

OBSAH

1. Úvod	7
2. Cíl metodiky	8
3. Vlastní popis metodiky	9
3.1 Pre-analytická fáze.....	10
3.1.1 Odběr vzorků, přeprava vzorků.....	10
3.1.2 Příjem vzorků do laboratoře	10
3.2 Analytická fáze.....	10
3.2.1 Izolace RNA	11
3.2.2 Příprava cDNA	13
3.2.3 Real-time PCR detekce	15
3.2.3.1. Úvod	15
3.2.3.2. Materiál	15
3.2.3.3. Sestavení vlastní real-time PCR reakce.....	17
3.2.3.4. Poznámka pro uživatele jiného typu real-time PCR cyklu.....	20
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.....	22
3.3.1.3. Akceptace a interpretace výsledků	23
3.3.2 Poznámka pro uživatele jiného typu real-time PCR cyklu	23
3.4 Validace metody.....	23
3.4.1 Stanovení specifity	24
3.4.2 Stanovení analytické senzitivity	25
3.4.3 Stanovení opakovatelnosti.....	26
3.4.4 Stanovení reprodukovatelnosti	27
3.4.5 Zjednodušený validační protokol.....	28
4. Srovnání novosti postupů	29
5. Popis uplatnění certifikované metodiky.....	30
6. Ekonomické aspekty	31
7. Seznam použité související literatury.....	33
8. Seznam publikací, které předcházely metodice	34