

Okruhy otázek předmětu Metagenomika

- Využití Metagenomiky
- Co je předmětem studia Metagenomiky
- Rozdíl mezi cíleným a celometagenomovým sekvenováním
- K čemu lze využít NGS
- Dostupné technologie NGS
- Rozdíl mezi Sangerovým sekvenováním a NGS
- Rozdíl mezi druhou a třetí generací sekvenování
- Princip pyrosekvenování 454, zkrácený workflow
- Podrobný princip sekvenování na přístrojích Illumina (vznik klastrů, vysvětlit co je můstková amplifikace, jak se připojují nukleotidy, co je to base space atd.), jaké přístroje jsou na trhu
- Princip Ion Torrent, zkrácený workflow
- Srovnání platform - výhody, nevýhody
- Vyjmenování dostupných platform 3. generace, zkrácený princip, v čem jsou lepší než 2. generace a k čemu lze využít
- Důležité kroky při odběru vzorků (půda, voda, biologické vzorky)
- Možné přístupy izolace DNA a cíle izolace DNA
- Faktory ovlivňující výsledek sekvenace genu pro 16S rRNA
- Výhody sekvenace genu pro 16S rRNA
- Strategie přípravy amplikonů
- Příprava knihoven pro celometagenomové sekvenování – rozdíl mezi enzymatickou a mechanickou fragmentací, výhody x nevýhody
- Cíleně obohacené knihovny – multiplexová PCR a obohacení pomocí sond – krátce principy a na co je který přístup vhodný
- NGS formáty – názvy, k čemu slouží quality score
- Analýza dat – workflow, proč se který krok dělá, k čemu slouží
- Výstupy z analýzy dat (alfa a beta diverzita, OTU tabulka, grafy se složením mikrobiomu, shluková analýza, korelace)
- Databáze 16S rRNA genu
- Nástroje na analýzu metagenomických dat
- Vysvětlení alfa a beta diverzity
- Indexy diverzity
- Metagenomika eukaryot a virom – proč je to problematictější, jak se může postupovat?
- Transkriptomika – jak lze postupovat při přípravě knihovny