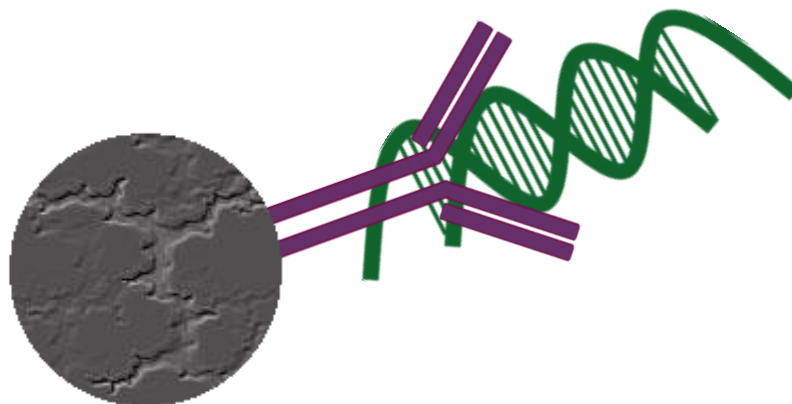


Název: Separace nukleových kyselin pomocí magnetizovatelných
částic modifikovaných protilátkami

Školitel: Marcela Vlčnovská

Datum: 10. 1. 2013

Separace nukleových kyselin



Protilátky proti DNA

HYB331-01

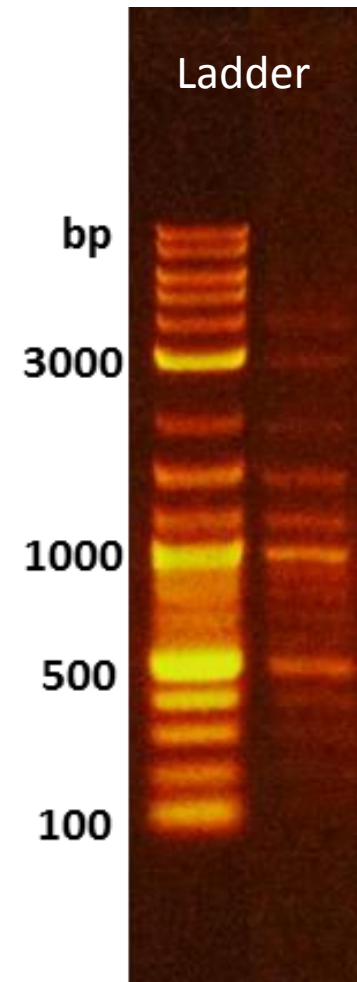
- Myší monoklonální
- Proti ds DNA
- IgG

11B6

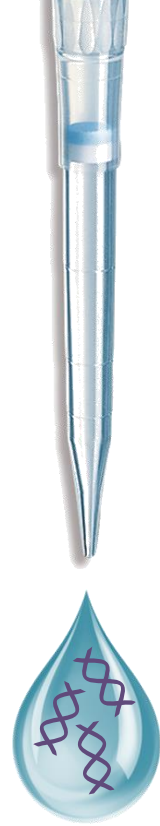
- Myší monoklonální
- Proti ds DNA
- IgM

Předchozí výsledky

Vzorek	HYB 331-01	11B6
DNA bakteriofág λ 498 bp	✓	✗
Oxpt DNA bakteriofág λ 498 bp	✓	✗
Genomová DNA	✗	✗
Ds oligonukleotid 23 bp	✗	✗
Ladder (200 – 3 000 bp)	✓	✗



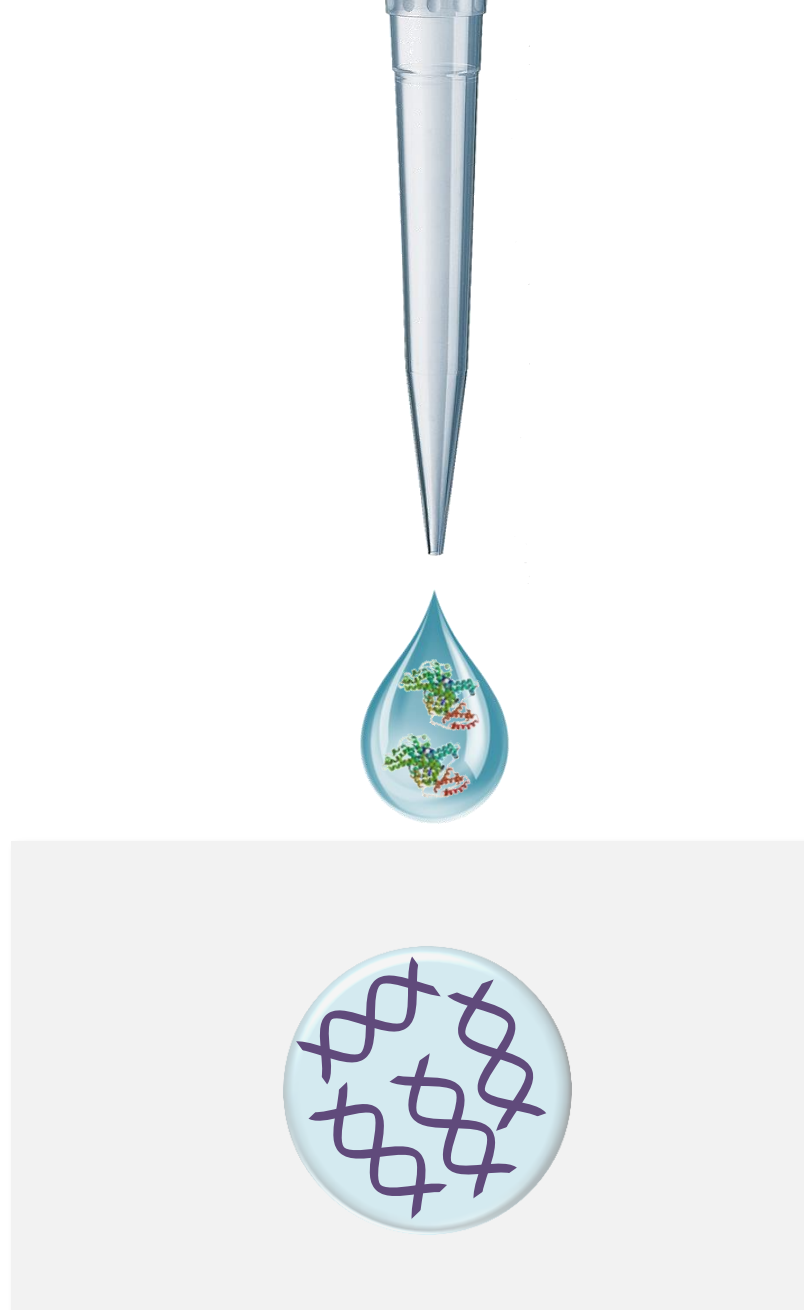
DNA:



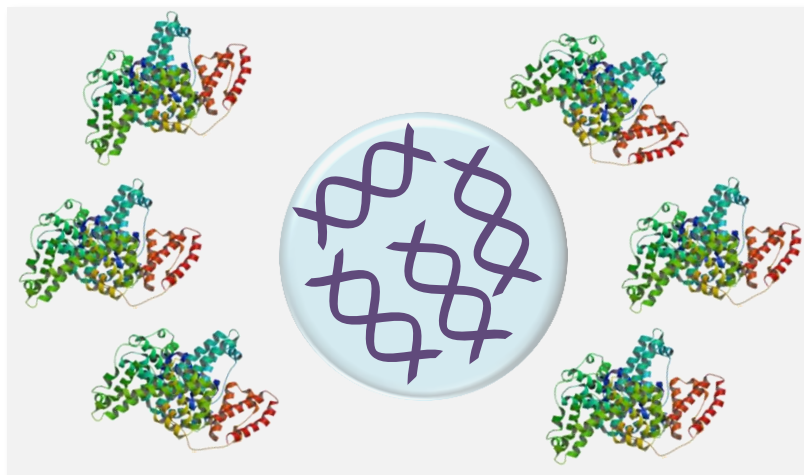
DNA:



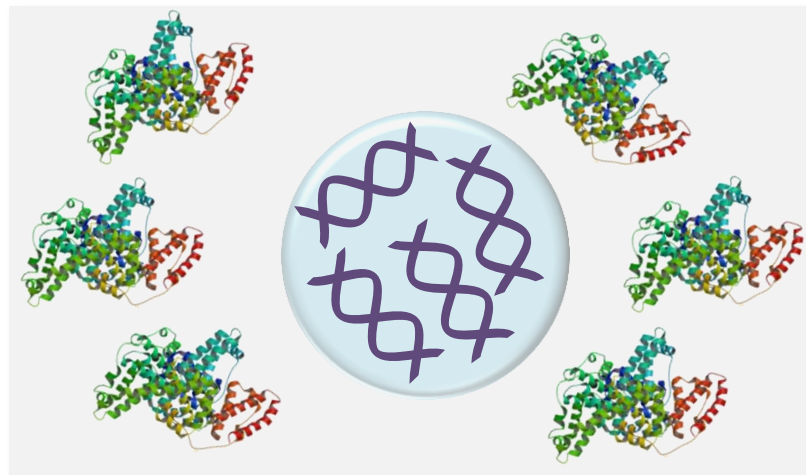
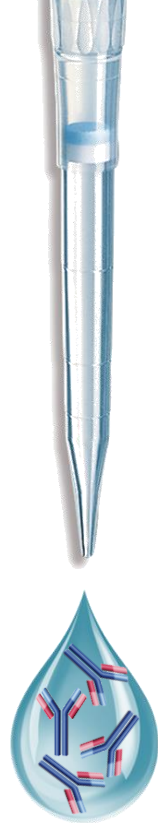
Blokování:



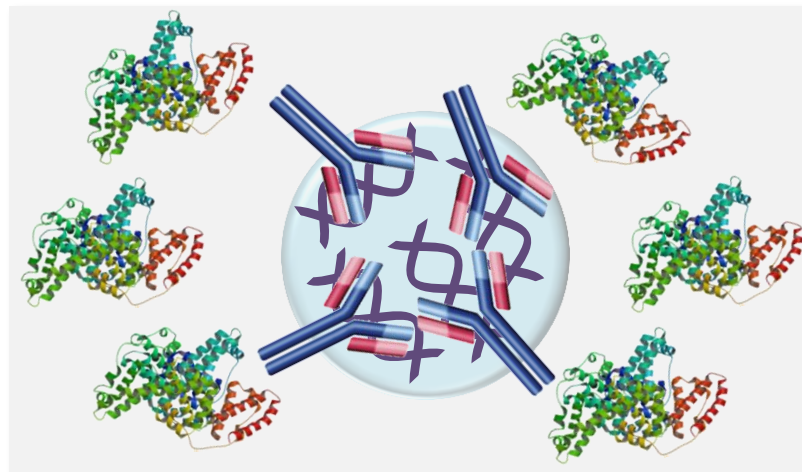
Blokování:



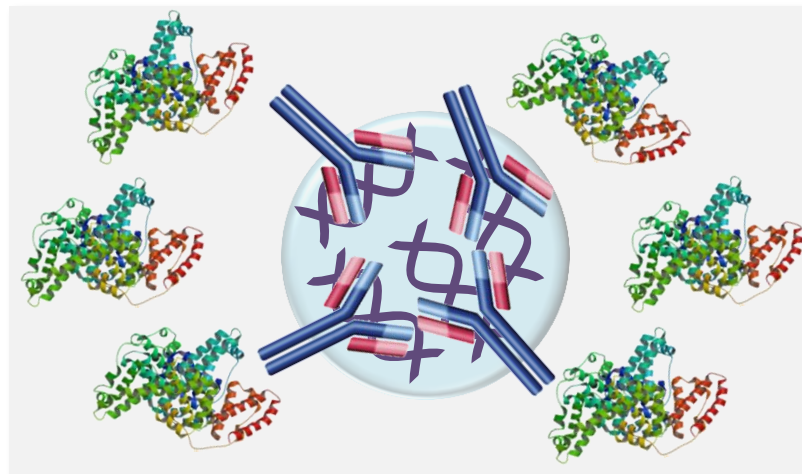
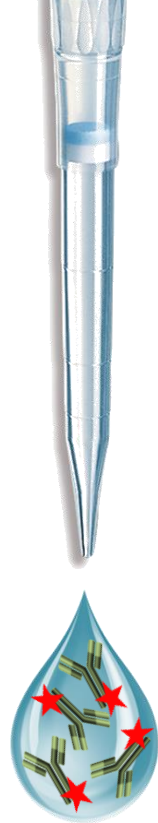
Primární protilátka:
anti ds-DNA



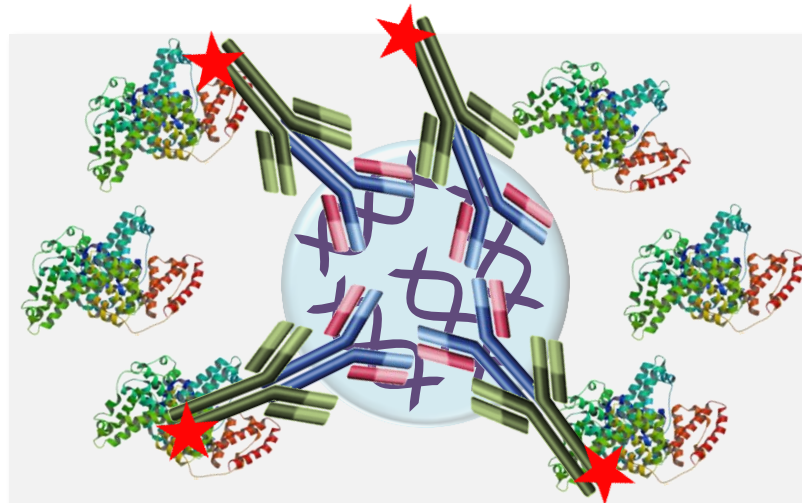
Primární protilátka: anti ds-DNA



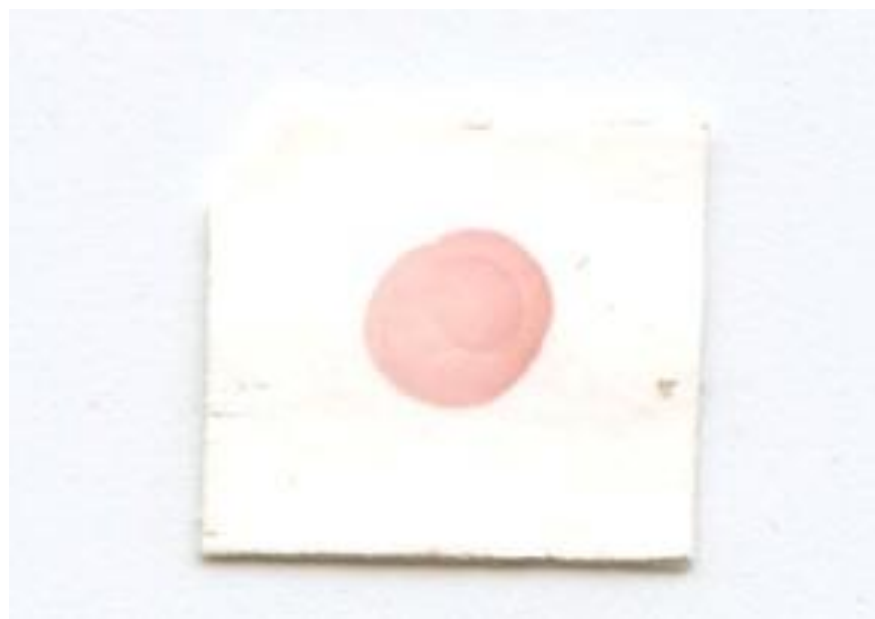
Sekundární protilátka: anti mause Dako



Sekundární protilátka: anti mause Dako



Výsledek:



Kalibrační řada DNA

HYB 331-01



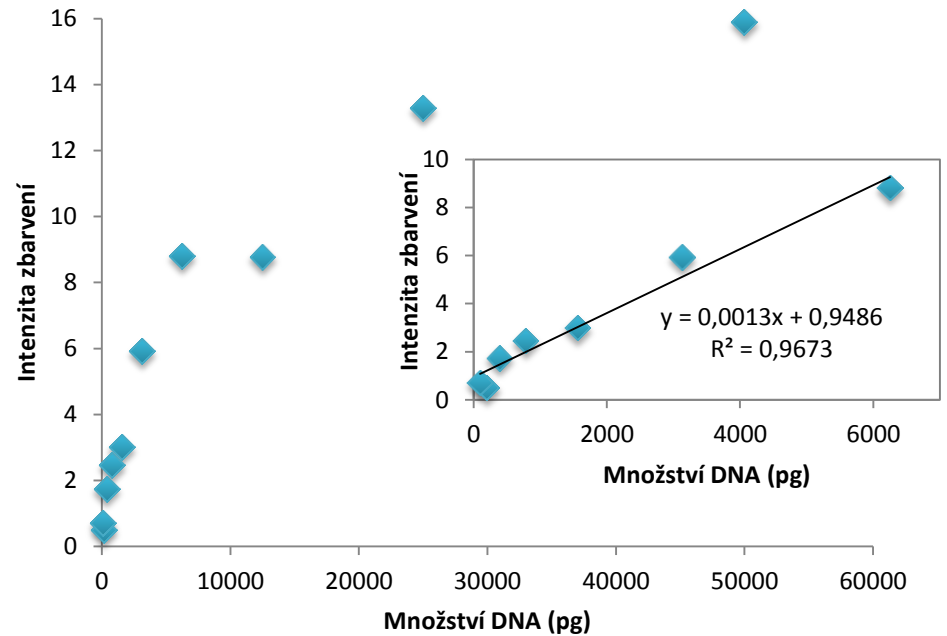
- 50 000 pg
- 25 000 pg
- 12 500 pg
- 6 250 pg
- 3 125 pg
- 1 562,5 pg
- 781,25 pg
- 390,63 pg
- 195,31 pg
- 97,66 pg

11B6



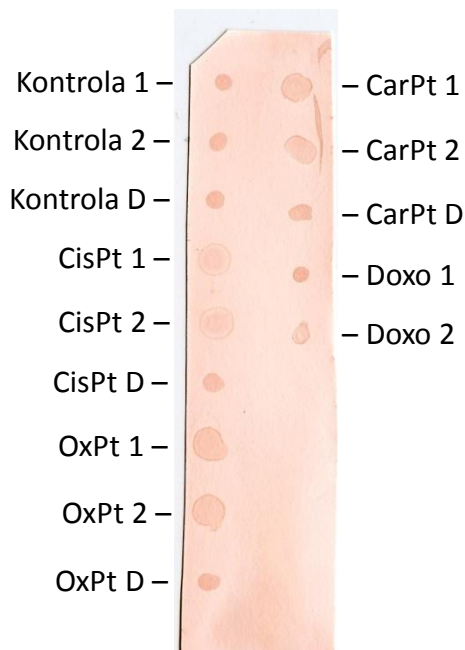
- 50 000 pg
- 25 000 pg
- 12 500 pg

DNA – PCR fragment bakteriofág λ 498 bp

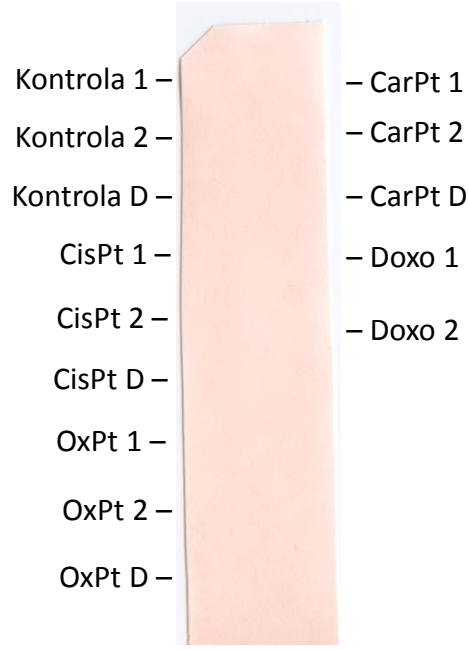


DNA modifikovaná cytostatickým léčivem

HYB 331-01



11B6



DNA – 25 µg/ml λ 498 bp

CisPt – 0,2 µg/ml

OxPt – 4 µg/ml

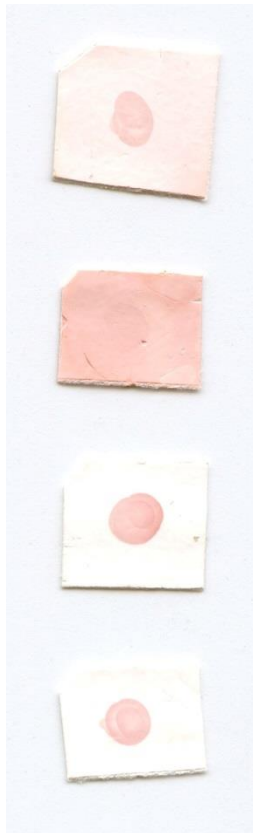
CarPt – 75 µg/ml

Doxo – 110 µg/ml

Optimalizace blokování membrány

HYB 331-01

DNA – 12,5 µg/ml λ 498 bp



- BSA 2 hodiny

- BSA 1,5 hodiny

-1% Sušené mléko 2 hodiny

- 1% Sušené mléko 1,5 hodiny

Různé délky DNA – HYB 331-01



- miRNA 124 ss (5 μ M)
- miRNA 124 BTN (5 μ M)
- miRNA 124 ds (5 μ M)
- miRNA 150 (10 μ M)



- Bakteriofág λ ; 498 bp; 12,5 μ g/ml
- ss DNA
- MT2A 10 μ g/ml

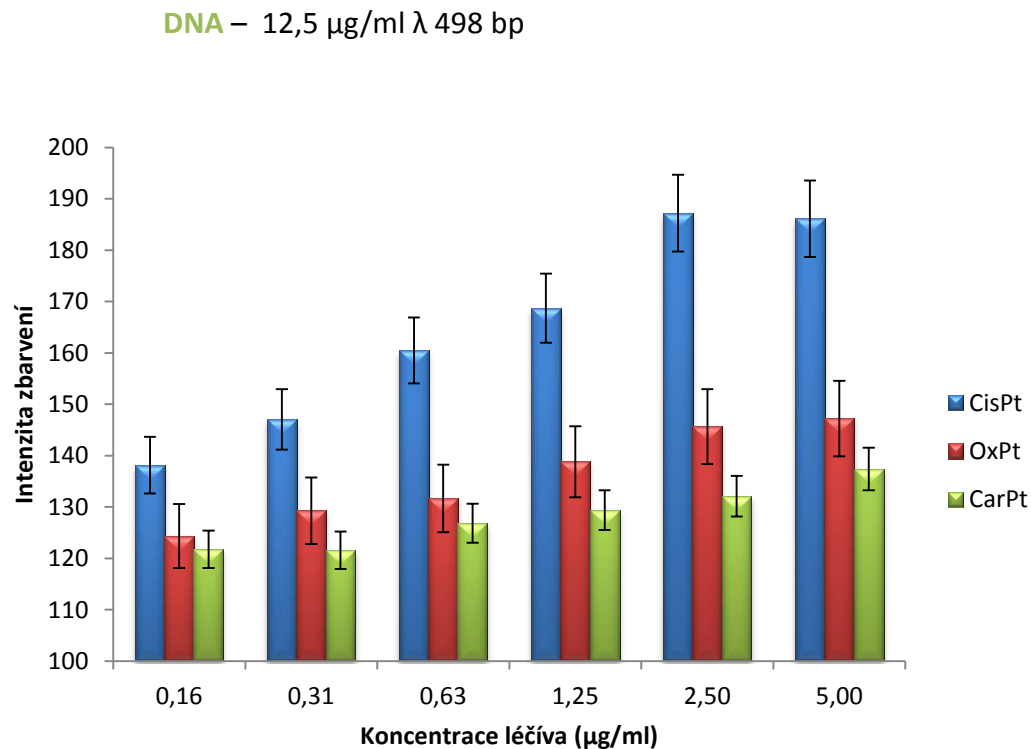
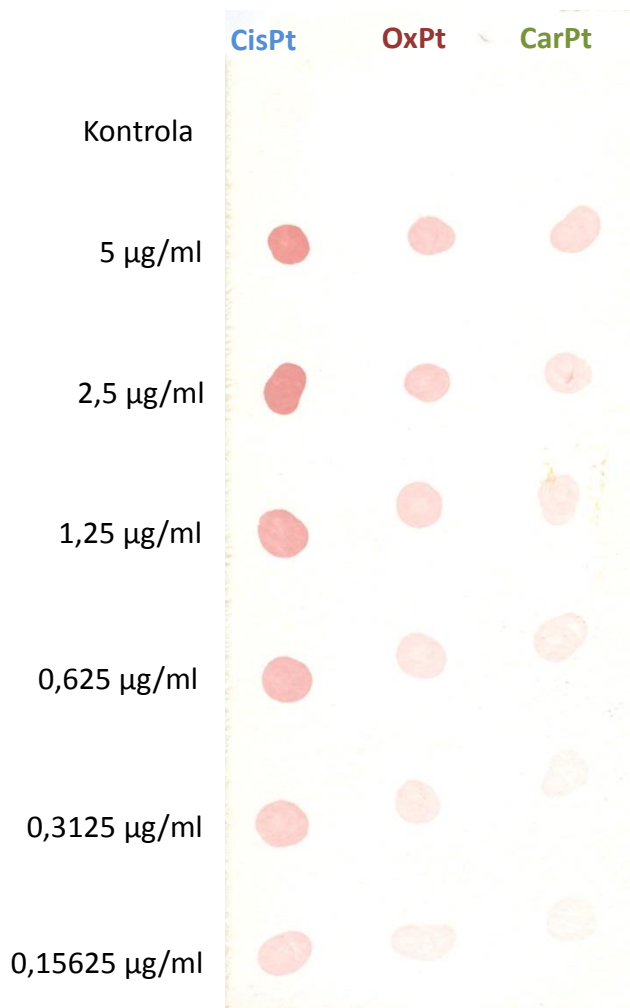


- ss oligo 43 bp
- ds oligo 43 bp
- ss oligo 17 bp
- ds oligo 17 bp



- Human genom DNA
- λ genom DNA
- RNA
- cDNA

Protilátka proti platinované DNA



Shrnutí výsledků dot-blotu

Vzorek	HYB 331-01	11B6	Anti-Pt DNA
DNA bakteriofág λ 498 bp	✓	✗	✗
Genomová DNA	✓	-	-
Ss oligonukleotidy	✗	-	-
Ds oligonukleotidy	✗	-	-
miRNA	✗	-	-
RNA	✓	-	-
cDNA	✓	-	-
CisPt DNA	✓	✗	✓
OxPt DNA	✓	✗	✓
CarPt DNA	✓	✗	✓

Poděkování



- Prof. Ing. René Kizek, Ph.D.
- Mgr. Markéta Vaculovičová, Ph.D.
- Ing. Soňa Křížková, Ph.D.
- Ing. Kristýna Šmerková



CEITEC

Central European Institute of Technology
BRNO | CZECH REPUBLIC





INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Děkuji Vám za pozornost

Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.4.00/31.0023

Název projektu: Partnerská síť centra excelentního bionanotechnologického výzkumu

