

Analýza sekvencí HVI mtDNA

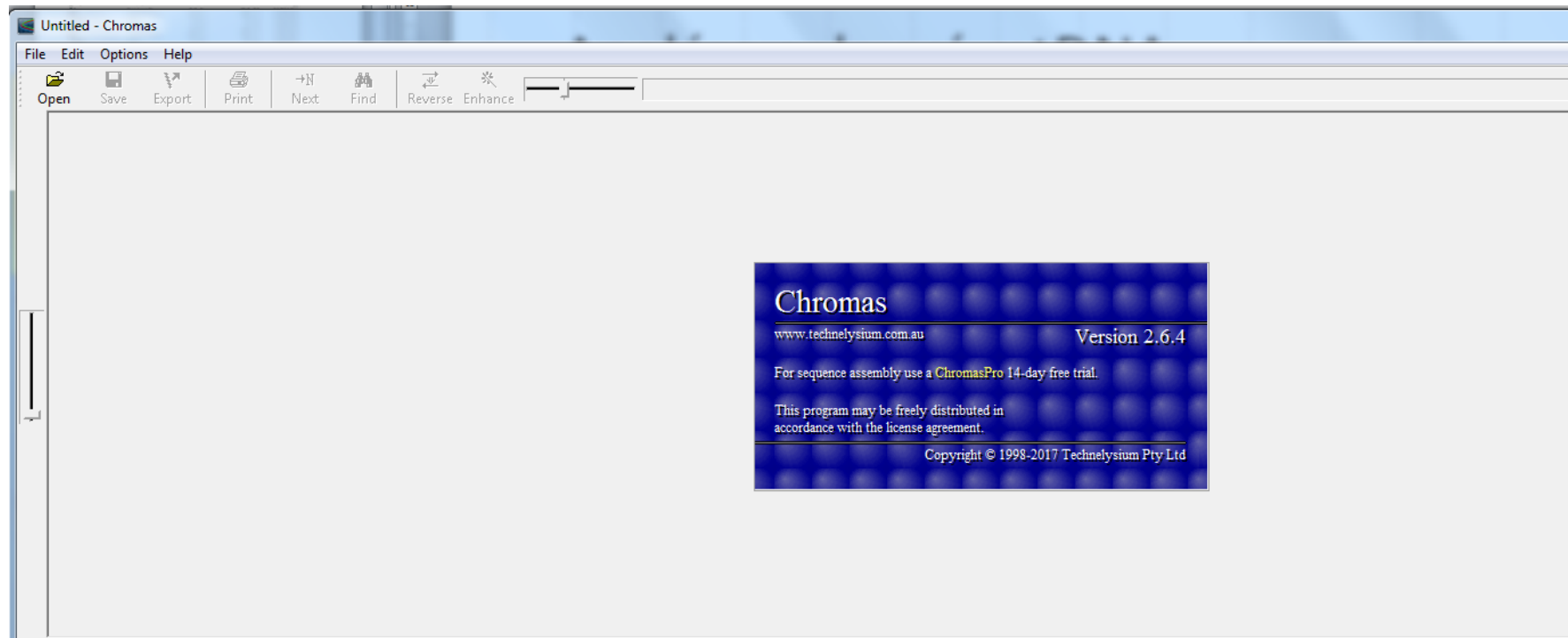
1) IS→studijní materiály→mt_DNA.rar – soubory ve tvaru jpg, seq a phd

<https://is.muni.cz/auth/dok/rfmgr.pl>

1	Chromatogram File	117 kB	Ne	288 kB	60 %	7.12.2017 11:33
1	Obrázek ve formátu JPEG	526 kB	Ne	566 kB	8 %	7.12.2017 11:36
1.phd.1	Soubor 1	1 kB	Ne	1 kB	44 %	7.12.2017 11:33
1.seq	Soubor SEQ	1 kB	Ne	1 kB	4 %	7.12.2017 11:33
2	Chromatogram File	54 kB	Ne	185 kB	72 %	7.12.2017 11:33
2	Obrázek ve formátu JPEG	540 kB	Ne	581 kB	8 %	7.12.2017 11:36
2.phd.1	Soubor 1	1 kB	Ne	2 kB	54 %	7.12.2017 11:33
2.seq	Soubor SEQ	1 kB	Ne	1 kB	31 %	7.12.2017 11:33
3	Chromatogram File	50 kB	Ne	181 kB	73 %	7.12.2017 11:33
3	Obrázek ve formátu JPEG	637 kB	Ne	675 kB	6 %	7.12.2017 11:36
3.phd.1	Soubor 1	1 kB	Ne	2 kB	53 %	7.12.2017 11:33
3.seq	Soubor SEQ	1 kB	Ne	1 kB	35 %	7.12.2017 11:33
4	Chromatogram File	51 kB	Ne	181 kB	72 %	7.12.2017 11:33
4	Obrázek ve formátu JPEG	755 kB	Ne	789 kB	5 %	7.12.2017 11:36
4.phd.1	Soubor 1	1 kB	Ne	2 kB	53 %	7.12.2017 11:33
4.seq	Soubor SEQ	1 kB	Ne	1 kB	35 %	7.12.2017 11:33
5	Chromatogram File	53 kB	Ne	180 kB	72 %	7.12.2017 11:33
5	Obrázek ve formátu JPEG	518 kB	Ne	559 kB	8 %	7.12.2017 11:36
5.phd.1	Soubor 1	1 kB	Ne	2 kB	52 %	7.12.2017 11:33
5.seq	Soubor SEQ	1 kB	Ne	1 kB	29 %	7.12.2017 11:33
6	Chromatogram File	51 kB	Ne	181 kB	72 %	7.12.2017 11:33

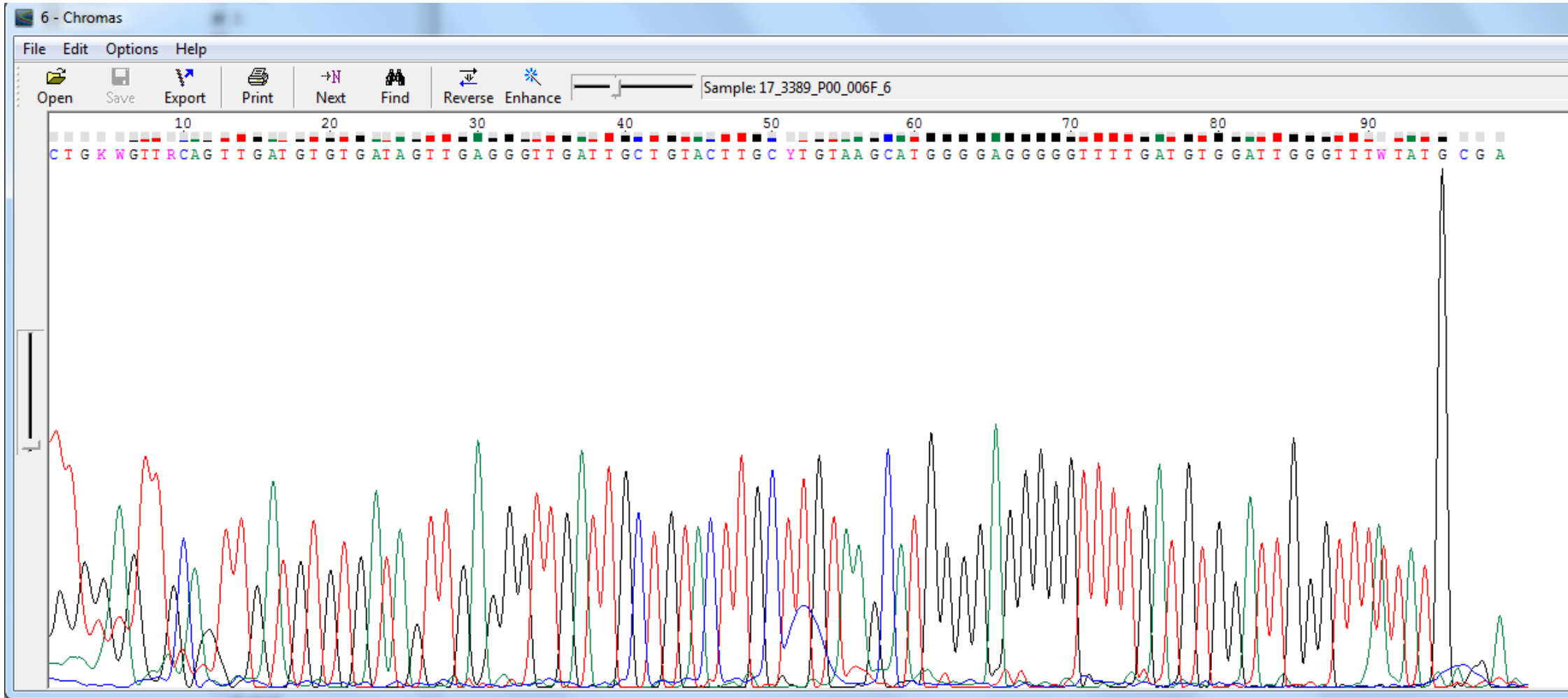
Analýza sekvencí HVI mtDNA

2) Stáhnout Chromas - <http://technelysium.com.au/wp/>



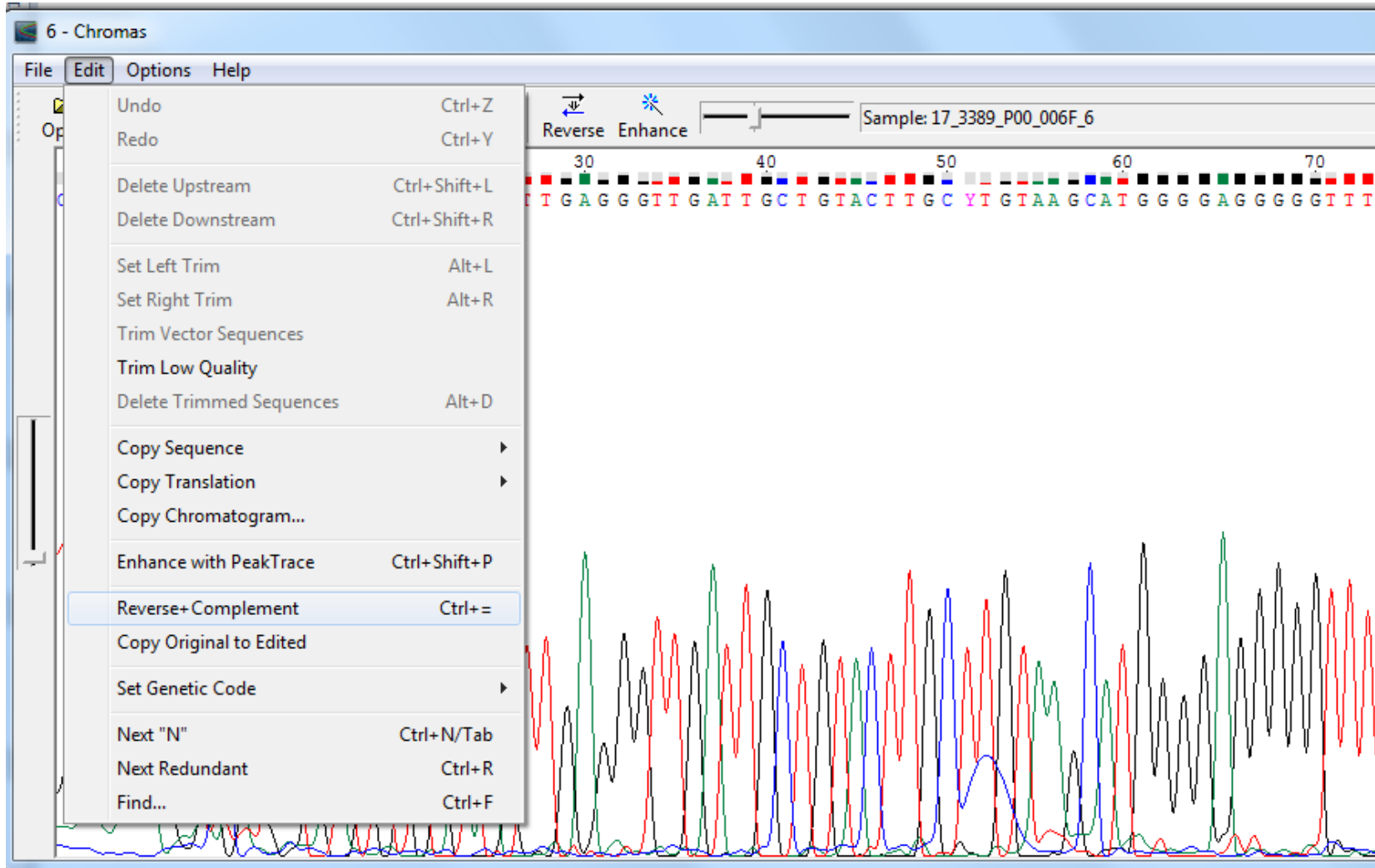
Analýza sekvencí HVI mtDNA

3) V programu otevřít soubor v programu Chromas



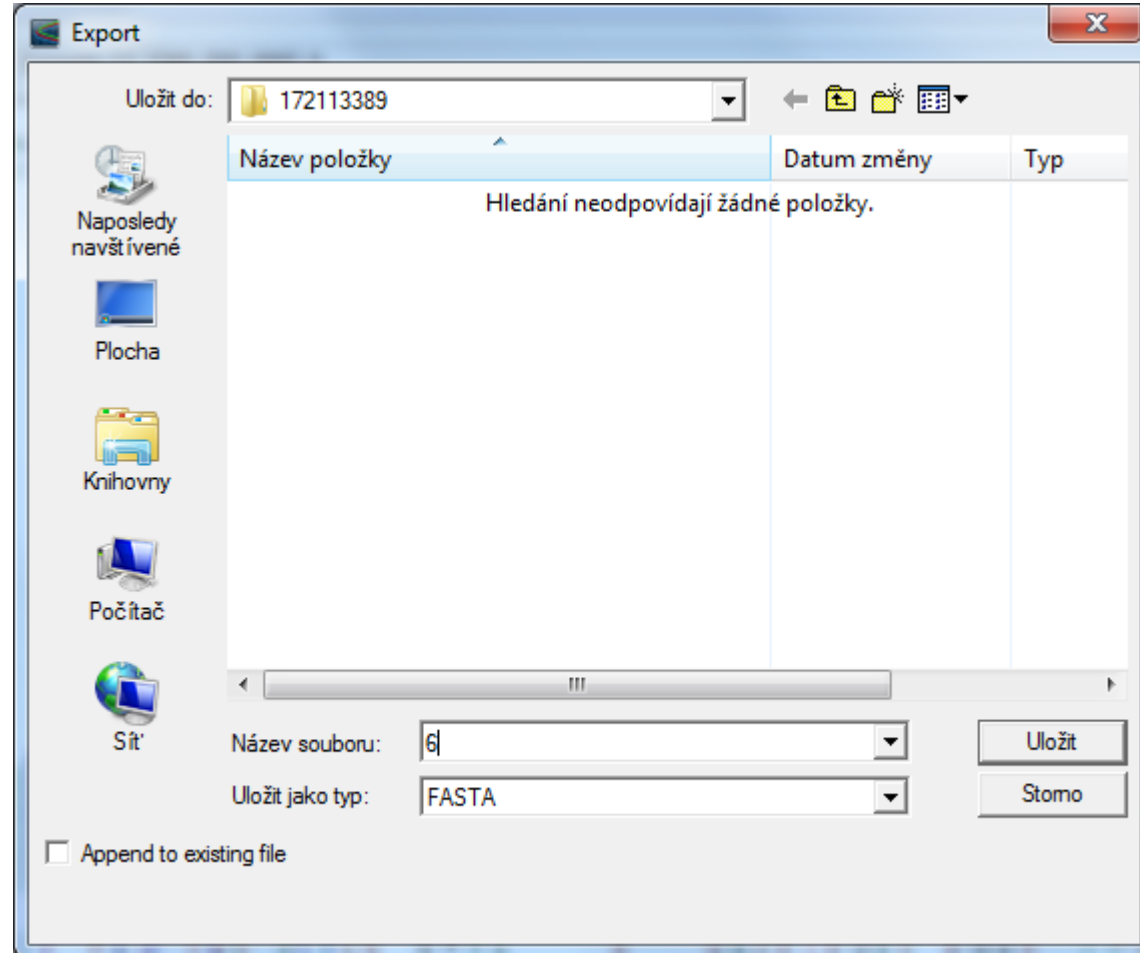
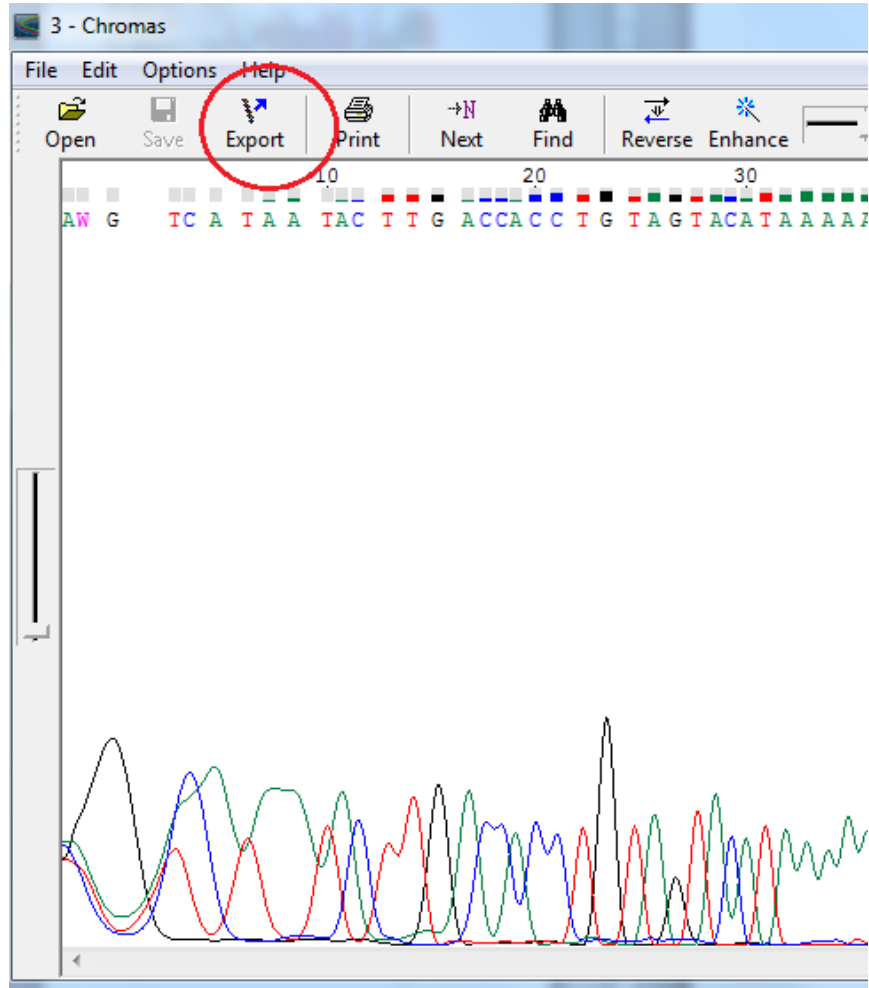
Analýza sekvencí HVI mtDNA

4) Reverzní produkt funkcí „revers a complement „ přepsat



Analýza sekvencí HVI mtDNA

5) Uložit jako FASTA



Analýza sekvencí HVI mtDNA

6) Vložit sekvence z jednotlivých amplifikací do souboru „souhrn sekvenci.doc“

HVI/1 , 165 pb

CCCAAAGCTAAGATTCTAATTTAAACTATTCTCTGTTCTTTTCATGGGGAAGCAGATTTGGGTACCACCCAAGTATTGACTCACC
CATCAACAACCGCTATGTATTTTCGTACATTACTGCCAGCCACCATGAATATTGTACGGTACCATAAATACTTGACCACCTG

HVI/2, 137 pb

TACATTACTGCCAGCCACCATGAATATTGTACGGTACCATAAATACTTGACCACCTGTAGTACATAAAAACCCAATCCACATCA
AAACCCCTCCCCATGCTTACAAGCAAGTACAGCAATCAACCCTCAACTATCA

HVI/3, 146 pb,

CATAAAAACCCAATCCACATCAAAAACCCCTCCCCATGCTTACAAGCAAGTACAGCAATCAACCCTCAACTATCACACATCAA
CTGCAACTCCAAAGCCACCCCTCACCCACTAGGATACCAACAAACCTACCCACCCTTAACAGT

HVI/4, 164 pb,

ACTCAAAGCCACCCCTCACCCACTAGGATACCAACAAACCTACCCACCCTTAACAGTACATAGTACATAAAGCCATTTACCGT
ACATAGCACATTACAGTCAAATCCCTTCTCGTCCCCATGGATGACCCCTCAGATAGGGGTCCCTTGACCACCATCCTC

Analýza sekvencí HVI mtDNA

7) Vyznačit primery a poskládat fragmenty jednotlivých úseků mtDNA za sebe

```
HVI/1¶  
CRS¶  
GCCAAAGCTAAGATTCTAATTAAACTATTCTGTCTTTTCATGGGGAAGCAGATTGGGTACCACCCAAGTATTGACTCACCCATCAACAACCGCTATGTATTTCTGACATTACTGCCAGCCACCATGA  
ATATTGTACGGTACCATAAATACTTGACCACCT¶  
¶  
HVI/2,-137-pb¶  
CRS¶  
TACATTACTGCCAGCCACATGAATATTGTACGGTACCATAAATACTTGACCACCTGTAGTACATAAAAAACCAATCCACATCAAACCCCTCCCATGCTTACAAGCAAGTACAGCAATCAACCCTCA  
CTATCA¶  
¶  
Srovnání reverse a forward¶  
HVI/3,-146-pb,¶  
CRS¶  
CATAAAAACCAATCCACATCAAACCCCTCCCATGCTTACAAGCAAGTACAGCAATCAACCCTCAACTATCACACATCAACTGCAACTCAAAGCCACCCCTCACCCACTAGGATACCAACAAACCTA  
CCCACCTTAACAGT¶  
¶  
HVI/4,-164-pb,¶  
CRS¶  
ACTCAAAGCCACCCCTCACCCACTAGGATACCAACAAACCTACCCACCTTAACAGTACATAGTACATAAAGCCATTTACCGTACATAGCACATTACAGTCAAATCCCTTCTCGTCCCATGGATGACCC  
CCCTCAGATAGGGTCCCTTGACCACCATCCTC¶  
¶
```

Analýza sekvencí HVI mtDNA

8) Zvýraznit rozdíly oproti rCRS

CCCAAAGCTAAGATTCTAATTTAAACTATTCTCTGTTCTTTCATGGGGAAGCAGATTTGG
GTACCACCCAAGTATTGACTCACCCATCAACAACCGCTATGTATTTTCGTACATTACTGCC
AGCCACCATGAATATTGTACGGTACCATAAATACTTGACCACCTGTAGTACATAAAAACC
CAATCCACATCAAACCCCCCTCCCCATGCTTACAAGCAAGTACAGCAATCAACCTTCAA
CTATCACACATCAACTGCAACTCCAAAGCCACCCCTCACCCACTAGGATACCAACAAAC
CTACCCACCCTTAACAGTACATAGTACATAAAGCCATTTACCGTACATAGCACATTACAG
TCAAATCCCTTCTCGTCCCCATGGATGACCCCCCTCAGATAGGGGTCCCTTGACCACCAT
CCT

Analýza sekvencí HVI mtDNA

9) Vložit sekvenci do aplikace mitomaster (<https://www.mitomap.org/foswiki/bin/view/MITOMASTER/WebHome>) a určit haploskupinu

The screenshot shows a web browser window with the URL <https://www.mitomap.org/foswiki/bin/view/MITOMASTER/WebHome>. The page title is "MITOMASTER" and the breadcrumb trail is "You are here: FoswikiMITOMASTER WebWebHome (02 May 2017, MarieLott)". The navigation menu includes "Mitomaster", "Sequence Query", "GenBank Query", "SNV Query", "Species", "Use Web API", and "Help". The main content area is titled "Submit sequence as file upload or paste into text area" and contains two steps:

- Step 1: Select conservation species of interest**
- Step 2: Fasta file** (use this for sequences in a file of fasta format)
 - Option 1:** Select file (with a "Select file" button and a "Submit" button)
 - Option 2: Copy-paste** (paste sequences in fasta format)
 - A text area containing a sample mitochondrial DNA sequence in FASTA format:

```
CCCAAAGCTAAGATTCTAATTAAACTATTCTCTGTTCTTTCATGGGGAAGCAG
ATTTGGGTACCACCCAAGTATTGACTCACCCATCAACAACCGCTATGTATTCG
TACATTACTGCCAGCCACCATGAATATTGTACGGTACCATAAATACTTGACCACC
TGTAGTACATAAAAAACCAATCCACATCAAACCCCTCCCATGCTTACAAGCA
AGTACAGCAATCAACCTTCAACTATCACACATCAACTGCAACTCCAAAGCCACC
CCTCACCCACTAGGATACCAACAAACCTACCCACCTTAACAGTACATAGTACAT
AAAGCCATTTACCGTACATAGCACATTACAGTCAAATCCCTTCTCGTCCCCATG
GATGACCCCTCAGATAGGGGTCCCTTGACCACCATCCT
```
 - A "Submit" button is located below the text area.

At the bottom of the page, a note states: "Mitomaster uses HaploGrep2 with Phylotree 17 for haplogroup determination."

Protokol aDNA cvičení

- 1) Úvod (200 slov)
- 2) Materiál (200 slov)
- 3) Metody (300 slov + tabulky)
- 4) Výsledky a závěr (200 slov)

Protokol aDNA cvičení

1) Úvod (200 slov), co je:

- mtDNA
- HV1
- Haploskupina
- Cíle práce
-

Protokol aDNA cvičení

2) Materiál (200 slov):

- Zdroj tkáně
- Popis zachovalosti kostry
- Popis zachovalosti vzorku
- Fotografie vzorku

Protokol aDNA cvičení

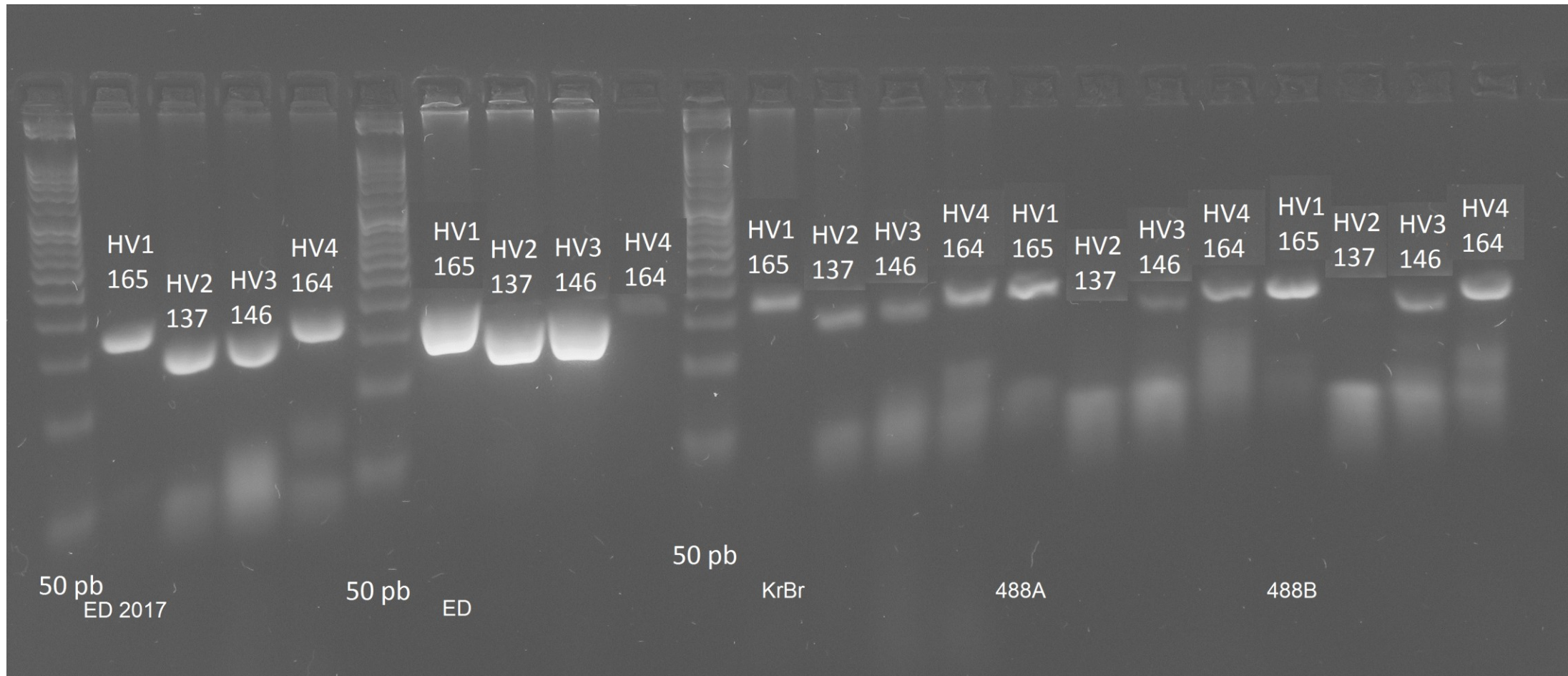
3) Metody (300 slov + tabulky)

- Odběr a očištění vzorku
- Izolace
- Amplifikace + tabulka s rozpisem konkrétní reakční směsi
- Příprava na sekvenaci

Protokol aDNA cvičení

4) Výsledky a závěr (200 slov)

- Fotografie gelu z ELFO



Protokol aDNA cvičení

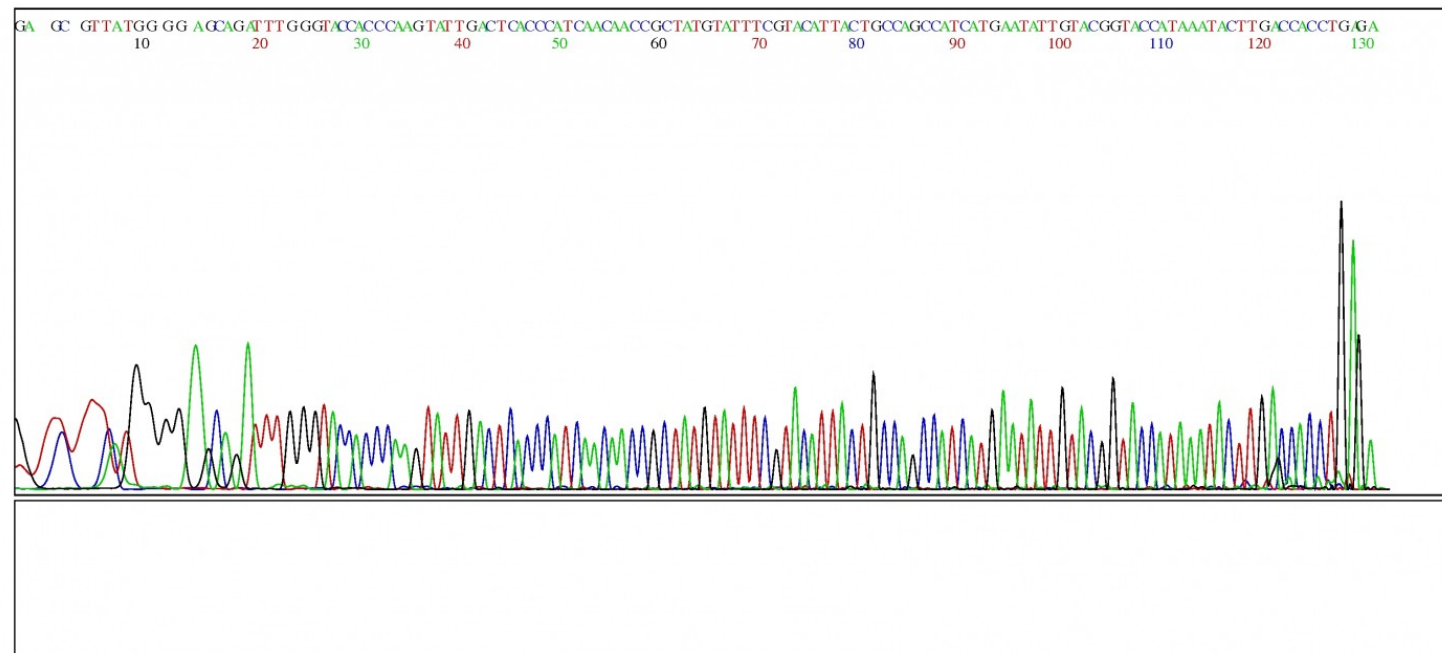
4) Výsledky a závěr:

Obrázky elektroforetogramů



Sample name: 9

User name: Kristýna Pižová
Order no.: 172113389
Order date: 05.12.2017



Protokol aDNA cvičení

4) Závěr

- Zhodnotit úspěšnost reakce, vysvětlit selhání reakce
- Určit haploskupinu
- Popsat haploskupinu
- Zasadit do historického kontextu

**TERMÍN ODEVZDÁNÍ PROTOKOLU JE 7.1. 2018 NA
BRZOBOHATA@SCI.MUNI.CZ**