



Středoškolská technika 2012

Setkání a prezentace prací středoškolských studentů na ČVUT

Čárový kód života aneb molekulární markery a jejich možná využití pro DNA Barcoding a fylogenetické studie

Do Hoang Diep

Gymnázium pod Svatou Horou
Balbínova 328, Příbram

Druhá identifikace na základě morfologických znaků nemusí být v dnešní době dostačující, a proto se tedy pátrá po jiných sofistikovanějších metodách.

DNA Barcoding je klíč k levné, snadné a poměrně rychlé identifikaci organismů. Celý princip spočívá ve čtení jen krátkých standardizovaných úseků, schopných od sebe odlišit organismy na úroveň daných taxonomických jednotek, a proto tedy není nutné číst celý genom.

Cílem projektu bylo ověření univerzality navržených markerů pro DNA Barcoding (v této práci regiony *rpoC1*, *rpoB* geny a *psbA-trnH*, *psbK-psbI* a *atpH-atpF* intergenové spacery), a to aplikací napříč taxony čeledi *Juncaceae*, a také i jejich případné využití pro fylogenetické studie.

Pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) byly vybrané úseky amplifikovány (množeny). Vizualizací elektroforézou a UV transluminátorem byla zjišťována úspěšnost amplifikace jednotlivých vzorků. Pro neproblematické sekvenování bylo zapotřebí získat velké množství kvalitního PCR produktu, vybírány byly tedy pouze vzorky s dostatečným množstvím namnožených úseků DNA. Seřazení získaných sekvencí dle jejich homologie bylo prováděno v programu BioEdit do podoby, kterou požadují programy pro konstrukci fylogramů.

Z některých získaných sekvencí (117 *rpoC1* genu a 69 *psbA-trnH* intergenového spaceru) byly sestaveny fylogenetické stromy, a to metodami maximum parsimony a neighbour-joining. Univerzalita markerů je také viditelná na úspěšnosti PCR, která dosahovala u *rpoC1* 85% a u *psbA-trnH* 72%, dohromady tedy 82%, což je velmi vysoká hodnota univerzality i v porovnání s ostatními navrhovanými úseky. Vzniklý fylogram *rpoC1* genu vykazuje určitou polytomii, ale jeho rozlišovací schopnost je dostatečná pro rodovou úroveň. *PsbA-trnH* intergenový spacer je navíc schopen rozlišit taxony až na úroveň druhů. Přehledně-li složitost alignmentu *psbA-trnH*, jsou oba tyto úseky (zvláště jejich kombinace) pro DNA Barcoding a fylogenetické studie vhodné.