


MET
 MINISTERSTVO VŠEHOPLNÉHO
 MÍSTĚNÍ A TĚLOVÝCHOVY
 INVESTICE DO ROZVOJE Vzdělávání

PCR for metallothionein genes

Petr Michálek

30.1.2014

Reg.č. projektu: CZ.1.07/2.4.00/31.0023
 Název projektu: Partnerská síť centra excelentního bionanotechnologického výzkumu





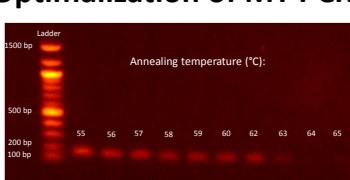
- Protein coded by a large family of genes
- 19 genes and pseudogenes of human MT isoforms
- Mostly located on 16th chromosome
- Various MT genes vary in their response to various inductors –
 MT1 and 2 genes are most widely expressed - transcription of
 these genes is rapidly and dramatically up-regulated in response
 to heavy metals

Reg.č. projektu: CZ.1.07/2.4.00/31.0023
 Název projektu: Partnerská síť centra excelentního bionanotechnologického výzkumu





Optimization of MT PCR



Annealing temperature (°C):
 55 56 57 58 59 60 62 63 64 65

PCR (Taq) 35x
 DNA from buccal swab
 4 min 95 °C
 1 min 95 °C
 30 s 55–65 °C
 30 s 72 °C
 7 min 72 °C
 10 min 10 °C
 PCR length: 167 bp

Reg.č. projektu: CZ.1.07/2.4.00/31.0023
 Název projektu: Partnerská síť centra excelentního bionanotechnologického výzkumu



Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

- most sensitive technique for mRNA detection currently available
- sensitive enough to enable quantitation of RNA from a single cell
- used in molecular biology to detect RNA expression levels
- used to create cDNA libraries from mRNA
- shows whether or not a specific gene is being expressed in a sample
- used in medicine, biotechnology, GMO's, microbiology...

Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.4.00/31.0023
Název projektu: Partnerská síť centra excelentního bionanotechnologického výzkumu NanoBioMetalNet

Principle of RT-PCR

- One-step RT-PCR [RNA Primers Reverse Transcriptase DNA Polymerase Buffer Reagents] → RT-PCR
- Two-step RT-PCR [RNA Non-specific Primer Reverse Transcriptase DNA Polymerase Buffer Reagents] → Reverse Transcriptase + Specific Primer → PCR

Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.4.00/31.0023
Název projektu: Partnerská síť centra excelentního bionanotechnologického výzkumu NanoBioMetalNet

Thank you for your attention

Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.4.00/31.0023
Název projektu: Partnerská síť centra excelentního bionanotechnologického výzkumu NanoBioMetalNet
