

ABSTRAKT

Sáva Klabačková

Jaderný faktor kappa B a zánětlivá reakce

Bakalářská práce

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Zdravotní laborant

Cíl práce: Navržené systémy LNA sond pro členy rodiny NF- κ B, jeho inhibitorů a kináz nám umožní porovnat aktivaci imunitního systému mezi skupinami bezmikrobních a konvenčních selat. To zahrnuje izolaci celkové RNA, syntézu cDNA, polymerázovou řetězovou reakci, relativní kvantifikaci genové transkripce NF- κ B a statistické vyhodnocení případných rozdílů mezi skupinami selat.

Metody: 1) Skupiny bezmikrobních a konvenčních selat, 2) návrh systémů LNA sond pro PCR genů rodiny NF- κ B, 3) kolonová metoda izolace celkové RNA z ilea, 4) spektrofotometrické posouzení její koncentrace a čistoty, 5) reverzní transkripce, 6) polymerázová řetězová reakce v reálném čase, 7) potvrzení velikosti amplikonu elektroforézou, 8) stanovení relativní genové exprese za použití referenčních genů.

Výsledky: Systémy LNA sond (RelA-85, RelB-1, cRel-63, NF- κ B1-63, NF- κ B2-21, NF- κ BIA-27, Bcl3-9, IKK1-7, IKK2-3, NEMO-27) s potvrzením požadované velikosti amplikonu elektroforézou. Mezi skupinami bezmikrobních a konvenčních selat jsme pozorovali rozdíly v aktivaci jednotlivých genů, které však v mnoha případech nebyly statisticky průkazné.

Závěr: Navrhli jsme a zavedli systém LNA sond pro stanovení genového přepisu transkripčních faktorů rodiny NF- κ B, včetně jeho inhibitorů a aktivátorů. NF- κ B se podílí na mechanismech, které hrají ústřední roli v imunitním systému organismu. Regulace je velmi složitá a pro získání odpovídajícího obrazu bude třeba provést další studium na úrovni proteinů.