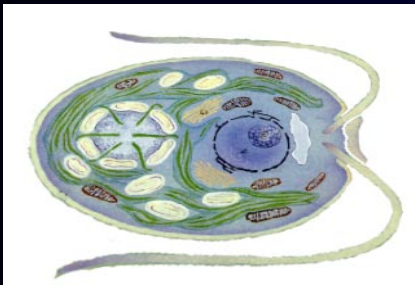
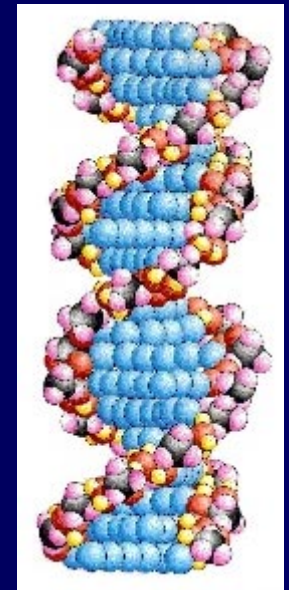


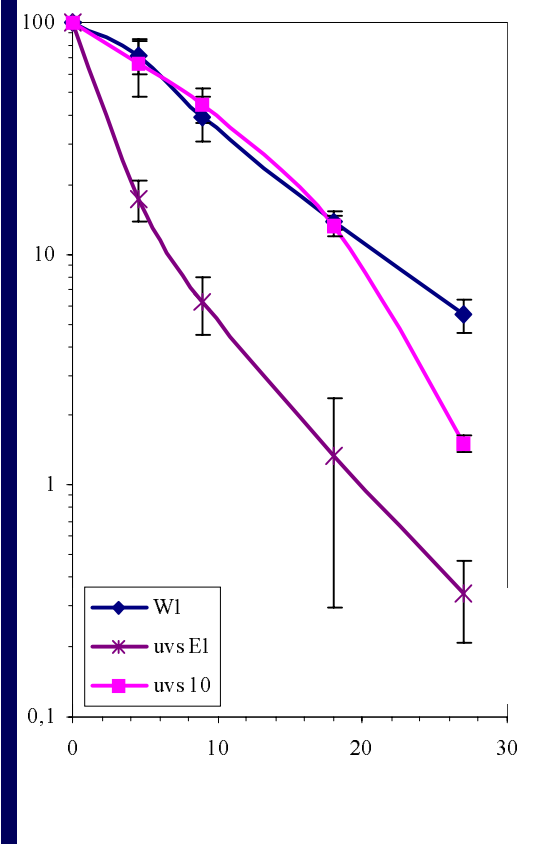
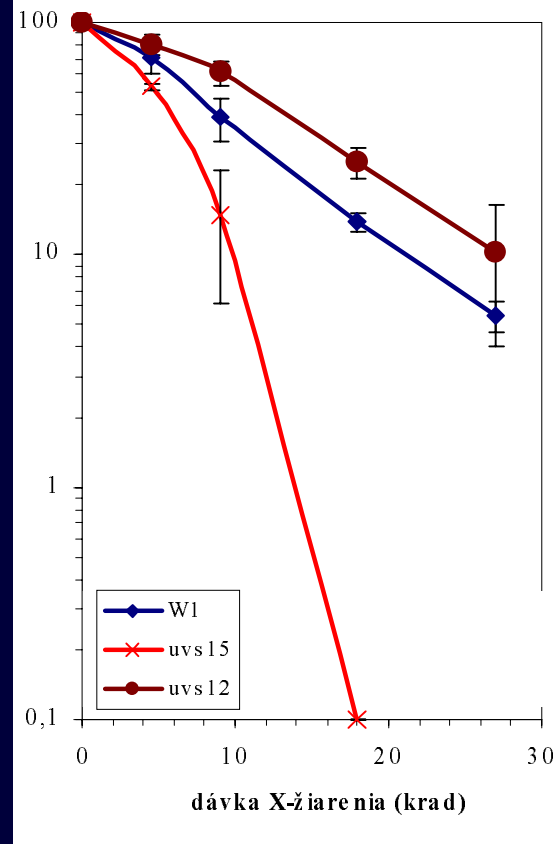
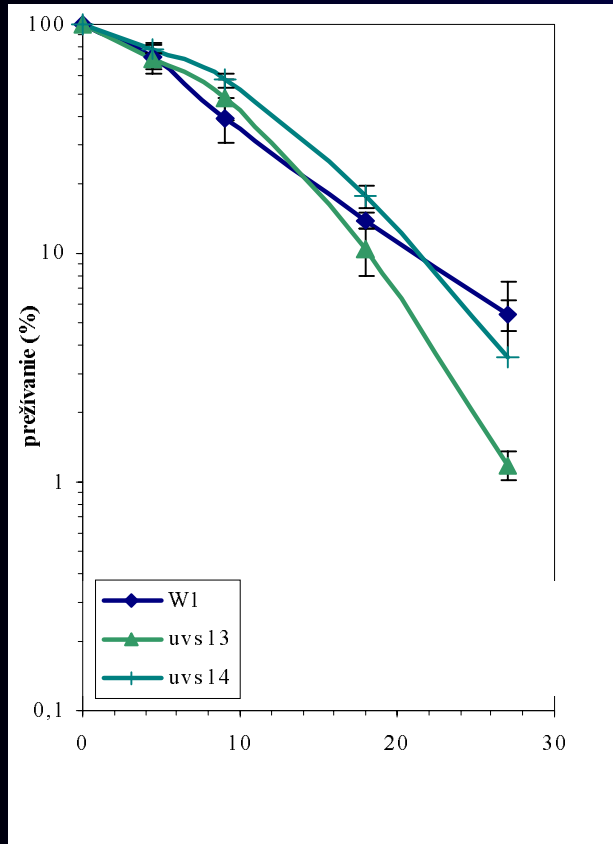
Molekulárna, mutačná a genetická analýza reparačno - deficitných mutantov *Chlamydomonas reinhardtii*



Andrea Ševčovičová



Analýza reparačne-deficitných mutantov *Chlamydomonas reinhardtii*



Prežívania štandardného a reparačne-deficitných kmeňov *C. reinhardtii* po pôsobení X-žiarenia

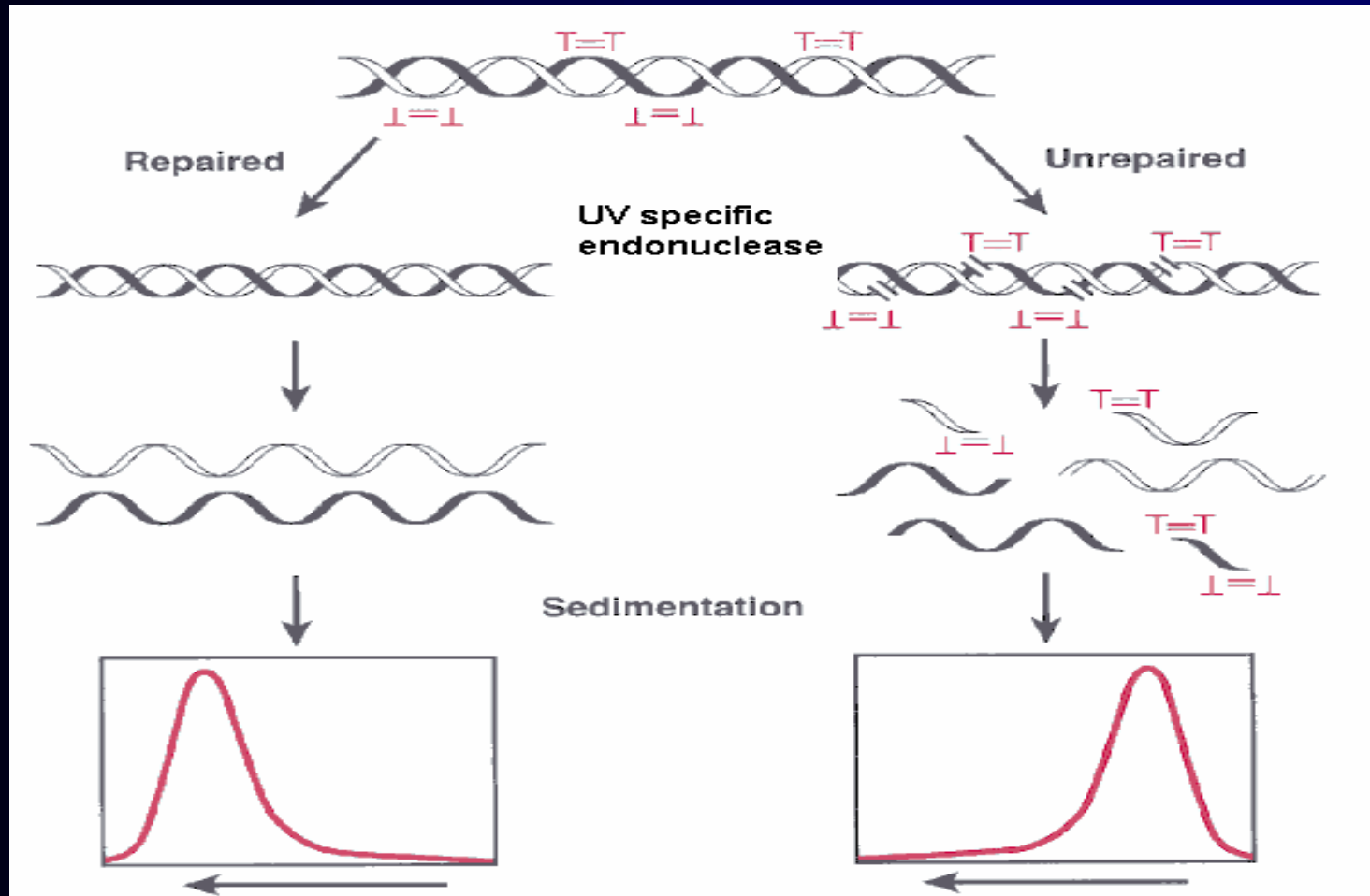
Analýza reparačne-deficitných mutantov *Chlamydomonas reinhardtii*

Mutabilita štandardného a reparačne-deficitných kmeňov *C. reinhardtii* po pôsobení X-žiarenia

Dávka W1	<i>uvrE1</i>	<i>uvr10</i>	<i>uvr12</i>	<i>uvr13</i>	<i>uvr14</i>	<i>uvr15</i>	
K	0,5	1,15	1,15	0,4	0,52	4,21	0
4,5	4,6	37,9	20,06	0	5,8	11,86	0
9	4,8	100,88	13,06	0,5	11,23	11,42	0
18	2,5	37,3	7,5	0,5	7,95	5,35	0
27	0	3,04	2,33	0	4,85	3,6	0

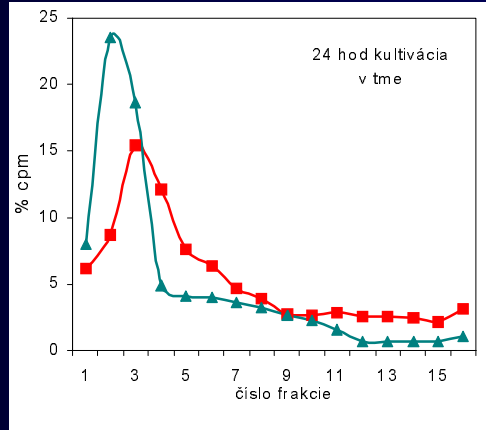
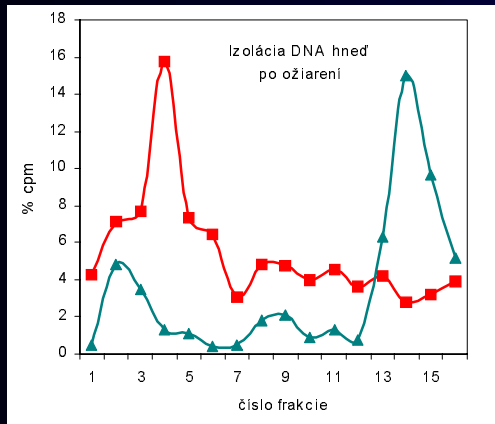
* dávka sa udáva v krad

Analýza reparačne-deficitných mutantov *Chlamydomonas reinhardtii*

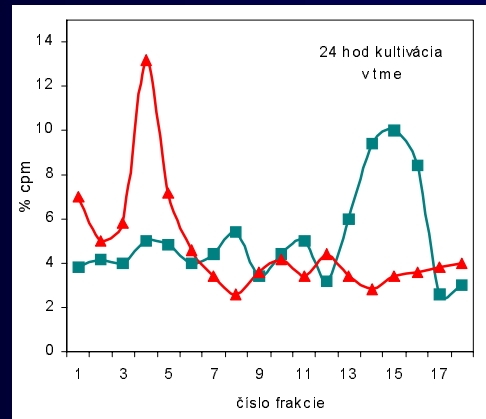
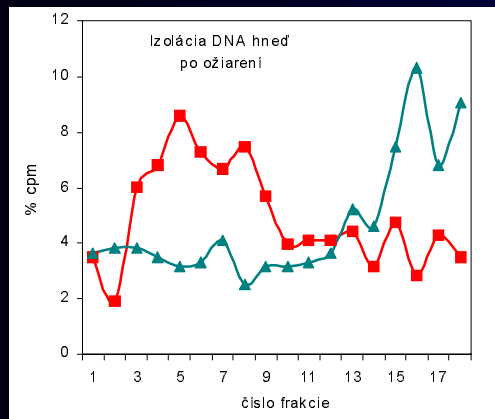


Molekulárna analýza vyštiepovania pyrimidínových dimérov

Analýza reparačne-deficitných mutantov *Chlamydomonas reinhardtii*



štandardný
kmeň **W1**



excízne-deficitný
kmeň **uvs9**

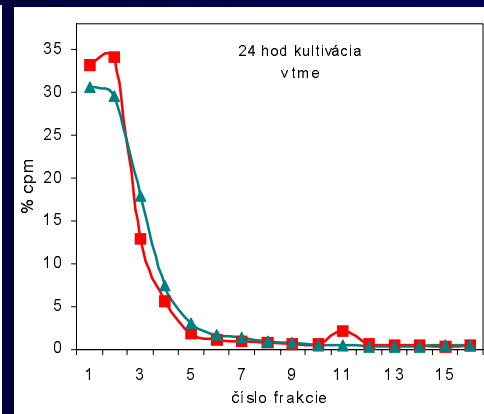
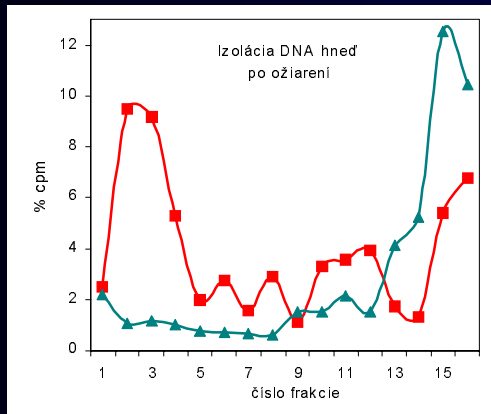
Izolácia DNA hneď
po ožiarení

24 hod. kultivácia
v tme

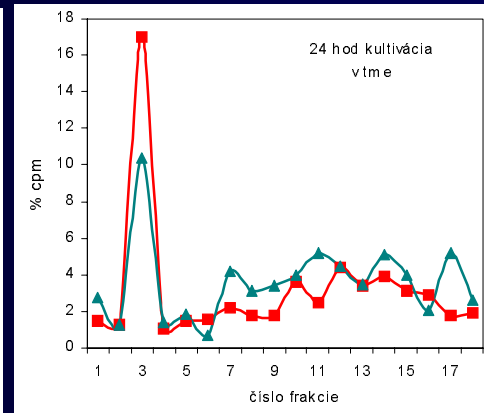
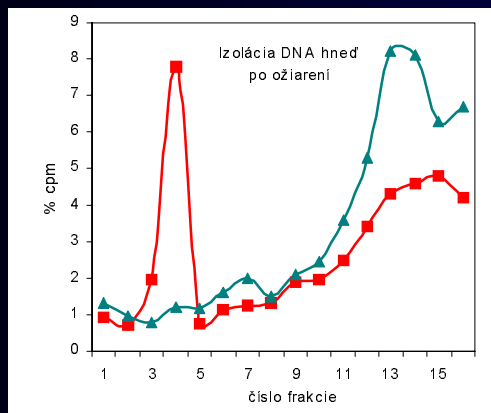
Legenda:

bez UV endonukleázy
s UV endonuklázou

Analýza reparačne-deficitných mutantov *Chlamydomonas reinhardtii*



kmeň *uvs13*



kmeň *uvs14*

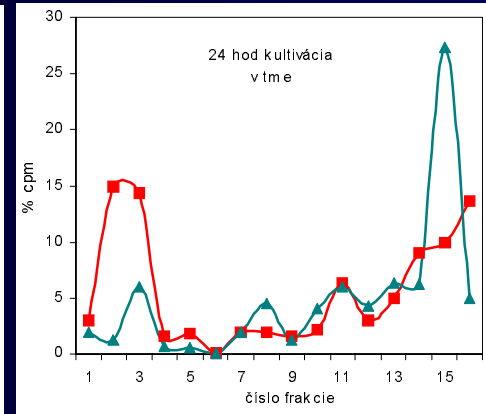
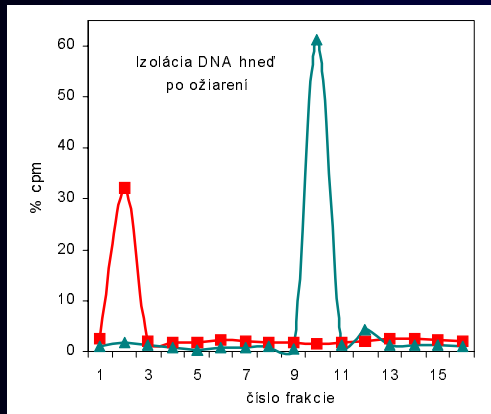
Izolácia DNA hneď po ožiarení

24 hod. kultivácia v tme

Legenda:

bez UV endonukleázy
s UV endonuklázou

Analýza reparačne-deficitných mutantov *Chlamydomonas reinhardtii*



kmeň *uvs15*

Izolácia DNA hneď
po ožiarení

24 hod. kultivácia
v tme

Legenda:
bez UV endonukleázy
s UV endonuklázou

Analýza reparačne-deficitných mutantov *Chlamydomonas reinhardtii*

Genetická analýza

Kríženie	Tetrádová analýza	Analýza zygót	Záver
<i>uvs1</i> x <i>uvs15</i>	+	+	+
<i>uvs9</i> x <i>uvs15</i>	+	+	+
<i>uvs12</i> x <i>uvs15</i>	-	+	+

- uskutočnili sme kríženia reparačne-deficitných mutantov *uvs13* a *uvs14* s markermi I. väzbovej skupiny (*msr1*, *arg7*), s ktorými vykazovali väzbu



Závery

- všetky testované reparačne-deficitné kmene (*uvs13*, *uvs14*, *uvs15*) sú citlivejšie na pôsobenie MNNG v porovnaní so štandardným kmeňom
- všetky testované reparačne-deficitné mutanty sú citlivejšie na pôsobenie X-žiarenia ako štandardný kmeň
- kmeň *uvs14* vykazuje znaky mutantov s narušenou „mismatch“ korekciou (zvýšená spontánna mutabilita)
- najcitlivejší testovaný kmeň *uvs15* vykazuje podobnosť s *rad6* mutantom *S. cerevisiae* s rozhodujúcou úlohou v mutagénnej epistatickej skupine

- molekulárna analýza potvrdila poruchu vo vyštiepovaní pyrimidínových dimérov pri kmeni *uvs15*
- pri kmeňoch *uvs13* a *uvs14* nebola potvrdená porucha vo vyštiepovaní pyrimidínových dimérov
- výsledky molekulárnej a mutačnej analýzy naznačili, že pri kmeni *uvs15* by mohlo ísť o mutáciu v géne s pleiotrofným účinkom
- z výsledkov genetickej analýzy vyplýva, že mutantný kmeň *uvs15* nie je alelický s excízne-deficitným kmeňmi *uvs1* a *uvs9* a taktiež ani s kmeňmi *uvs13* a *uvs14*
- gény *uvs13* a *uvs14* boli mapované do prvej väzbovej skupiny