

OBSAH

1. Úvod	7
2. Cíl metodiky	8
3. Vlastní popis metodiky	8
3.1 Pre-analytická fáze	9
3.1.1 Odběr vzorků, přeprava vzorků	9
3.1.2 Příjem vzorků do laboratoře	9
3.2 Analytická fáze	9
3.2.1 Izolace RNA	10
3.2.2 Příprava cDNA	12
3.2.3 Real-time PCR detekce	13
3.2.3.1. Úvod	13
3.2.3.2. Materiál	14
3.2.3.3. Sestavení vlastní real-time PCR reakce	15
3.2.3.4. Poznámka pro uživatele jiného typu real-time PCR cykleru	18
3.3 Post-analytická fáze	20
3.3.1 Vyhodnocování, analýza dat	20
3.3.1.1. Vyhodnocení PCR běhu u přístroje Rotor-Gene Q	20
3.3.1.2. Vyhodnocení systému kontrol kvality	21
3.3.1.3. Akceptace a interpretace výsledků	22
3.3.2 Poznámka pro uživatele jiného typu real-time PCR cykleru	22
3.4 Validace metodiky	22
3.4.1 Stanovení analytické specifity	23
3.4.2 Stanovení analytické senzitivity	24
3.4.3 Stanovení opakovatelnosti	24
3.4.4 Stanovení reprodukovatelnosti	25
3.4.5 Zjednodušený validační protokol	26
4. Srovnání novosti postupů	27
5. Popis uplatnění certifikované metodiky	27
6. Ekonomické aspekty	28
7. Seznam použité související literatury	29
8. Seznam publikací, které předcházely metodice	30