



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



Reg. č. projektu: CZ.02.2.69/0.0/0.0/16_015/0002362



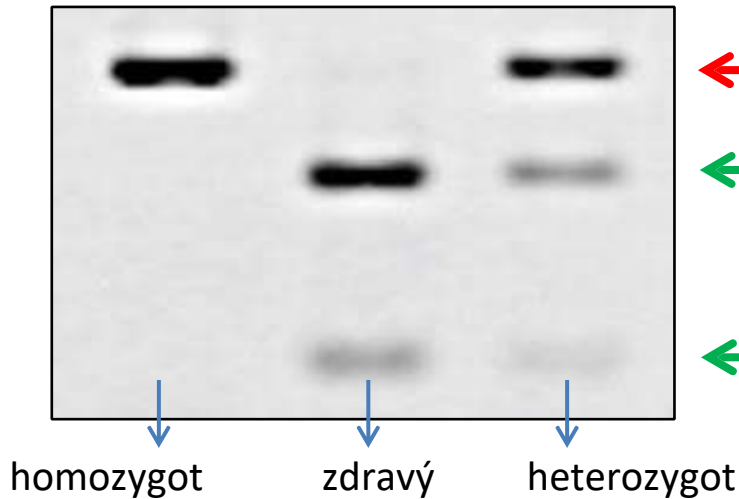
Toto dílo podléhá licenci Creative Commons licenci 4.0 Mezinárodní Licence

Autor: kolektiv autorů pod vedením prof. MUDr. Petra Zacha, CSc. z Ústavu Anatomie 3. LF UK

Vyhodnocení výsledků analýzy HFE genu

Detekce mutace H63D

- Analýza: Obecná PCR + následná analýza PCR produktu pomocí RFLP + gelové elektroforézy
- PCR: primery v PCR reakci se váží do **blízkosti** sekvence, která nás zajímá (místo možné mutace), **nikdy** však **přímo** do místa našeho zájmu → je zapotřebí další (následné) analýzy
- RFLP: štěpení PCR produktu restriční endonukleázou přímo ve zkoumané sekvenci
- Restriční enzym BclI – restriční místo (TGATCA) přítomností mutace zaniká (mutace = bez štěpení)



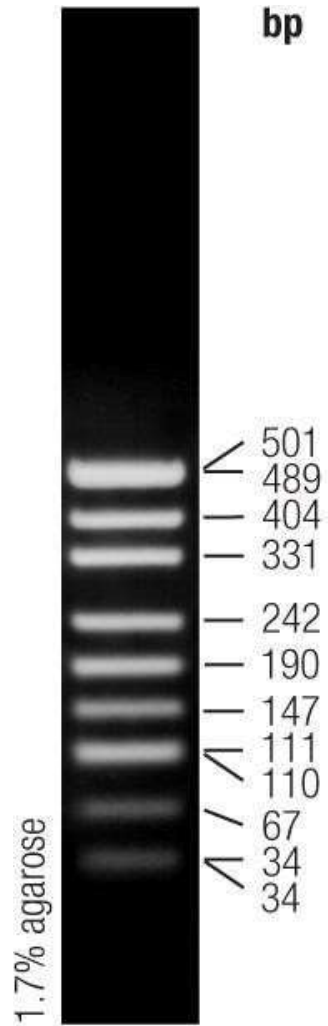
- Celý PCR produkt (bez štěpení, 208 bp) = homozygot s mutací
- Štěpený PCR produkt (138 bp + 70 bp) = zdravý homozygot
- Celý PCR produkt v kombinaci se štěpeným PCR produktem (208 bp + 138 bp + 70 bp) = heterozygot Celý PCR produkt (208 bp)

Štěpený PCR produkt (první fragment: 138 bp)

Štěpený PCR produkt (druhý fragment: 70 bp)

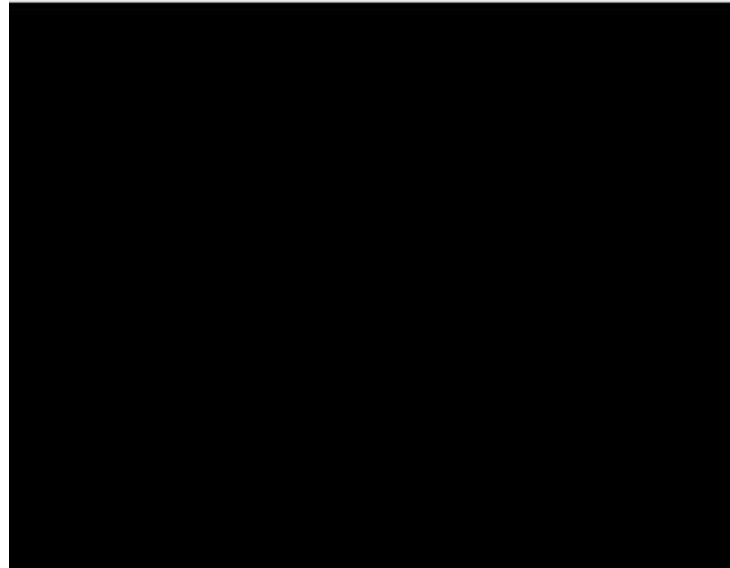
s mutací homozygot

Marker molekulových hmotností použitý při gelové elektroforéze



Thermo

SCIENTIFIC



A1 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza

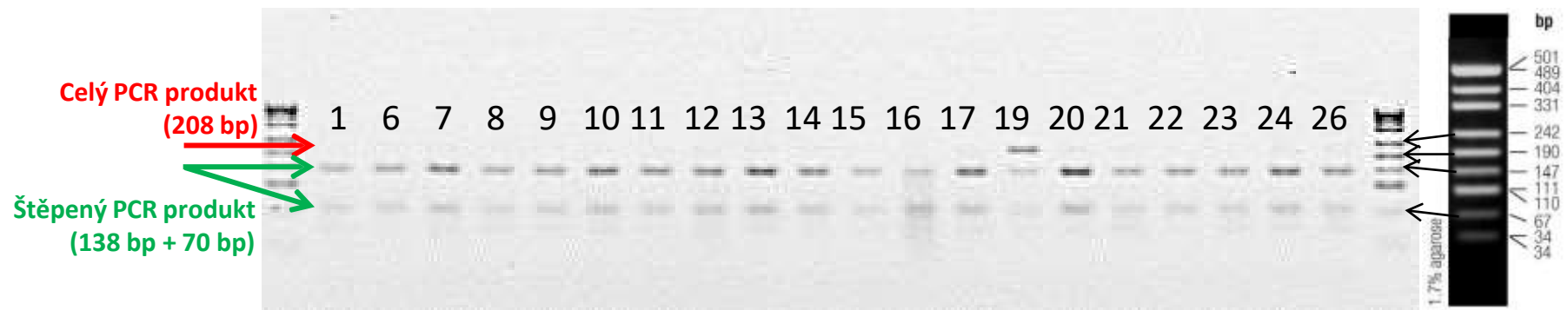
PCR: Amplifikace části HFE genu o délce 208 bp

RFLP: Restrikční enzym BclI – místo štěpení mutací zaniká (mutace = bez štěpení)

- Celý PCR produkt (bez štěpení, 208 bp) = homozygot s mutací
- Štěpený PCR produkt (138 bp + 70 bp) = zdravý homozygot
- Celý PCR produkt v kombinaci se štěpeným PCR produktem (208 bp + 138 bp + 70 bp) = heterozygot

A2 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza



Na základě vašich výsledků vypadá váš genotyp jako:

- **zdravý homozygot** – všichni, krom níže uvedených

A3 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza

- heterozygot? – 19

Případné dodatečné bandy o nesespecifické velikosti jsou kontaminace či nespotřebované chemikálie

PCR: Amplifikace části HFE genu o délce 208 bp

RFLP: Restrikční enzym BclI – místo štěpení mutací zaniká (mutace = bez štěpení)

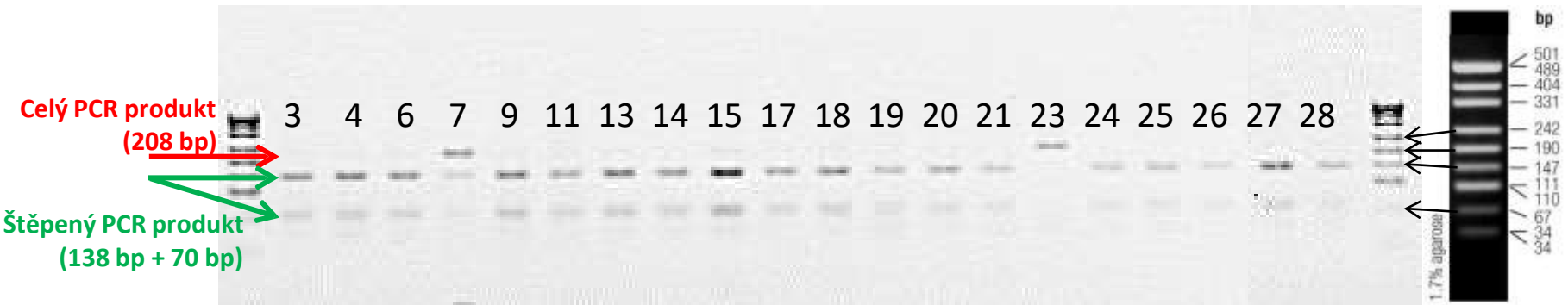
□ Celý PCR produkt (bez štěpení, 208 bp) = homozygot s mutací

□ Štěpený PCR produkt (138 bp + 70 bp) = zdravý homozygot

□ Celý PCR produkt v kombinaci se štěpeným PCR produktem (208 bp + 138 bp + 70 bp) = heterozygot

A4 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza



Na základě vašich výsledků vypadá váš genotyp jako:

A5 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza

- **zdravý homozygot** – všichni, krom níže uvedených
- **heterozygot?** – 7
- **homozygot s mutací?** – 23

Případné dodatečné bandy o nesespecifické velikosti jsou kontaminace či nespotřebované chemikálie

PCR: Amplifikace části HFE genu o délce 208 bp

RFLP: Restrikční enzym BclI – místo štěpení mutací zaniká (mutace = bez štěpení)

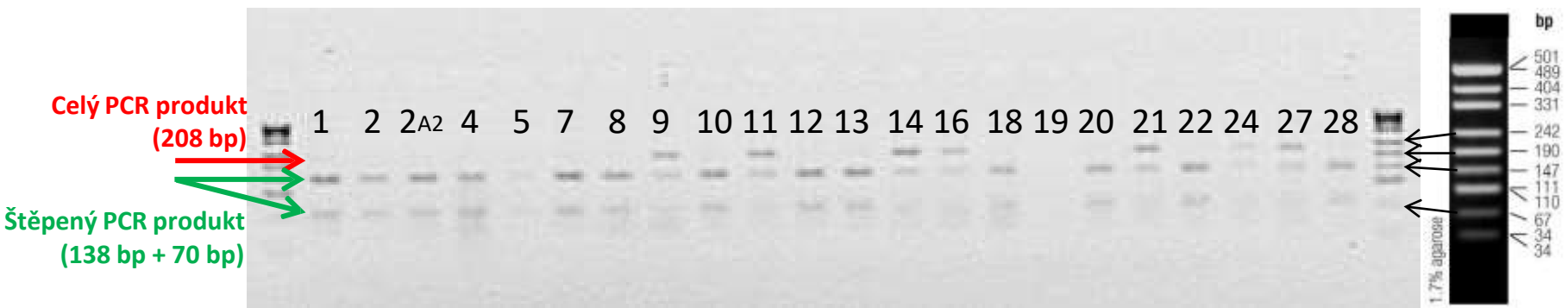
□ Celý PCR produkt (bez štěpení, 208 bp) = homozygot s mutací

□ Štěpený PCR produkt (138 bp + 70 bp) = zdravý homozygot

□ Celý PCR produkt v kombinaci se štěpeným PCR produktem (208 bp + 138 bp + 70 bp) = heterozygot

A6 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza



Na základě vašich výsledků vypadá váš genotyp jako:

A7 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza

- **zdravý homozygot** – všichni, krom níže uvedených
- **heterozygot?** – 9, 11, 14, 16, 21, 24, 27
- **?** – 5 (asi zdravý homozygot)
- **⊖** – 19

Případné dodatečné bandy o nesespecifické velikosti jsou kontaminace či nespotřebované chemikálie

A8 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza

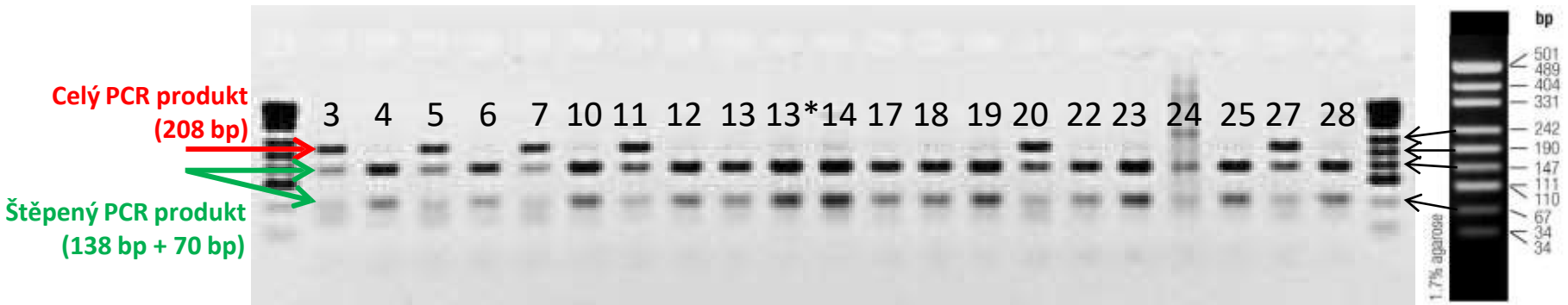
PCR: Amplifikace části HFE genu o délce 208 bp

RFLP: Restrikční enzym BclI – místo štěpení mutací zaniká (mutace = bez štěpení)

□ Celý PCR produkt (bez štěpení, 208 bp) = homozygot s mutací

□ Štěpený PCR produkt (138 bp + 70 bp) = zdravý homozygot

□ Celý PCR produkt v kombinaci se štěpeným PCR produktem (208 bp + 138 bp + 70 bp) = heterozygot



A9 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza

Na základě vašich výsledků vypadá váš genotyp jako:

- **zdravý homozygot** – všichni, krom níže uvedených (slabé bandy ve velikosti 208 bp jsou pouze
- **heterozygot?** – 3, 5, 7, 11, 20, 27
- **?** – 24 (zdravý homozygot s kontaminací)

Případné dodatečné bandy o nesespecifické velikosti jsou kontaminace či nespoteřbované chemikálie

PCR: Amplifikace části HFE genu o délce 208 bp

RFLP: Restrikční enzym BclI – místo štěpení mutací zaniká (mutace = bez štěpení)

□ Celý PCR produkt (bez štěpení, 208 bp) = homozygot s mutací

□ Štěpený PCR produkt (138 bp + 70 bp) = zdravý homozygot

□ Celý PCR produkt v kombinaci se štěpeným PCR produktem (208 bp + 138 bp + 70 bp) = heterozygot

nedoštěpené PCR produkty)

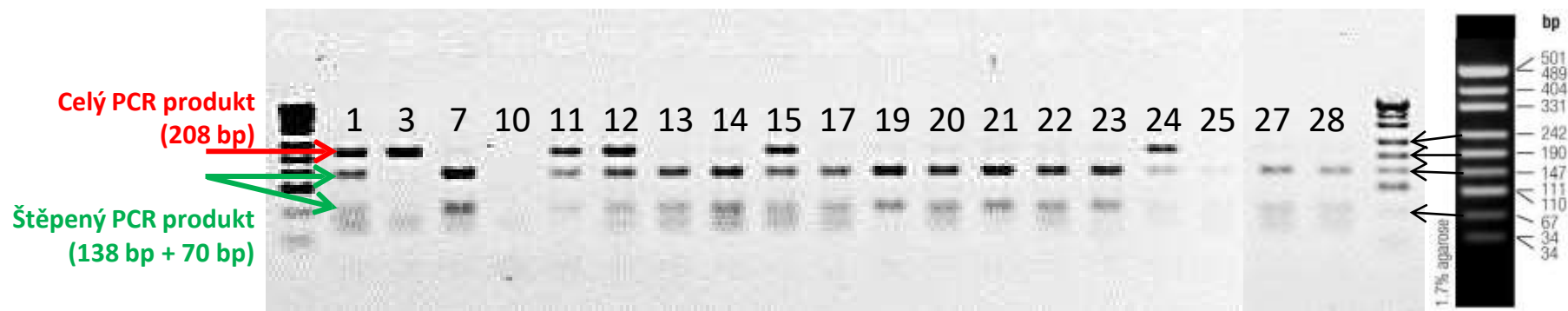
A10 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza

Na základě vašich výsledků vypadá váš genotyp jako:

- **zdravý homozygot** – všichni, krom níže uvedených (slabé bandy ve velikosti 208 bp jsou pouze
- **heterozygot?** – 1, 11, 12, 15, 24
- **homozygot s mutací?** – 3
- ☹ – 10

Případné dodatečné bandy o nespécifické velikosti jsou kontaminace či nespótřebované chemikálie



PCR: Amplifikace části HFE genu o délce 208 bp

nedoštěpené PCR produkty)

A11 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza

RFLP: Restriční enzym BclI – místo štěpení mutací zaniká (mutace = bez štěpení)

- Celý PCR produkt (bez štěpení, 208 bp) = homozygot s mutací
- Štěpený PCR produkt (138 bp + 70 bp) = zdravý homozygot
- Celý PCR produkt v kombinaci se štěpeným PCR produktem (208 bp + 138 bp + 70 bp) = heterozygot



nedoštěpené PCR produkty)

A12 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza

Na základě vašich výsledků vypadá váš genotyp jako:

- **zdravý homozygot** – všichni, krom níže uvedených (slabé bandy ve velikosti 208 bp jsou pouze
- **heterozygot?** – 2, 6, 19, 23, 24

Případné dodatečné bandy o nesespecifické velikosti jsou kontaminace či nespotřebované chemikálie

PCR: Amplifikace části HFE genu o délce 208 bp

RFLP: Restrikční enzym BclI – místo štěpení mutací zaniká (mutace = bez štěpení)

□ Celý PCR produkt (bez štěpení, 208 bp) = homozygot s mutací

□ Štěpený PCR produkt (138 bp + 70 bp) = zdravý homozygot

□ Celý PCR produkt v kombinaci se štěpeným PCR produktem (208 bp + 138 bp + 70 bp) = heterozygot

nedoštěpené PCR produkty)

A13 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza



Na základě vašich výsledků vypadá váš genotyp jako:

nedoštěpené PCR produkty)

A14 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza

- **zdravý homozygot** – všichni, krom níže uvedených (slabé bandy ve velikosti 208 bp jsou pouze
- **heterozygot?** – 3, 6, 7, 12, 15, 19

Případné dodatečné bandy o nespécifické velikosti jsou kontaminace či nespótřebaované chemikálie

nedoštěpené PCR produkty)

A15 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza

PCR: Amplifikace části HFE genu o délce 208 bp

RFLP: Restrikční enzym BclI – místo štěpení mutací zaniká (mutace = bez štěpení)

□ Celý PCR produkt (bez štěpení, 208 bp) = homozygot s mutací

□ Štěpený PCR produkt (138 bp + 70 bp) = zdravý homozygot

□ Celý PCR produkt v kombinaci se štěpeným PCR produktem (208 bp + 138 bp + 70 bp) = heterozygot



Na základě vašich výsledků vypadá váš genotyp jako:

- **zdravý homozygot** – všichni, krom níže uvedených

A16 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza

- heterozygot? – 7, 16, 24, 29
- homozygot s mutací? – 17
- ? – 8* (asi zdravý homozygot)
- ☹ – 19

Případné dodatečné bandy o nesespecifické velikosti jsou kontaminace či nespotřebované chemikálie

PCR: Amplifikace části HFE genu o délce 208 bp

RFLP: Restrikční enzym BclI – místo štěpení mutací zaniká (mutace = bez štěpení)

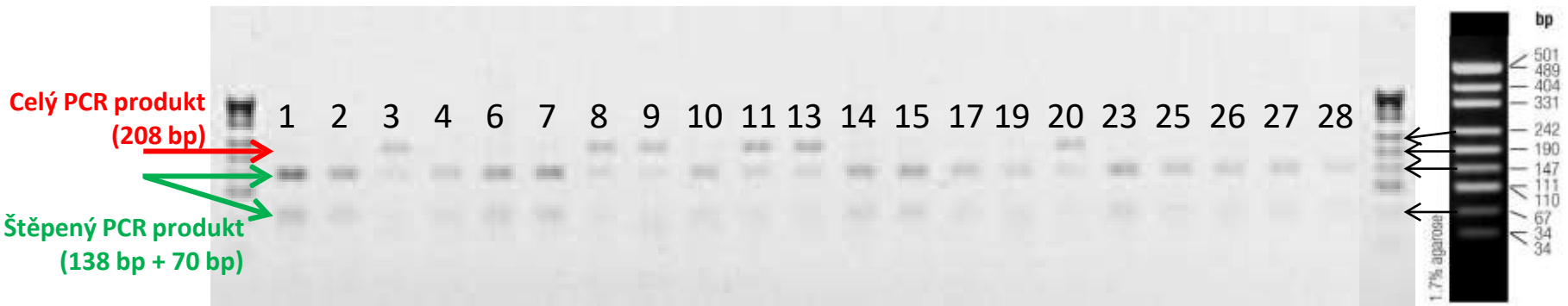
▣ Celý PCR produkt (bez štěpení, 208 bp) = homozygot s mutací

▣ Štěpený PCR produkt (138 bp + 70 bp) = zdravý homozygot

▣ Celý PCR produkt v kombinaci se štěpeným PCR produktem (208 bp + 138 bp + 70 bp) = heterozygot

A17 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza



Na základě vašich výsledků vypadá váš genotyp jako:

A18 – Analýza mutace H63D podmiňující hemochromatózu (HFE gen)

Analýza: PCR s obecnými primery následována RFLP analýzou + gelová elektroforéza

- **zdravý homozygot** – všichni, krom níže uvedených
- **heterozygot?** – 3, 8, 9, 11, 13, 20

Případné dodatečné bandy o nesespecifické velikosti jsou kontaminace či nespotřebované chemikálie