

Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Michaela Růžičková

Školitel: Ing. Petra Matoušková, Ph.D.

Název diplomové práce: Vyhledání referenčních genů pro relativní kvantifikaci mRNA z *Haemonchus contortus*

Haemonchus contortus je parazitická hlístice, jejíž multirezistence k anthelmintikům je celosvětovým problémem ohrožujícím hlavně chovy malých přežvýkavců. V roce 2013 byl publikován její genom a transkriptom, což umožnilo rozsáhlý výzkum genové exprese. Referenční geny pro tyto studie prozatím nebyly stanoveny. Použití vhodných referenčních genů je nezbytné pro správnou normalizaci hladin exprese genů. Cílem této práce bylo navrhnout a zhodnotit potenciální referenční geny pro studie genové exprese u dospělců *H. contortus*. Navrženo bylo 11 genů, stabilita jejich exprese byla hodnocena na samcích a samicích dvou kmenů *H. contortus*, jednoho na anthelmintika vnímavého (ISE) a druhého multirezistentního (WR). Z jedinců byla extrahována RNA, přepsána reverzní transkripcí do cDNA. Tato byla zředěna a analyzována kvantitativní real-time PCR s detekcí pomocí SYBR Green I. Stabilita exprese byla hodnocena počítačovými programy BestKeeper, geNorm, NormFinder a komparativní C_T metodou. Nejstabilnějšími geny se jeví *ncbp*, *ama*, *sodc*, *gapdh* a *farb*. Touto prací jsme ukázali, že kombinace běžně používaného *gapdh* genu a minimálně jednoho dalšího z nejlépe umístěných by byla vhodná pro studie genové exprese u dospělců *H. contortus*.