



KBB/POS2 – Pokročilý oborový seminář 2

„Propojení výuky oborů Molekulární a buněčné biologie a Ochrany
a tvorby životního prostředí“

reg. č.: CZ.1.07/2.2.00/28.0032

Preparation of polyclonal antibody against the non-structural protein P3 of Potato virus A (PVA) and its use in analyses of infected and transgenic plants

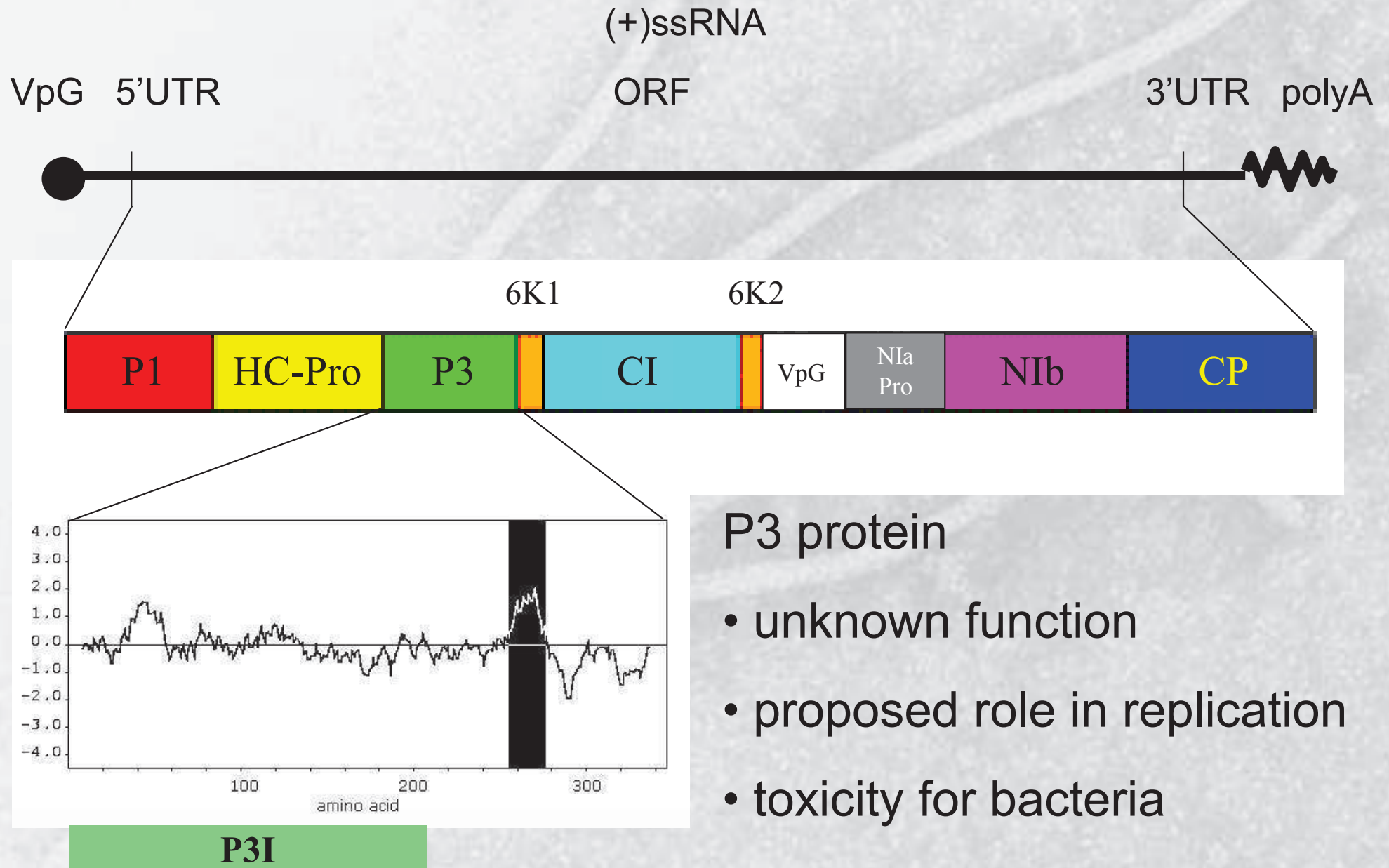
S. Nováková, E. Kollerová, Z.W. Šubr



Institute of Virology
Slovak Academy of Sciences
Bratislava
Slovakia

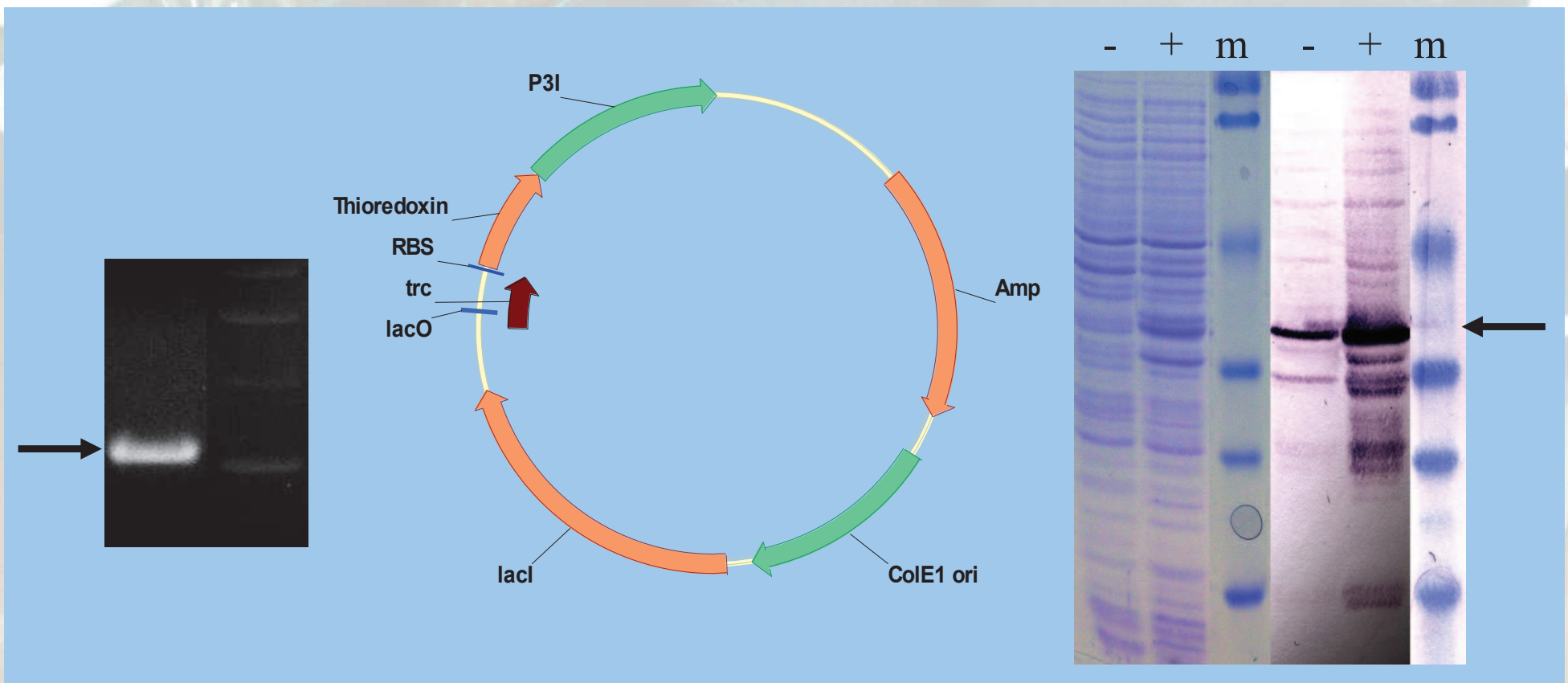


Scheme of the potyviral genome

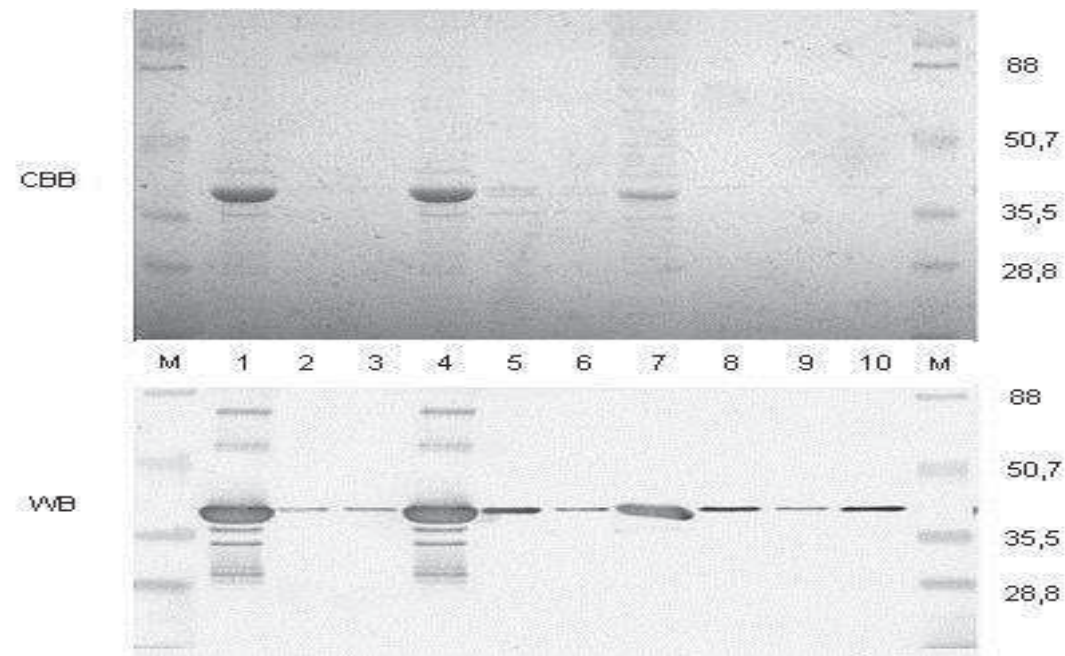
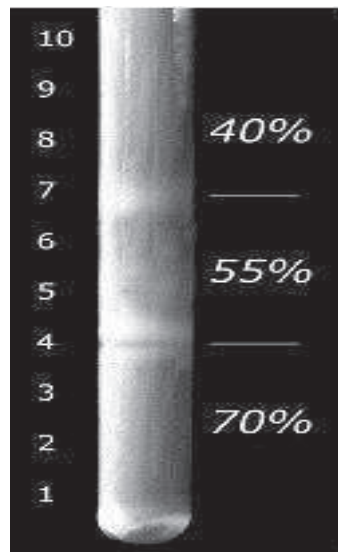


P3I cloning and expression

amplified P3I was cloned in procaryotic expression vector pThioHis (N-fusion with thioredoxin) and overproduced in *E. coli*



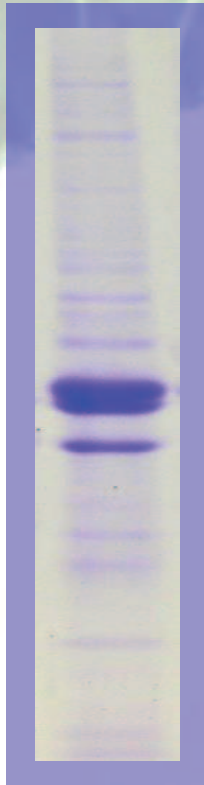
Purification of fusion protein inclusions



- ultracentrifugation in discontinuous sucrose gradient

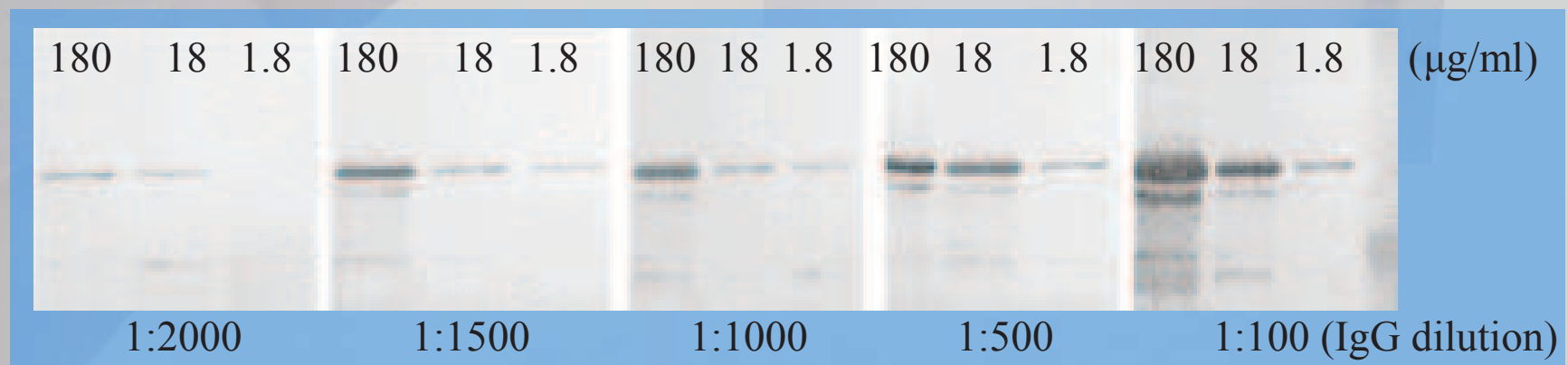
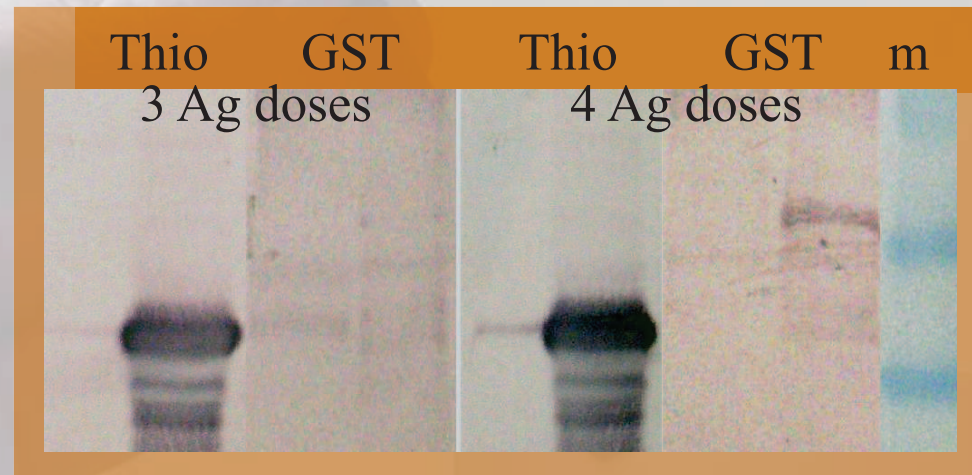
Immunization

- antigen from the preparative SDS-PAGE
- injected subcutaneously together with polyacrylamide
- four 250 μ g doses (1. / 7. / 42. / 130. day)



Antiserum specificity and sensitivity

- cross-reactivity control with P3I fused with GST
- specificity arose after late immunization dose
- IgG purification (ammonium sulfate / DEAE)



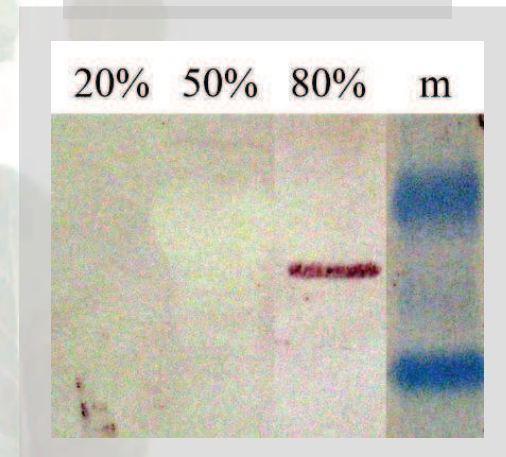
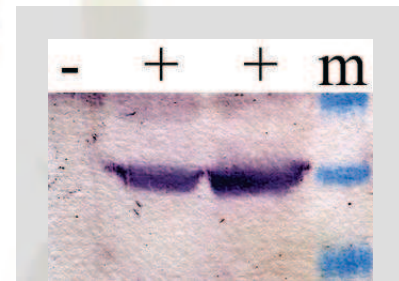
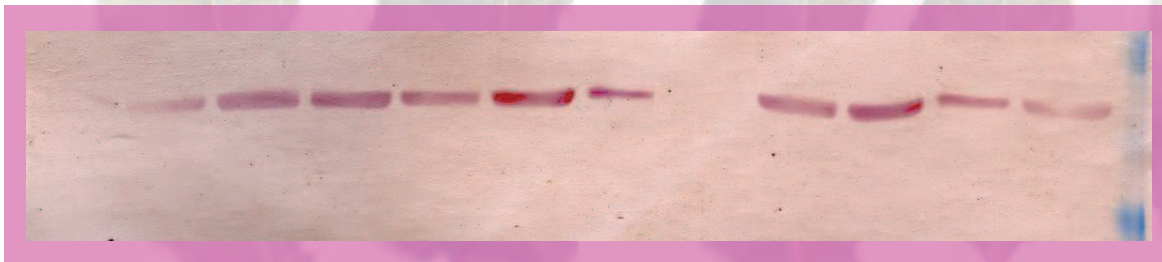
P3 immunodetection *in planta*

P3 transgenic plants

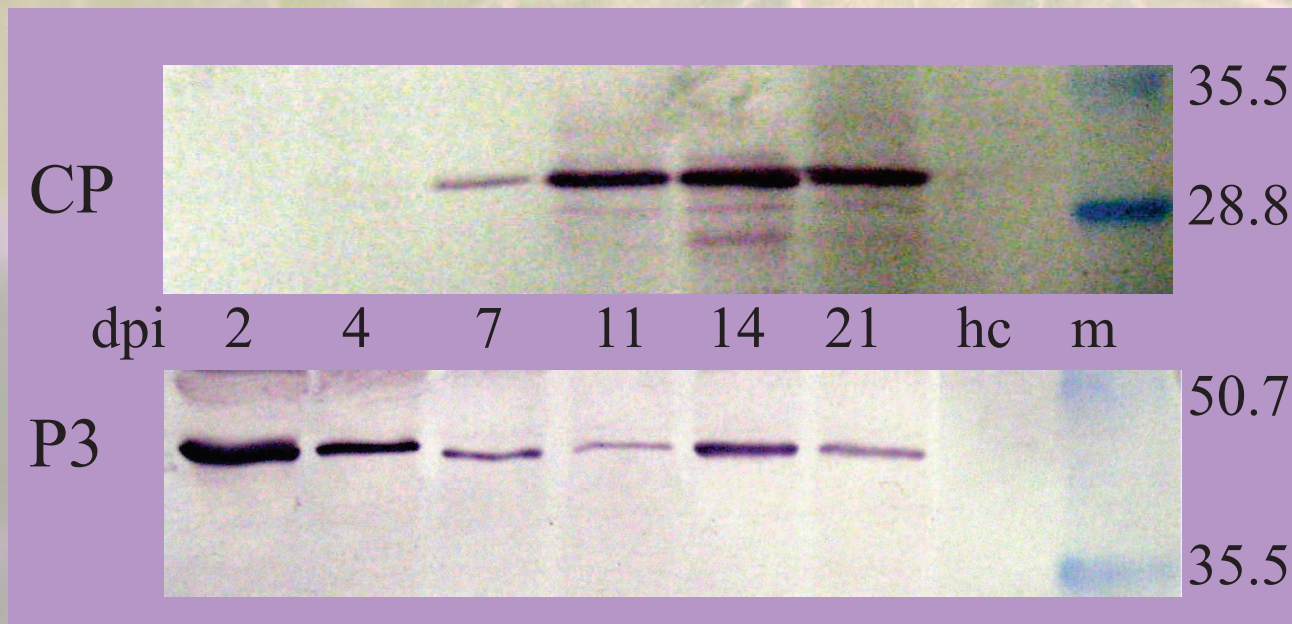
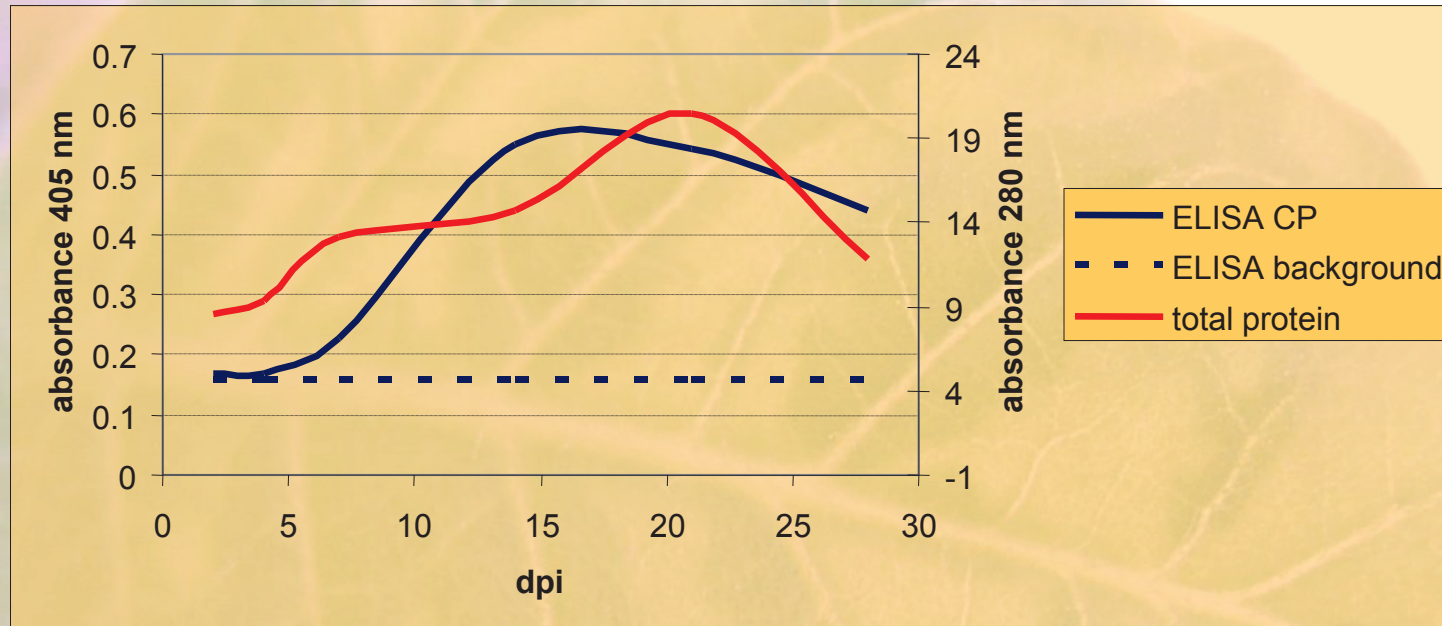
- weak immunoblot signal – sample concentration required



- centrifugal filtration (MWC 10 000)
- ammonium sulfate precipitation



P3 in the course of PVA infection



Summary

done

- preparation of specific PVA P3 antibody
- optimizing of plant sample preparation
- P3 detected in early infection stages

perspective

- detailed P3 kinetic studies
- localization of P3 in plant cells
 - fractionated extract analysis
 - electron microscopy

The authors



wish to thank

to Dr. J. Klaudiny for the help with immunizations
and
to the auditory for the attention





KBB/POS2 – Pokročilý seminář 2

„Propojení výuky oborů Molekulární a buněčné biologie a
Ochrany a tvorby životního prostředí“

reg. č.: CZ.1.07/2.2.00/28.0032

Klonování Eps1A^m genu u *Triticum monococcum*

Na UC Davis, Kalifornie 2004-2007

Miroslav Valárik

Centre of the Region Haná for Biotechnological and Agricultural Research
Centre of Plant Structural and Functional Genomics
Institute of Experimental Botany AS CR
Olomouc, Czech Republic



Soutěž o postgraduální fellowship na UC Davis prof. Jorge Dubcovsky

Původně Projekt zaměřený na mutace u pšenice: Dva uchazeči Já a Dr. D. Fu

Soutěž vypracování rešerše na téma LFY genu a identifikace možných ortologů a paralogů.

Vítěz dr. Fu

Na štěstí pro mně

Štěstí přeje připraveným

Nabídka na jiný projekt.

Klonování genu ovlivňujícího kvetení u pšenice.

Identifikace fenotypu a mapování fenotypu

POZIČNÍ KLONOVÁNÍ TERMO SENSITÍVNIHO GENU *EpsA^{m1}*

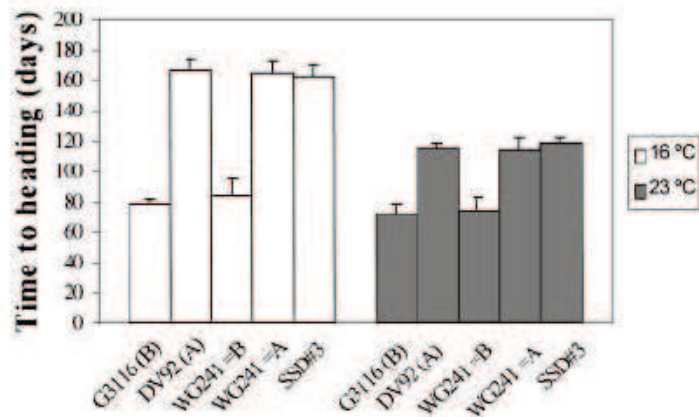
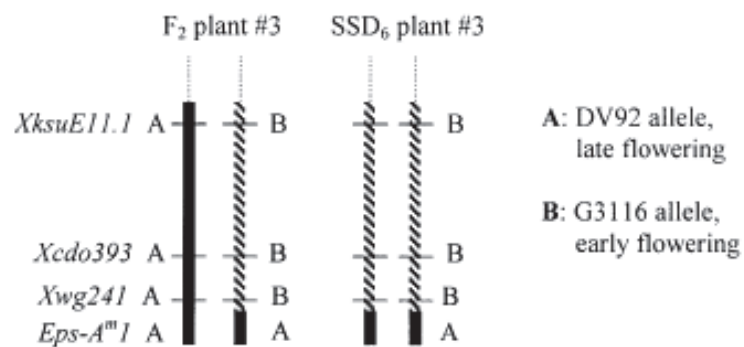
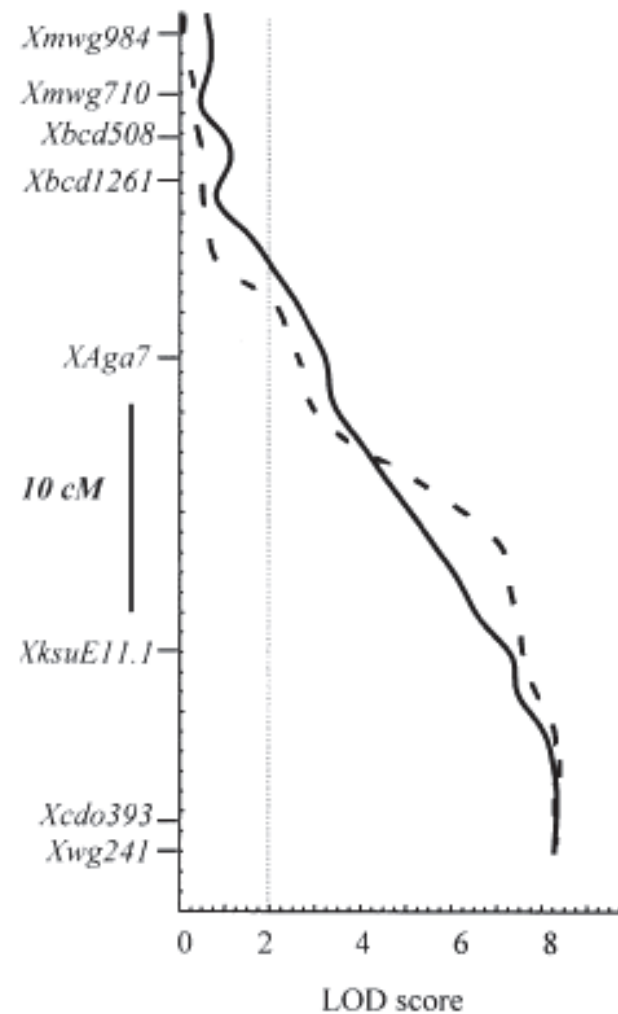


Fig. 3 Average heading dates of F_6 SSD lines grown under 16 °C (white bars) and 23 °C (gray bars). From left to right the genotypes are: 1 Parental line G3116; 2 Parental line DV92; 3 SSD lines carrying the G3116 (B) allele at RFLP locus *Xwg241*; 4 SSD lines carrying the DV92 allele at RFLP locus *Xwg241*; 5 SSD line#3

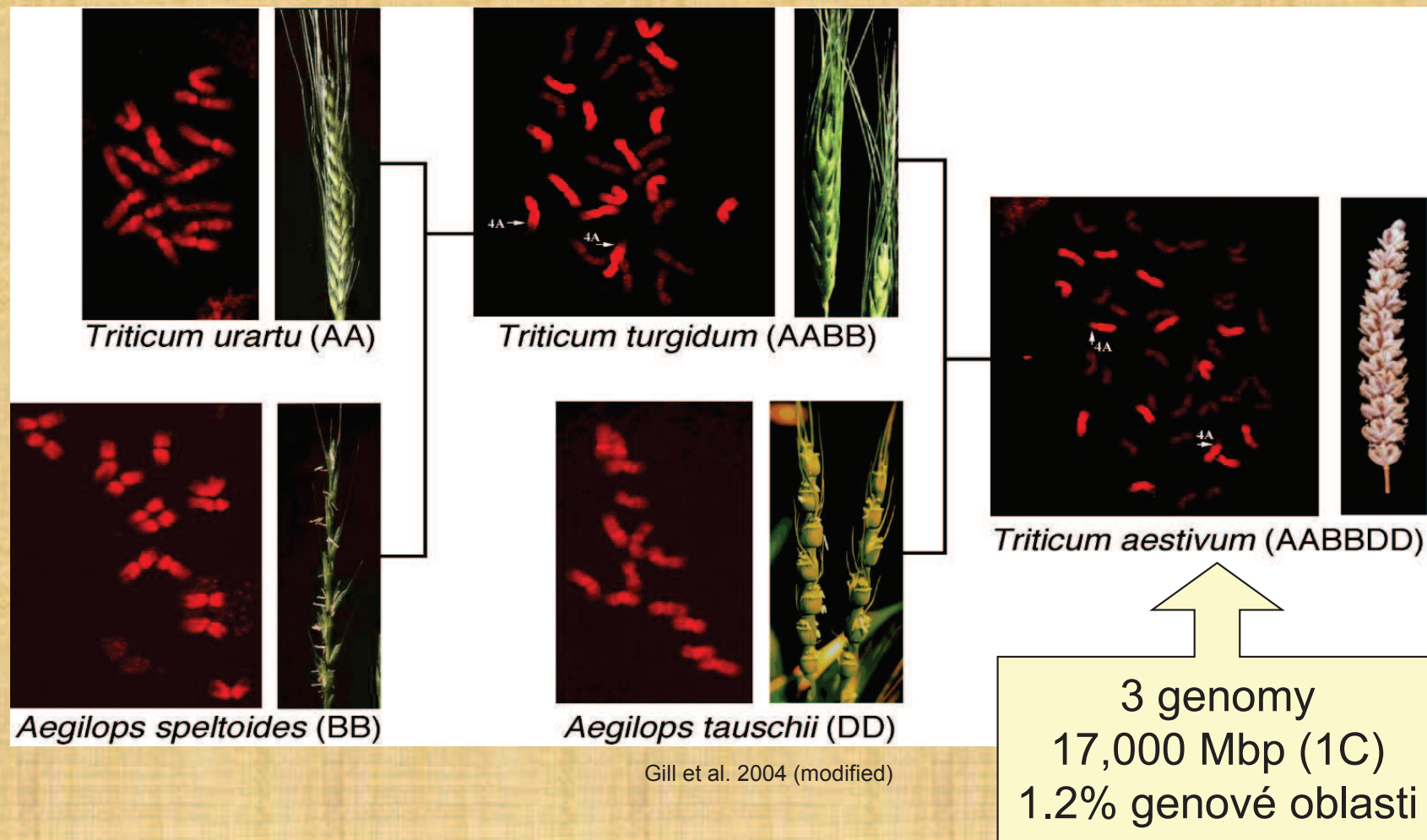


Chromosome 1AL



Genom pšenice

- Alohexaploidní druh ($2n = 6x = 42$)
- Je výsledkem dvou nezávislých hybridizací

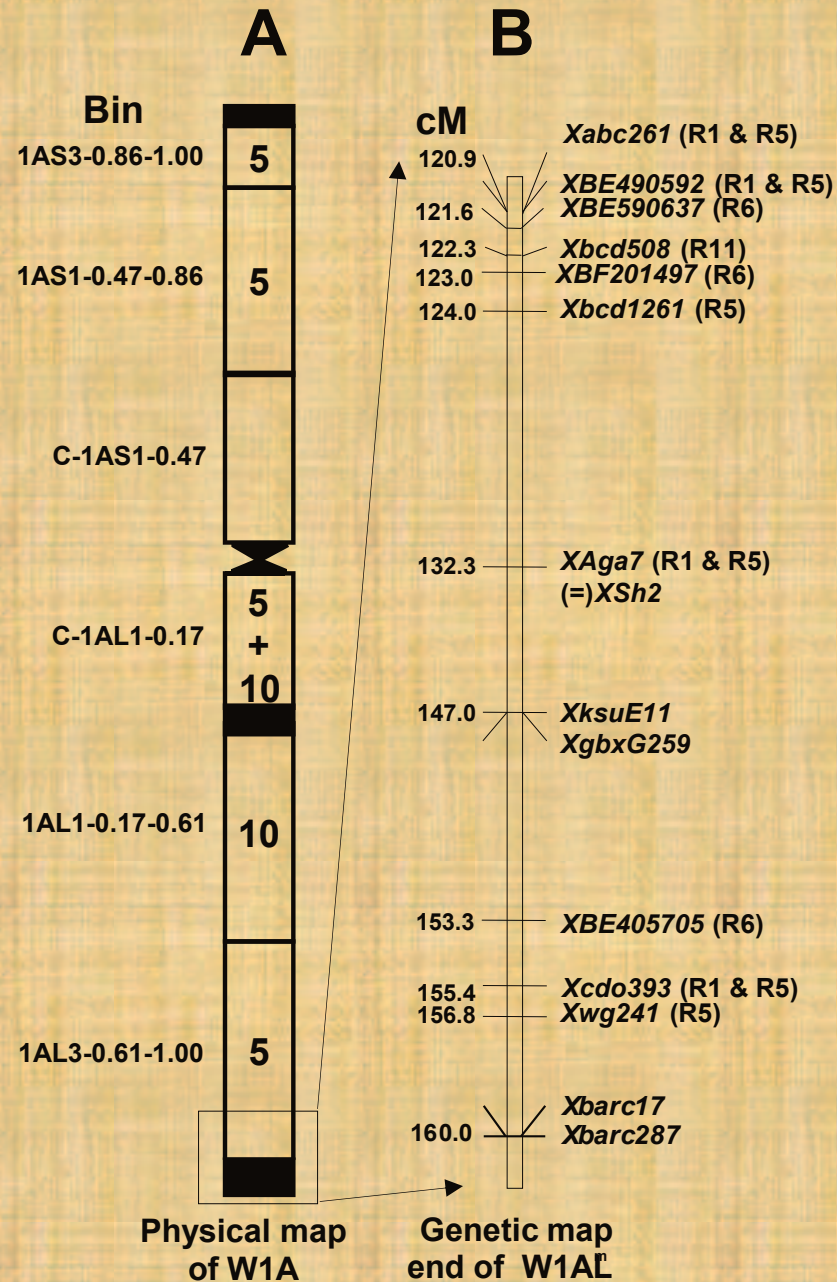


Poziční klonování

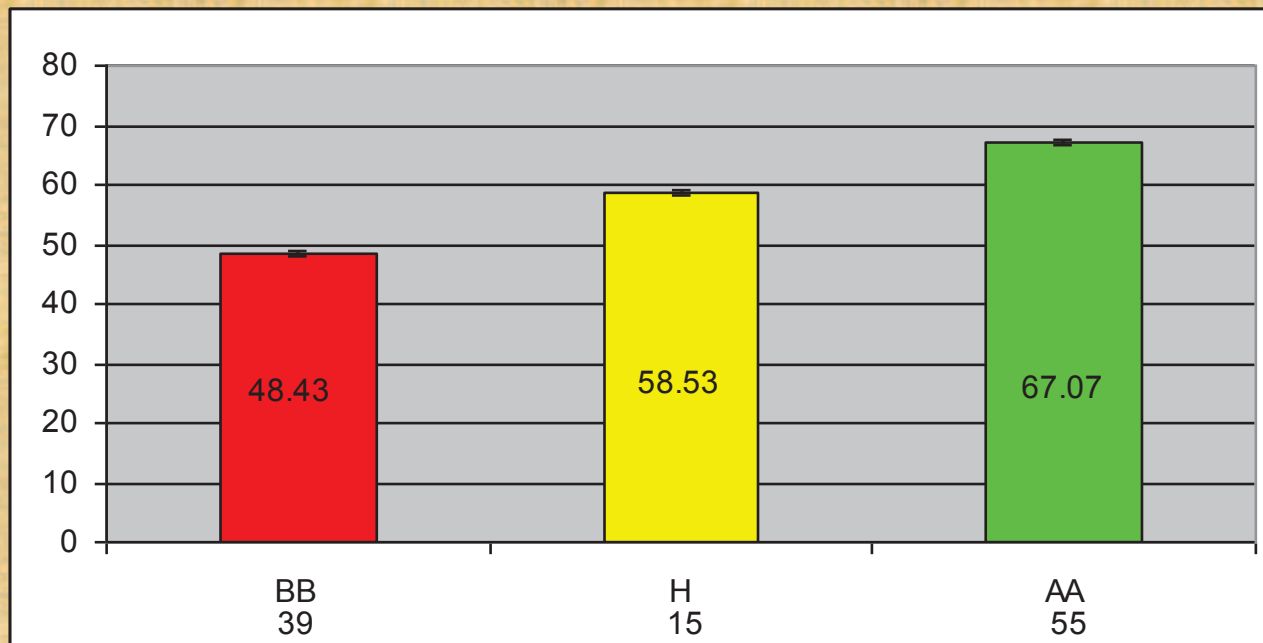
Opět trocha čísel na úvod:

1. Klonování jednoho genu u genomů bez znalosti sekvence trvá 4-10 let
2. Vyžaduje mapovací populace s dostatečným rozlišením, cca 3-20 tis. Linií, ideálně aspoň jedna rekombinace mezi všemi geny v oblasti
3. Odvození jednoho markeru trvá týden až tři měsíce
4. knihovny dlouhých inzertů (+- 60 tis. klonů) stojí 30-35 tis. Euro, genomová knihovna pšenice s 6x pokrytím ~ 1,2 mil. klonů

Konstrukce genetické mapy a identifikace hraničních markerů

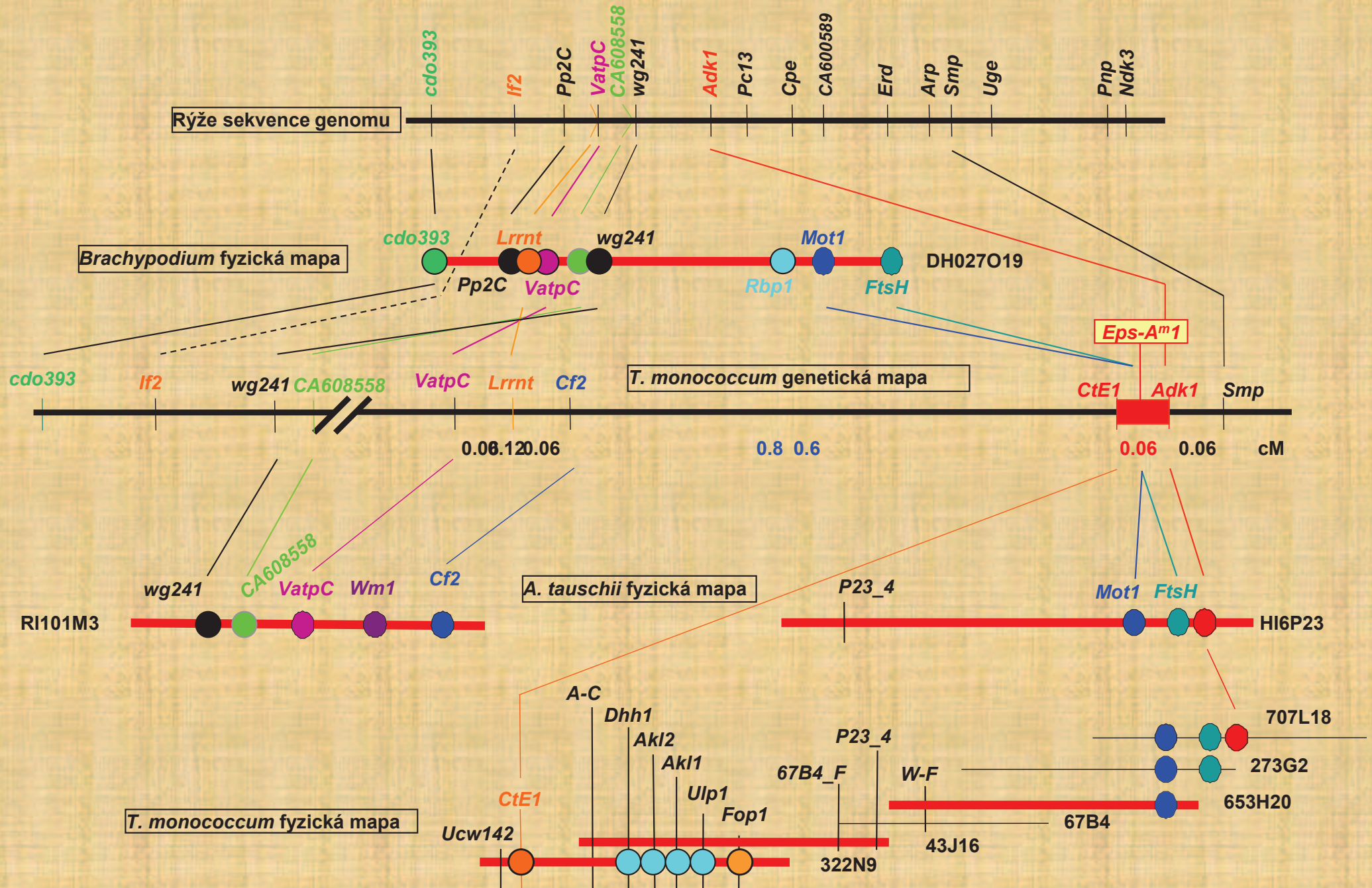


FENOTYP EpsAm1 GENU



Konstrukce fyzické mapy

využití BAC knihoven DNA z příbuzných druhů a identifikace kandidátních genů



UC Davis CA



Konečně konec



KBB/POS2 – Pokročilý oborový seminář 2

„Propojení výuky oborů Molekulární a buněčné biologie a Ochrany
a tvorby životního prostředí“

reg. č.: CZ.1.07/2.2.00/28.0032

Výzkumná stáž na Universidad de Córdoba



Anna Chmelařová

9/2013 – 12/2013



UNIVERSIDAD DE CORDOBA

Jak to všechno začalo?

Studentská vědecká soutěž o „cenu děkana“ 2012

Předem je nutné připravit:

- Soutěžní práci (max. 20 stran, ideálně publikační forma)
- Soutěžní prezentaci

Jak to všechno začalo?

Studentská vědecká soutěž o „cenu děkana“ 2012

Předem je nutné připravit:

- Soutěžní práci (max. 20 stran, ideálně publikační forma)
- Soutěžní prezentaci

Co může přinést:

- Trénink na obhajoby, podnětné diskuze
- Zajímavé ceny

Jak to všechno začalo?

Studentská vědecká soutěž o „cenu děkana“ 2012

Předem je nutné připravit:

- Soutěžní práci (max. 20 stran, ideálně publikační forma)
- Soutěžní prezentaci

Co vám může přinést:

- Trénink na obhajoby, podnětné diskuze
- Zajímavé ceny



Jak to všechno začalo?

Studentská vědecká soutěž o „cenu děkana“ 2012

Předem je nutné připravit:

- Soutěžní práci (max. 20 stran, ideálně publikační forma)
- Soutěžní prezentaci

Co vám může přinést:

- Trénink na obhajoby, podnětné diskuze
- Zajímavé ceny

Informace o soutěži:

<http://svoc.prf.upol.cz/>

Termín: 15.5.2015

Uzávěrka přihlášek: 30.4.2015

Hurá! Pojedu na stáž!

Ale kam?

Téma pracovní stáže provázané s disertací

Riverside
California



Aberystwyth
Great Britain



Córdoba
Spain



→ prohloubení mezilaboratorních vztahů, zdokonalení
v metodách a získání znalostí o klasickém šlechtění

Papírování, zařizování před odletem, balení, panika

Jaké dokumenty musím vyřídit?

Co tam budu dělat?

Jaké články si mám přečíst?

Kde to vlastně je?

Jak se tam cestuje?

Jaké tam bude počasí?

Co potřebuju na přežití 13 týdnů
v cizí zemi?

Slivovici nebo becherovku?

Mám vzít něco rodinně?

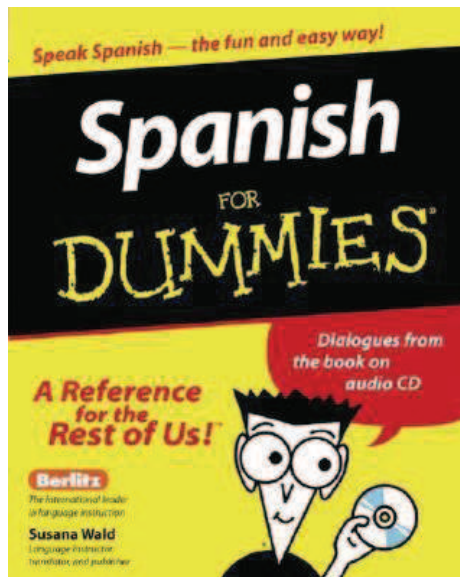


On the Road



Jazyková bariéra aneb do Španělska bez španělštiny

- Anglicky to v Andalusii nezkoušejte
- Slovníček, tužka a papír - kamarádi k nezaplacení
- Jde to i beze slov 😊



Bydlení

Výběr ubytování

- Koleje
- Studentský byt
- Dům s rodinou a hospodyní

Co je dobré vědět předem:

- Na jihu Španělska často nemají topení ☹️



Výzkum

Materiál:

- Linie s chromozomy *Agropyron cristatum* v genetickém pozadí *Triticum durum*

Metody:

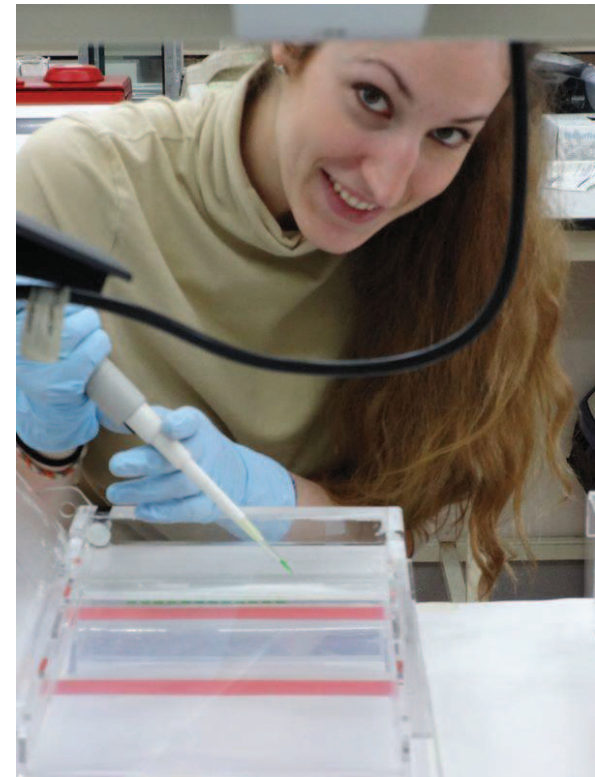
- Cytometrický, molekulární a cytologický screening rostlin



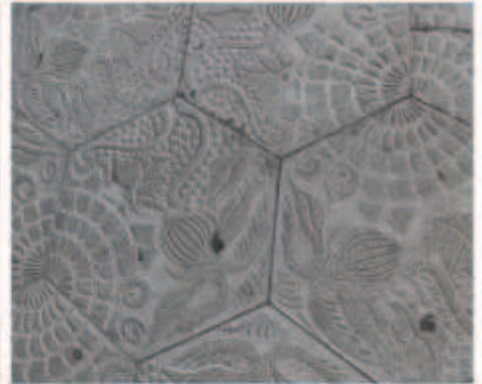
Laboratoře



Kolegové z různých zemí



Město tří kultur

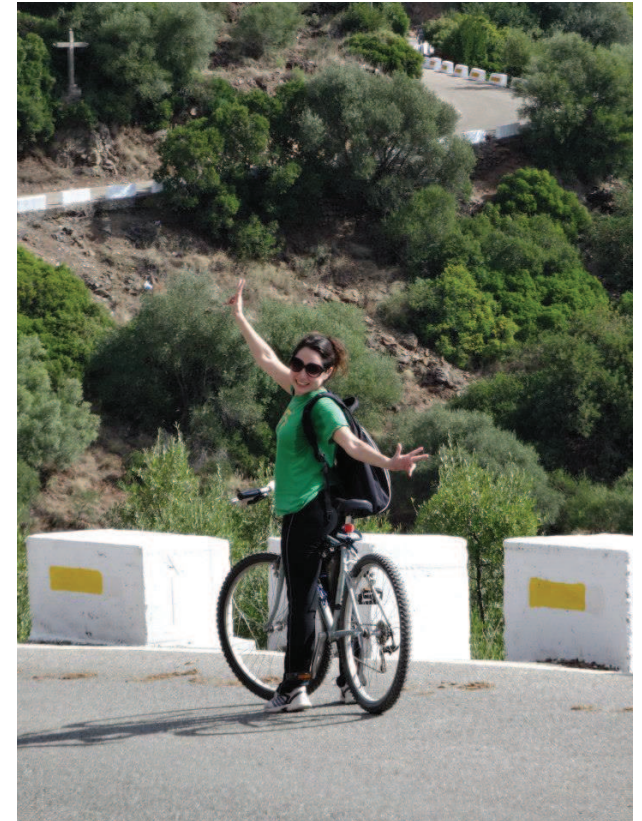


Mezquita de Córdoba



Volný čas

- Kolo je základ
- Výlety do okolí
- Flamenco
- Pizza a jiné party



Cestování po Andalusii

- 6 dní s přítelem a autem z půjčovny
- Ronda, Marbella, Nerja, Málaga, Granada



Cestování po Andalusii

- 6 dní s přítelem a autem z půjčovny
- Ronda, Marbella, Nerja, Málaga, Granada



Loučení

- 😊 Těším se domů
- ☹️ Uvidím je ještě?



Co mi stáží dala

- Znalosti o šlechtění rostlin
- Výsledky pro odborný článek
- Přátele a „rodinu“ na celý život
- Důvěru v sebe sama
- Změnu hodnotového řebříčku
- Andaluský pohled na svět 😊





Děkuji za pozornost