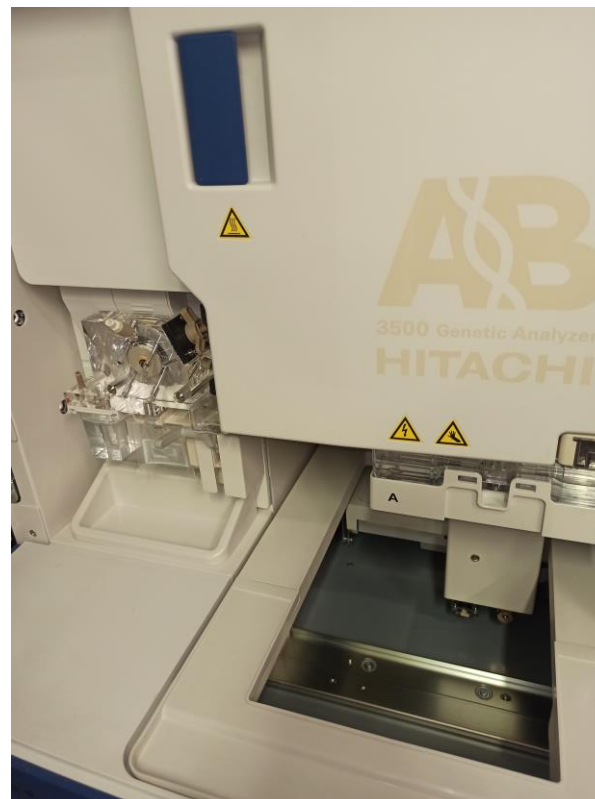


# Multiplexní PCR



# Fragmentační analýza

- kapilární elektroforéza + fluorescenční detekce na genetickém analyzátoru



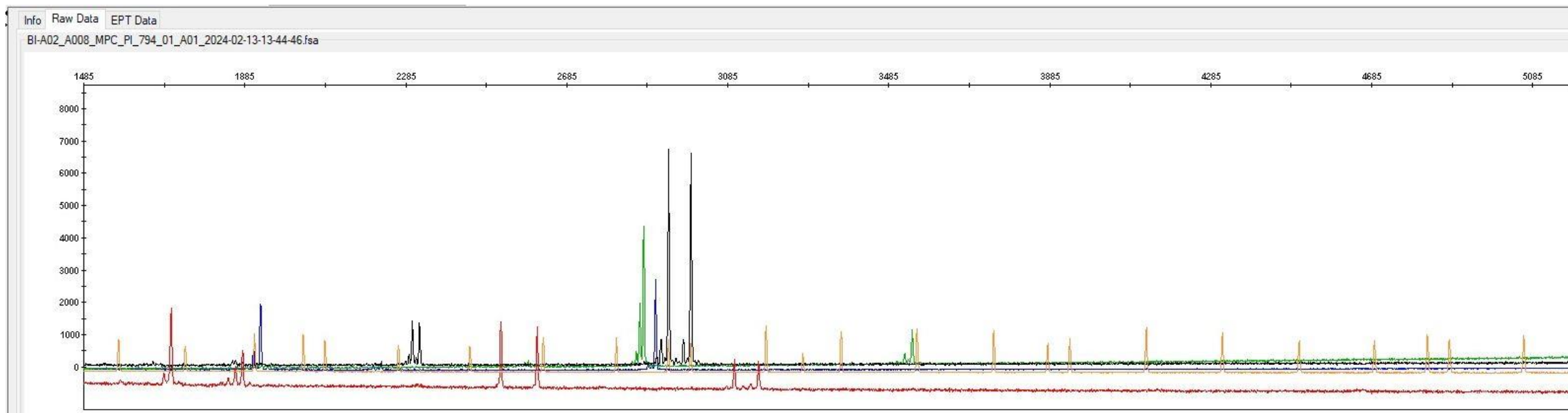
Demonstrace videí ovládání genetického analyzátoru (sekvenátory) – viz přednáška modul 1 - sekvenování



Co-funded by  
the European Union

# Surová data - vyhodnocení

ISAGREED



Co-funded by  
the European Union

# Výstup z automatického analyzátoru



ISAGREED

# Příklad ověření původu u koní

ISAGREED

Otec

| Locus | Genotype |
|-------|----------|
| VHL20 | LL       |
| HTG4  | KL       |
| AHT4  | HO       |
| HMS7  | MN       |
| HTG6  | JO       |
| AHT5  | MM       |
| HMS6  | MN       |
| ASB23 | IJ       |
| ASB2  | KM       |
| HTG10 | OO       |
| HTG7  | OO       |
| HMS3  | IM       |
| HMS2  | HM       |
| ASB17 | NO       |
| LEX3  | IH       |
| HMS1  | MM       |
| CA425 | JM       |

Potomek

| Locus | Genotype |
|-------|----------|
| VHL20 | LM       |
| HTG4  | KK       |
| AHT4  | HJ       |
| HMS7  | KM       |
| HTG6  | OO       |
| AHT5  | MN       |
| HMS6  | MP       |
| ASB23 | IK       |
| ASB2  | MQ       |
| HTG10 | IO       |
| HTG7  | OO       |
| HMS3  | MP       |
| HMS2  | KM       |
| ASB17 | NN       |
| LEX3  | HI       |
| HMS1  | JM       |
| CA425 | JN       |

Matka

| Locus | Genotype |
|-------|----------|
| VHL20 | LM       |
| HTG4  | KL       |
| AHT4  | HJ       |
| HMS7  | KK       |
| HTG6  | GO       |
| AHT5  | NN       |
| HMS6  | PP       |
| ASB23 | KS       |
| ASB2  | OQ       |
| HTG10 | IM       |
| HTG7  | OO       |
| HMS3  | PP       |
| HMS2  | KL       |
| ASB17 | NN       |
| LEX3  | II       |
| HMS1  | JJ       |
| CA425 | NN       |



Co-funded by  
the European Union



Siedlce University  
of Natural Sciences  
and Humanities

Mendel  
University  
in Brno



Czech University  
of Life Sciences Prague

## Partners:



# Děkuji za vaši pozornost!

*This presentation has been supported by the Erasmus+ KA2 Cooperation Partnerships grant no. 2021-1-SK01-KA220-HED-000032068 "Innovation of the structure and content of study programs in the field of animal genetic and food resources management with the use of digitalisation - Inovácia obsahu a štruktúry študijných programov v oblasti manažmentu živočíšnych genetických a potravinových zdrojov s využitím digitalizácie". The European Commission support for the production of this presentation does not constitute an endorsement of the contents which reflects the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.*



Petra Bartoňová



petra.bartonova@mendelu.cz



Co-funded by  
the European Union