



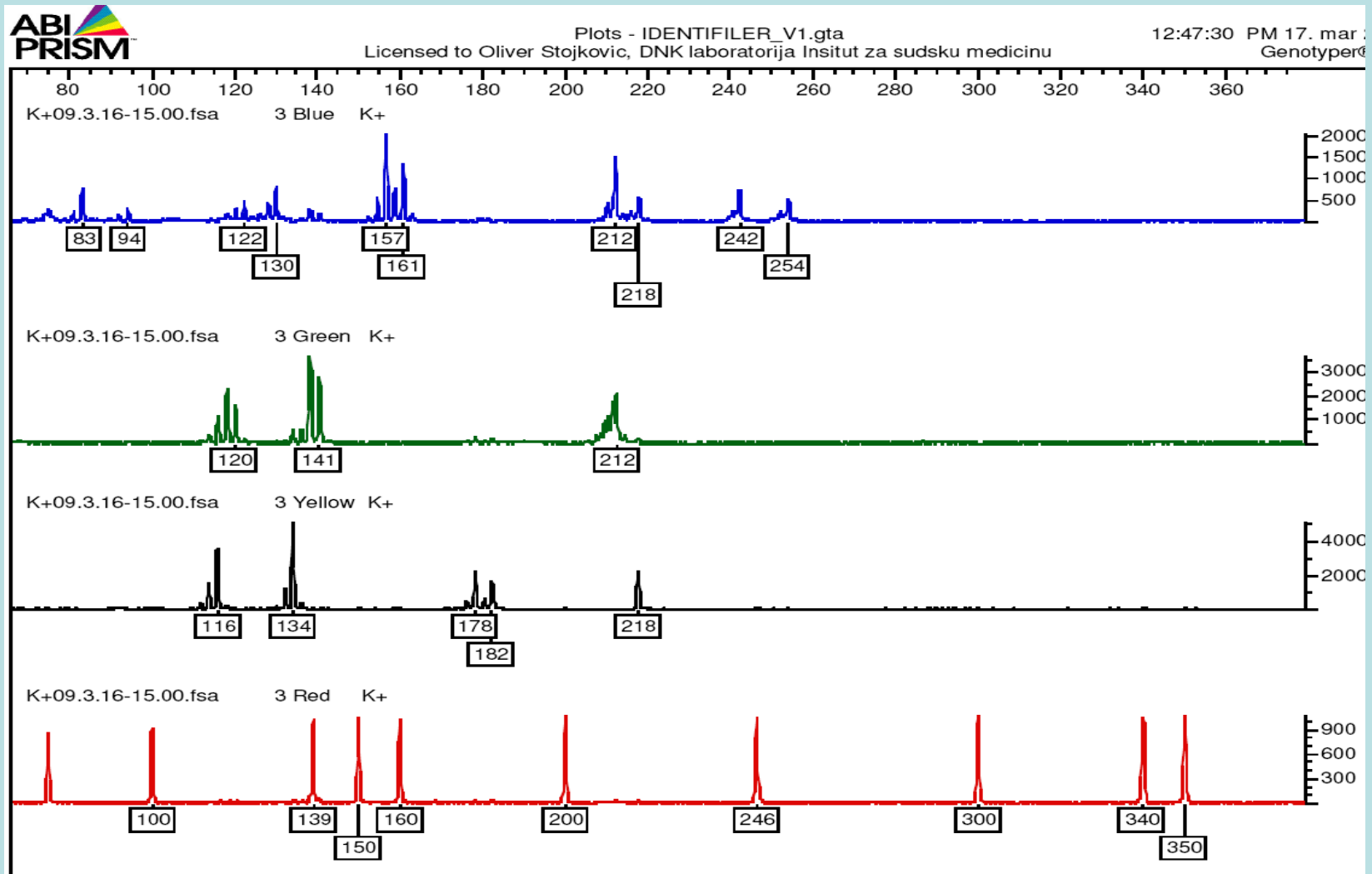
Upotreba molekularno-genetičkih metoda u dijagnostici naslednih bolesti, određivanju pola ptica i embriona sisara, razlikovanju genotipova, detekciji i determinaciji uzročnika oboljenja kod životinja i veterinarskoj forenzici

- II deo -

Napomena: originalni izvori na koje se u prezentaciji pozivamo dostupni su u biografijama zaposlenih na Katedri za biologiju na linku

<http://biologija.vet.bg.ac.rs/nastavnici-i-saradnici/>

4. UTVRĐIVANJE RODITELJSTVA I ANALIZA PEDIGREA



ANALIZA PEDIGREA YU simentalskog govečeta

Mikrosateliti

- kratke jedinice DNK koje se više puta ponavljaju u tandemu
“Short Tandem Repeat - STR loci”
- mikrosateliti su visoko polimorfne i česte sekvence genetičkog koda raspoređene po čitavom genomu;

A – 8 repeats

Forward primer →

```
... GCTCCAGGCTTAGACTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTTCGCACCTTTAACGATACGG...  
... CGAGGTCCGAATCTGAAGAAGAAGAAGAAGAAGAAGAAGCGTGAAAATTGCTATGCC...
```

← Reverse primer

B – 7 repeats

Forward primer →

```
... GCTCCAGGCTTAGACTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTTCGCACCTTTAACGATACGG...  
... CGAGGTCCGAATCTGAAGAAGAAGAAGAAGAAGAAGCGTGAAAATTGCTATGCC...
```

← Reverse primer

C – 9 repeats

Forward primer →

```
... GCTCCAGGCTTAGACTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTTCGCACCTTTAACGATACGG...  
... CGAGGTCCGAATCTGAAGAAGAAGAAGAAGAAGAAGAAGAAGCGTGAAAATTGCTATGCC...
```

← Reverse primer

Mikrosateliti

Veličina jedinice (ponovka) je od 2 do 6 baznih parova. Najčešće ponovljena jedinica (ponovak) je **CA**.

Mikrosateliti su hipervarijabilni, često imaju desetine alela po lokusu, pri čemu se različiti aleli razlikuju po broju ponovaka. Na primer, određeni mikrosatelit može obuhvatati 10 ponovljenih jedinica CA (CACACACACACACACA). Tokom evolucije, neka mutacija na DNK može dovesti do toga da neke jedinice imaju alel od 8 jedinica CA, dok druge mogu imati alel od 6 ili 12 tih jedinica na istom lokusu.

POTVRDA RODITELJSTVA izdaje se u slučaju kada za svaki analizirani lokus postoji poklapanje makar jednog alela između potomka i potencijalnog roditelja.

Mikrosatelitski marker	Bik (otac) ID 780 392 1516	Tele (sin) ID 713 295 1116	Tele (sin) ID 717 278 8208	Tele (sin) ID 714 558 1406
TGLA227	89	79/ 89	89 /91	89 /97
BM2113	131/133	131 /135	127/ 131	133
TGLA53	168	154/ 168	164/ 168	168 /184
ETH10	217/219	217	217 /221	213/ 219
SPS115	248/256	248 /260	248	235/ 256
TGLA126	115/117	115 /123	113/ 117	115
TGLA122	151/153	147/ 151	141/ 151	153
INRA23	208	208 /218	208 /222	208 /214
ETH3	117/125	125	117	89/ 117
ETH225	150/???	148/ 150	150	136/???
BM1824	182/188	178/ 188	180/ 182	182

Informativnost mikrosatelita koje preporučuje ISAG za procenu roditeljstva kod YU simentalskog govečeta

Table 1. Informativeness of analyzed markers in the Yugoslav Pied cattle population in Serbia

Microsatellite marker	Chromosome	Observed size range (bp)	n_A	FNA	Ho	He	HWE	PIC
TGLA227	18	78–114	11	0.274	0.733	0.851	0.00324*	0.82
BM2113	2	122–142	9	0.333	0.607	0.817	0.01505	0.80
TGLA53	16	150–184	14	0.235	0.656	0.893	0.00000*	0.88
ETH10	5	206–220	7	0.600	0.522	0.557	0.13205	0.58
SPS115	15	242–254	6	0.515	0.719	0.656	0.78688	0.60
TGLA126	20	114–124	6	0.438	0.667	0.654	0.95571	0.59
TGLA122	21	138–162	9	0.424	0.452	0.728	0.00163*	0.70
INRA023	3	198–220	11	0.167	0.774	0.889	0.26167	0.86
ETH3	19	112–124	6	0.288	0.742	0.793	0.29764	0.75
ETH225	9	134–146	6	0.530	0.581	0.645	0.02655	0.62
BM1824	1	176–190	6	0.364	0.710	0.760	0.65137	0.70
Mean			8.273	0.379	0.651	0.750		0.72

n_A = number of alleles

FNA = frequency of the most frequent allele

Ho = observed heterozygosity

He = expected heterozygosity

PIC = polymorphism information content

* $P < 0.05$, significantly deviated from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE)

Stevanovic et al. (2010)
Czech Journal of Animal
Science

Procena validnosti ISAG panela mikrosatelita u za analize pedigreea ŠAR-PLANINCA

Table 1. Characteristics of the investigated microsatellite loci in the Yugoslavian Shepherd Dog

Microsatellite marker	Observed size range (bp)	n_A	FNA	H_o	H_e	HWE	PIC
<i>PEZ01</i>	105–125	6	0.386	0.65347	0.74578	0.29382	0.70
<i>FHC2054</i>	144–176	9	0.471	0.71845	0.72067	0.37251	0.69
<i>FHC2010</i>	219–235	5	0.563	0.51456	0.57248	0.00580	0.50
<i>PEZ05</i>	96–112	5	0.480	0.57426	0.64130	0.02233	0.57
<i>PEZ20</i>	163–191	7	0.426	0.66019	0.72740	0.17231	0.68
<i>PEZ12</i>	261–301	10	0.240	0.73000	0.84000	0.01310	0.82
<i>PEZ03</i>	103–139	12	0.691	0.43299	0.50558	0.08701	0.48
<i>PEZ06</i>	171–219	10	0.275	0.75490	0.81054	0.73371	0.78
<i>PEZ08</i>	218–246	8	0.316	0.76699	0.78049	0.48234	0.74
<i>FHC2079</i>	262–290	6	0.432	0.57282	0.67866	0.00051*	0.63
Mean		7.8	0.428	0.63786	0.70229		0.659

n_A = number of alleles.

FNA = frequency of the most frequent allele.

H_o = observed heterozygosity.

H_e = expected heterozygosity.

PIC = polymorphism information content.

* $P < 0.005$, significantly deviated from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE).

Procena mikrosatelita ISAG panela za ekvide i ANALIZE PEDIGREA MAGARCA

Table 2. Characteristics of the 14 investigated microsatellite loci in the Domestic Balkan donkey

Locus	n_A	FNA	H_o	H_e	HWE	PIC
<i>VHL20</i>	7	0.532	0.59740	0.63908	0.00000	0.59
<i>HTG4</i>	3	0.534	0.79310	0.53660	0.00007	0.42
<i>AHT4</i>	11	0.230	0.86842	0.84873	0.00000	0.82
<i>HMS7</i>	4	0.961	0.05195	0.07631	0.05908	0.07
<i>HTG6</i>	5	0.466	0.44828	0.60165	0.02038	0.64
<i>AHT5</i>	13	0.337	0.58140	0.84460	0.00000	0.82
<i>HMS6</i>	8	0.455	0.80519	0.72116	0.03293	0.68
<i>ASB23</i>	8	0.286	0.94805	0.81470	0.00000	0.78
<i>HTG10</i>	12	0.253	1.00000	0.83017	0.00000	0.80
<i>HTG7</i>	10	0.313	0.91667	0.83770	0.00000	0.81
<i>HMS3</i>	12	0.243	0.94595	0.86229	0.00000	0.84
<i>HMS2</i>	8	0.440	0.65333	0.67714	0.00737	0.62
<i>LEX3</i>	8	0.649	0.40260	0.54826	0.00000	0.52
<i>CA425</i>	9	0.308	0.95890	0.80576	0.00000	0.77
Mean	8.42	0.429	0.71223	0.68886		0.65

n_A = number of alleles; FNA = frequency of the most frequent allele; H_o = observed heterozygosity; H_e = expected heterozygosity; PIC = polymorphism information content; * $P < 0.005$, significantly deviated from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE).

Analiza ISAG panela mikrosatelita kod KANGALSKOG OVČARA

Locus	H _o	H _e	p	SD
PEZ01	0.58140	0,78194	0.06224	0.00024
FHC2054	0,44444	0,87582	0.00046	0.00002
FHC2010	0,50000	0,71270	0.02729	0.00016
PEZ05	0,58696	0,68251	0.01285	0.00011
PEZ20	0,62500	0,78004	0.08515	0.00025
PEZ12	0,51613	0,89635	0.00000	0.00000
PEZ03	0,50000	0,74242	0.16955	0.00042
PEZ06	0,53333	0,84598	0.11147	0.00026
PEZ08	0,72727	0,82288	0.80294	0.00042
FHC2079	0,50000	0,60320	0.06745	0.00028
Mean value	0,55145	0,77439		

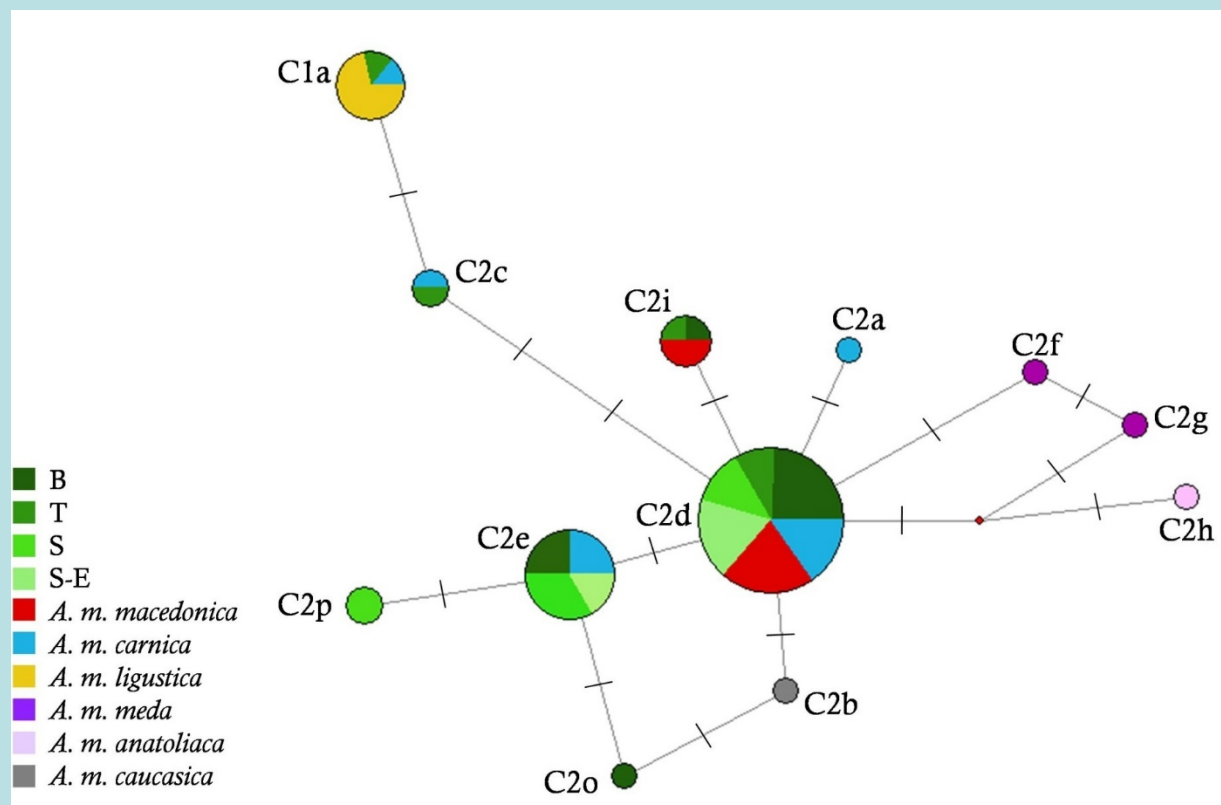
Values of observed and expected heterozygosity in 10 investigated microsatellites in populations of the kangal breed. HO - observed heterozygosity; HE - expected heterozygosity, p - p value, SD - Standard deviations.

Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) u ispitivanoj populaciji kangalskog ovčara

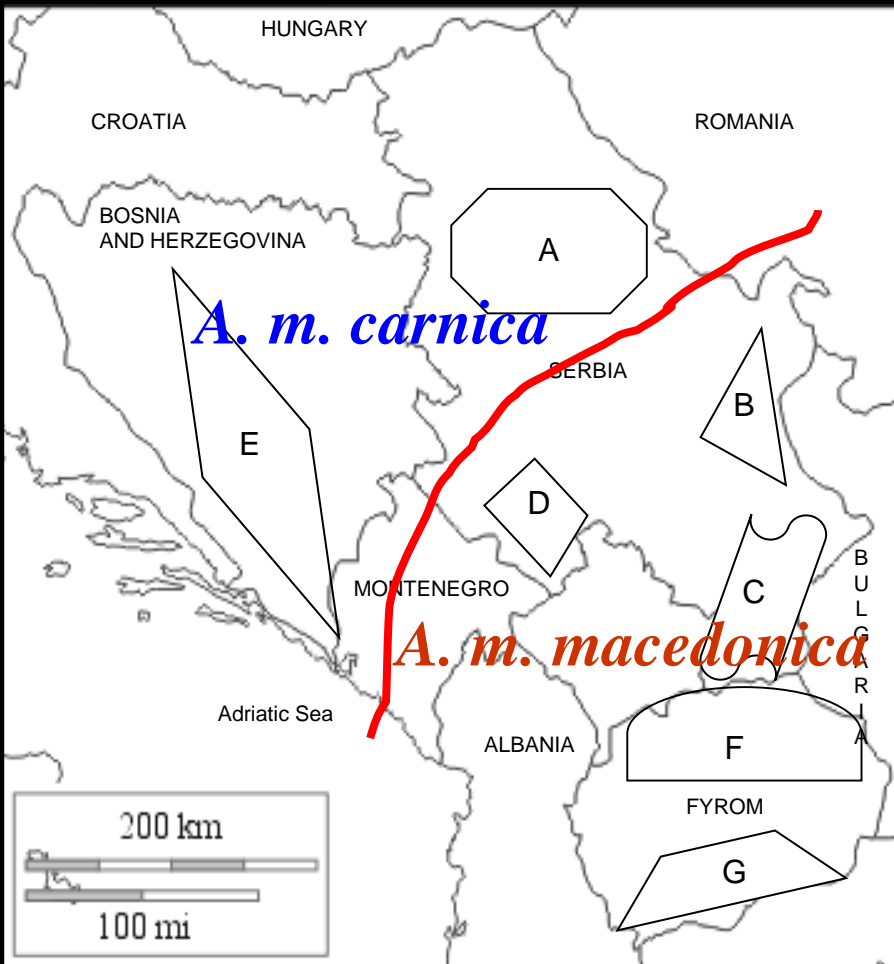
Dimitrijević et al. (2020) *Acta Veterinaria*

5. ANALIZE GENETIČKOG DIVERZITETA

u funkciji proučavanja domestikacije, biogeografije, otkrivanja hibridizacije između vrsta ili podvrsta domaćih životinja i za filogenetske analize (rekonstrukciju evolucionih veza između i unutar vrsta)



Filogeografski prikaz odnosa 12 haplotipova *Apis mellifera* iz C evolutivne linije



Analiza diverziteta i biogeografije medonosne pčele *Apis mellifera* sa šireg područja

- Srbija
- Bosna i Hercegovina
- Makedonija

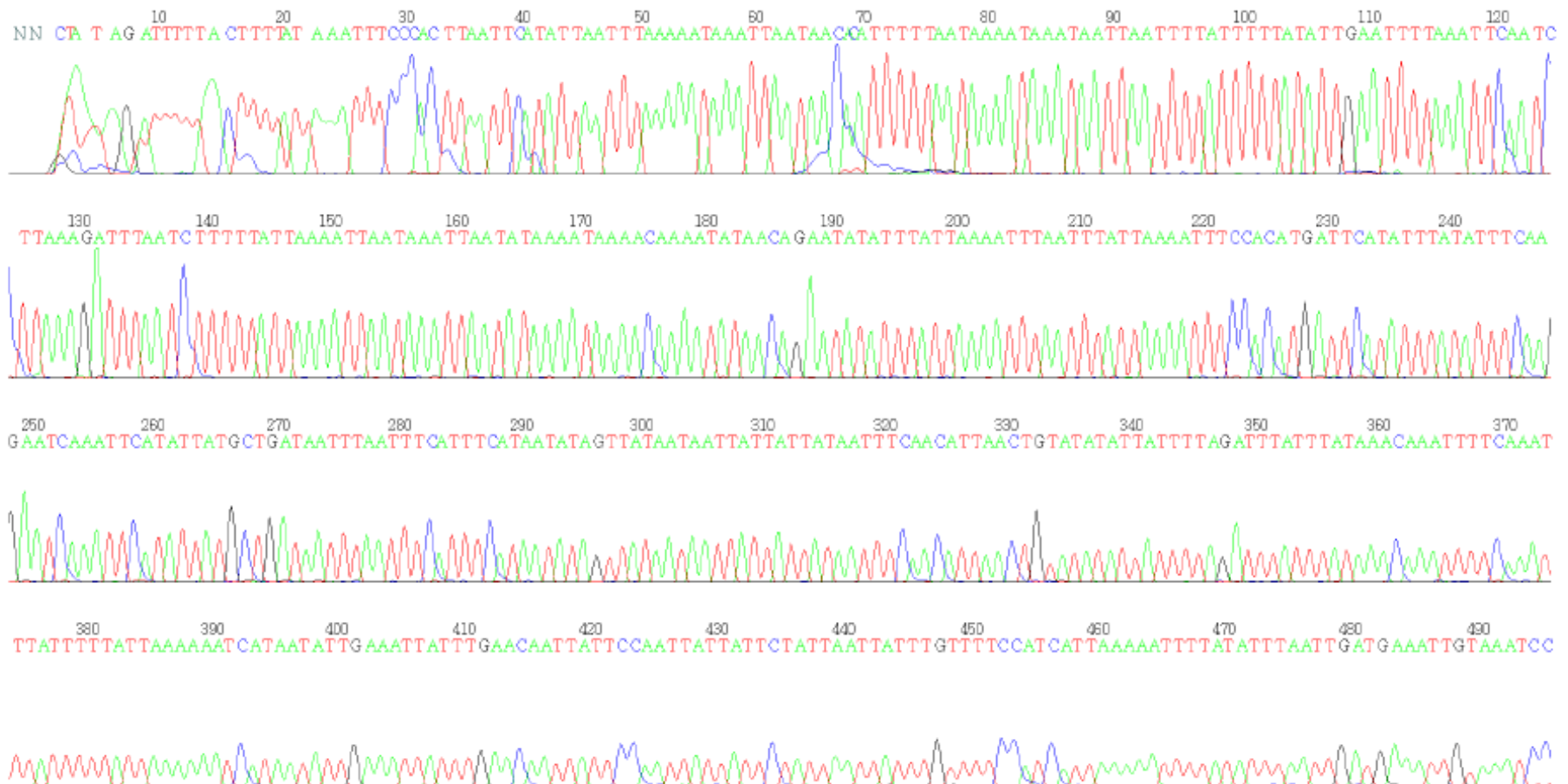
analizom

COI genskog segmenta mtDNK
(PCR, sekvencioniranje + RFLP
primenom enzima *Nco I* i *Sty I*)

Rasprostranjenje *A. m. macedonica* daleko veće nego što se ranije smatralo; granica rasprostranjenja *A. m. macedonica* na teritoriji Balkana pruža se mnogo severnije od ranije postavljene.

Rezultat sekvenciranja COI-COII fragmenta mtDNK pčela iz Banatskog regiona

File: 060425-03_K06_B3-E2.ab1 Run Ended 2006/4/26 9:35:34 Signal G:81 A:448 C:93 T:524
Sample: B3_E2 Lane: 21 Base spacing: 14.219999 837 bases in 10331 scans Page 1 of 2



Ispitivanje diverziteta i haplotipizacija pčela u Srbiji analizom intergenskog tRNA_{Leu}-cox2 regiona

Sedam polimorfnih mesta (SNPs) utvrđeno je u intergenskom tRNA_{Leu}-cox2 regionu (3363-3935 bp) *A. mellifera*

SNPs	69 (3432 bp)	87 (3450 bp)	112 (3475 bp)	152 (3515 bp)	225 (3488 bp)	270 (3633 bp)	405 (3768 bp)
Haplotip							
C1a	C	T	T	T	G	T	C
C2c	-	T	T	T	G	T	C
C2d	-	T	T	T	G	C	T
C2e	-	T	-	T	G	C	T
C2i	-	T	T	T	A	C	T
C2o	-	T	-	A	G	C	T
C2p	-	C	-	T	G	C	T

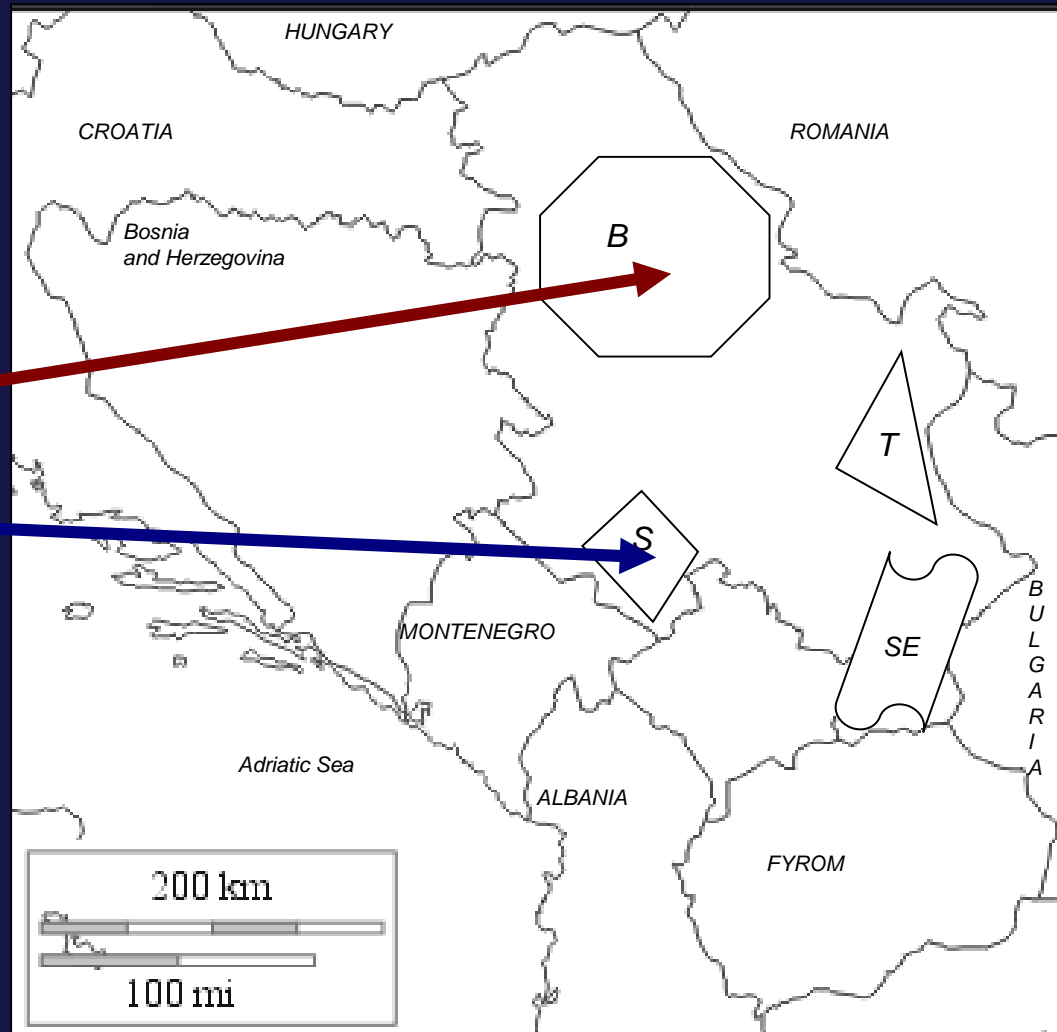
Muñoz, Stevanović, Stanimirović, De la Rúa (2012)
Journal of Apicultural Science

Sedam SNPs definiše sedam haplotipova pčela *A. mellifera* u Srbiji, među kojima su dva (**C2o** i **C2p**) prvi put opisana i imenovana

Dva nova haplotipa imaju ograničeno rasprostranjenje i to:

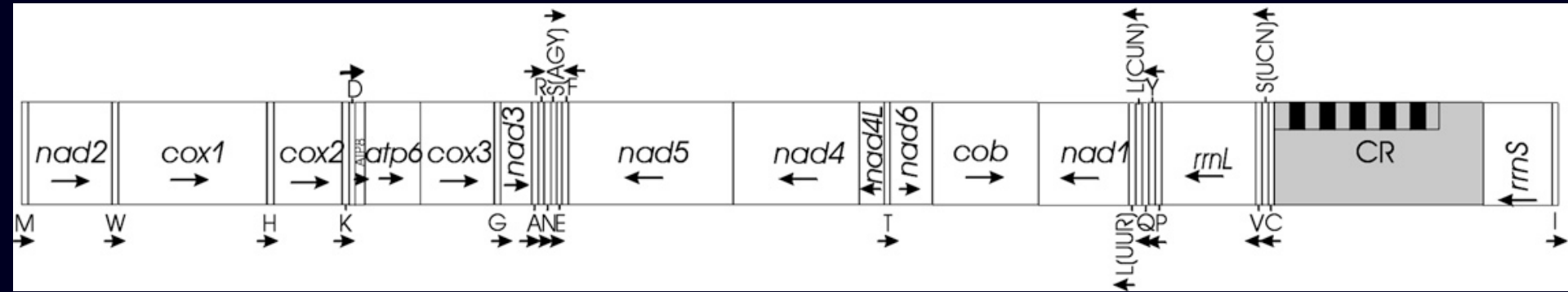
-**C2o** u Banatskom regionu

-**C2p** u Sjeničko-Peštarskom regionu



Muñoz, Stevanović, Stanimirović, De la Rúa (2012) *Journal of Apicultural Science*

Haplotipizacija pčelinjeg krpelja *Varroa destructor* analizom visoko konzerviranih sekvenci mtDNK

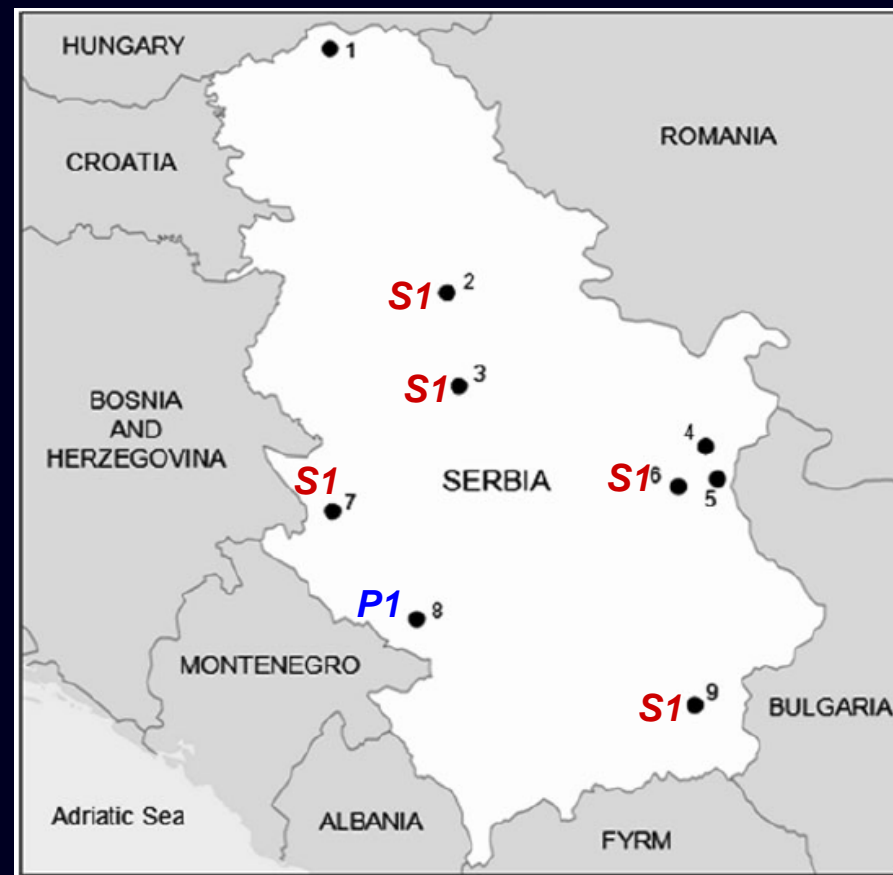


u cilju boljeg sagledavanja odnosa parazit-domaćin između *Varroa destructor* i medonosne pčele *Apis mellifera*

Analize mtDNK *Varroa destructor* u Srbiji u periodu 2010 -2016

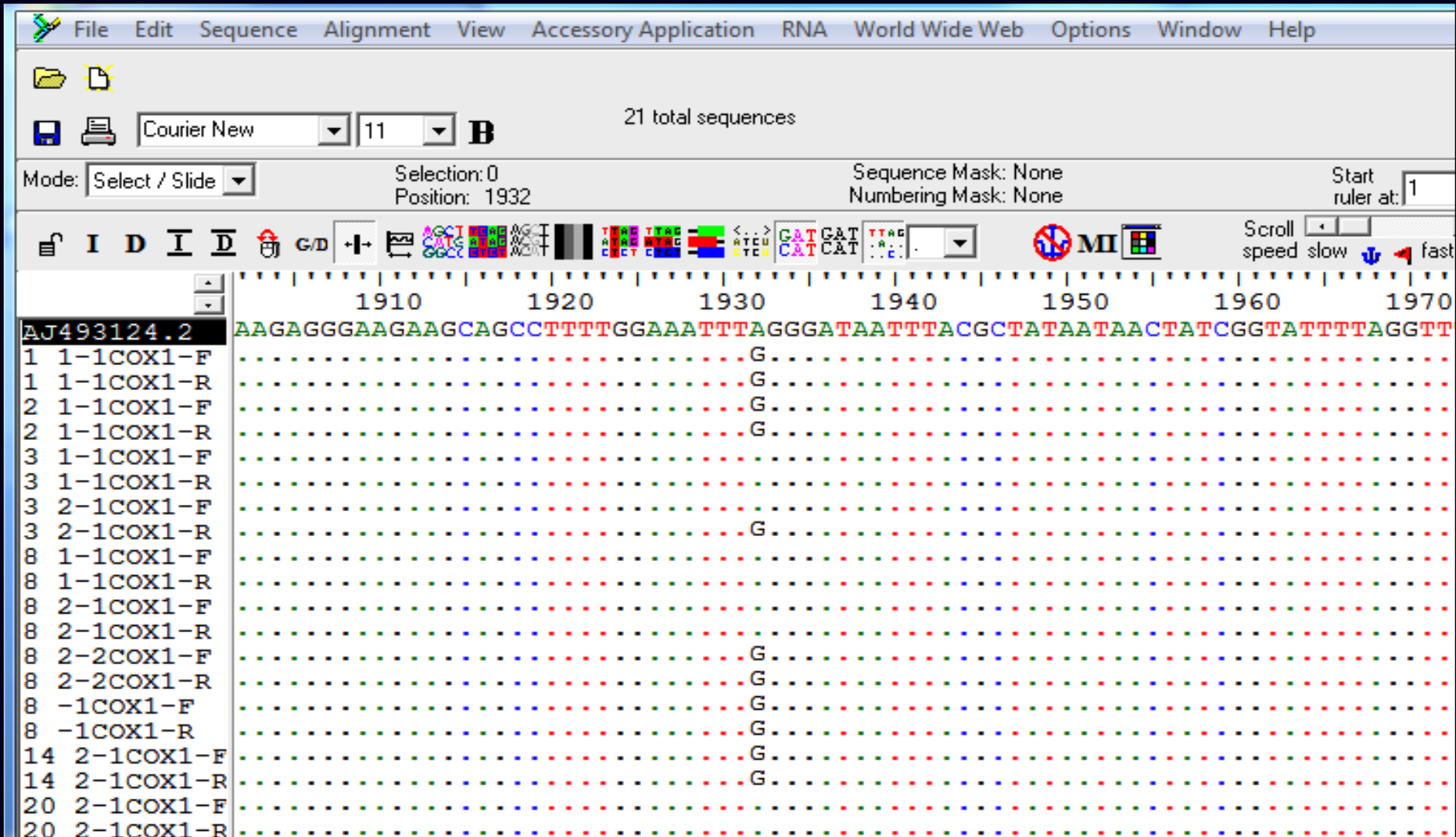
Amplifikovana su i
sekvencionirana
četiri fragmenta
cox1, *atp6*, *cox3* i *cytb*
mtDNK gena

Osim Korejskog (**K**) haplotipa
(nađenog na svim
lokalitetima), otkrivena su **DVA**
NOVA HAPLOTIPA : **Serbia 1**
(S1) **Peshter 1 (P1)**.

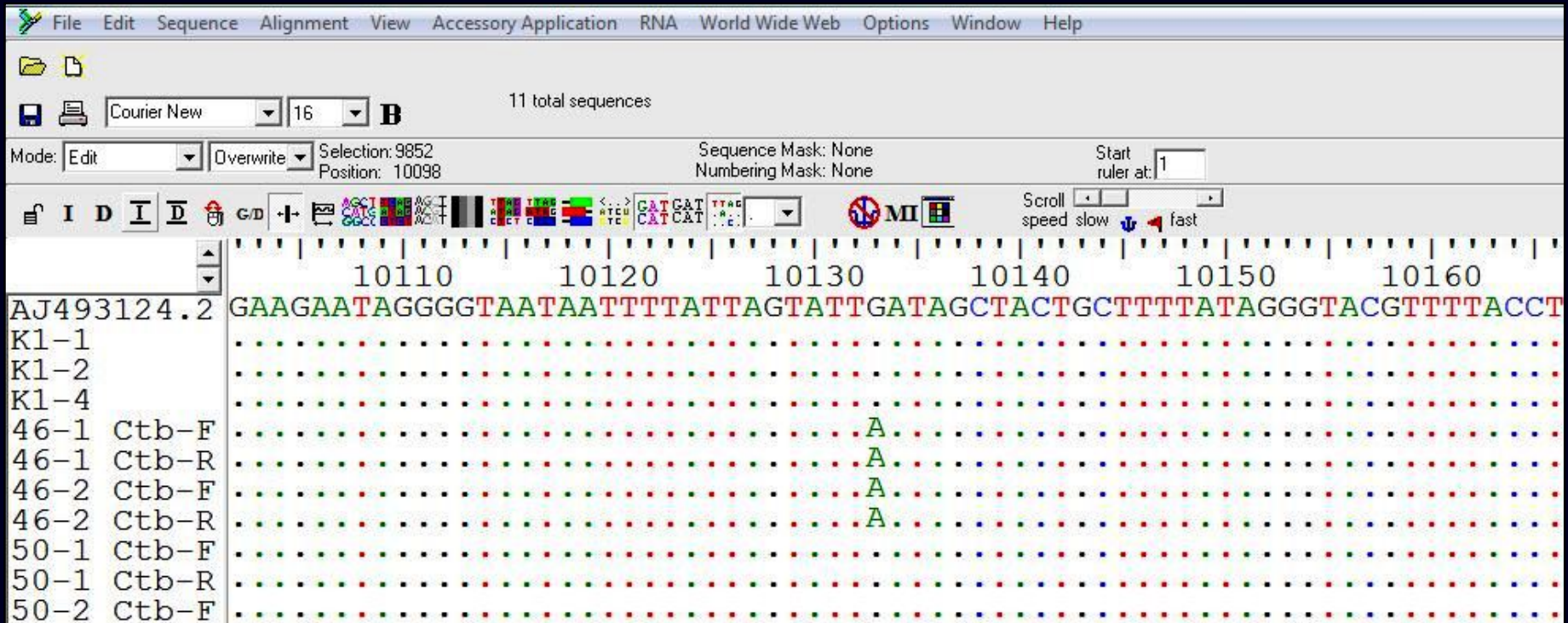


Gajic et al. (2013) *Experimental
and Applied Acarology*

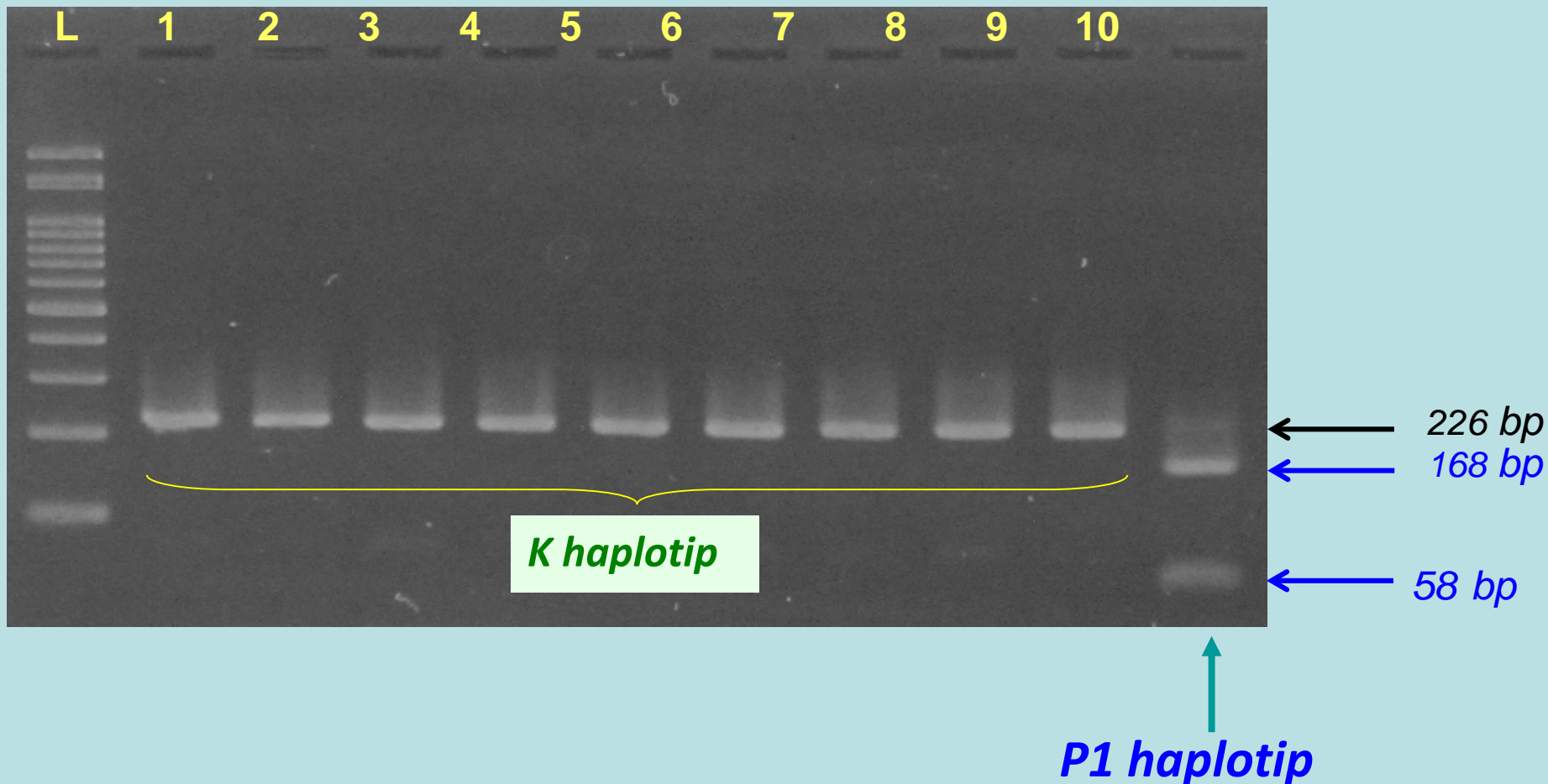
Serbia 1 (S1) haplotip definisan na osnovu SNP (A→G) na poziciji 1932 unutar *cox1* sekvence mtDNK



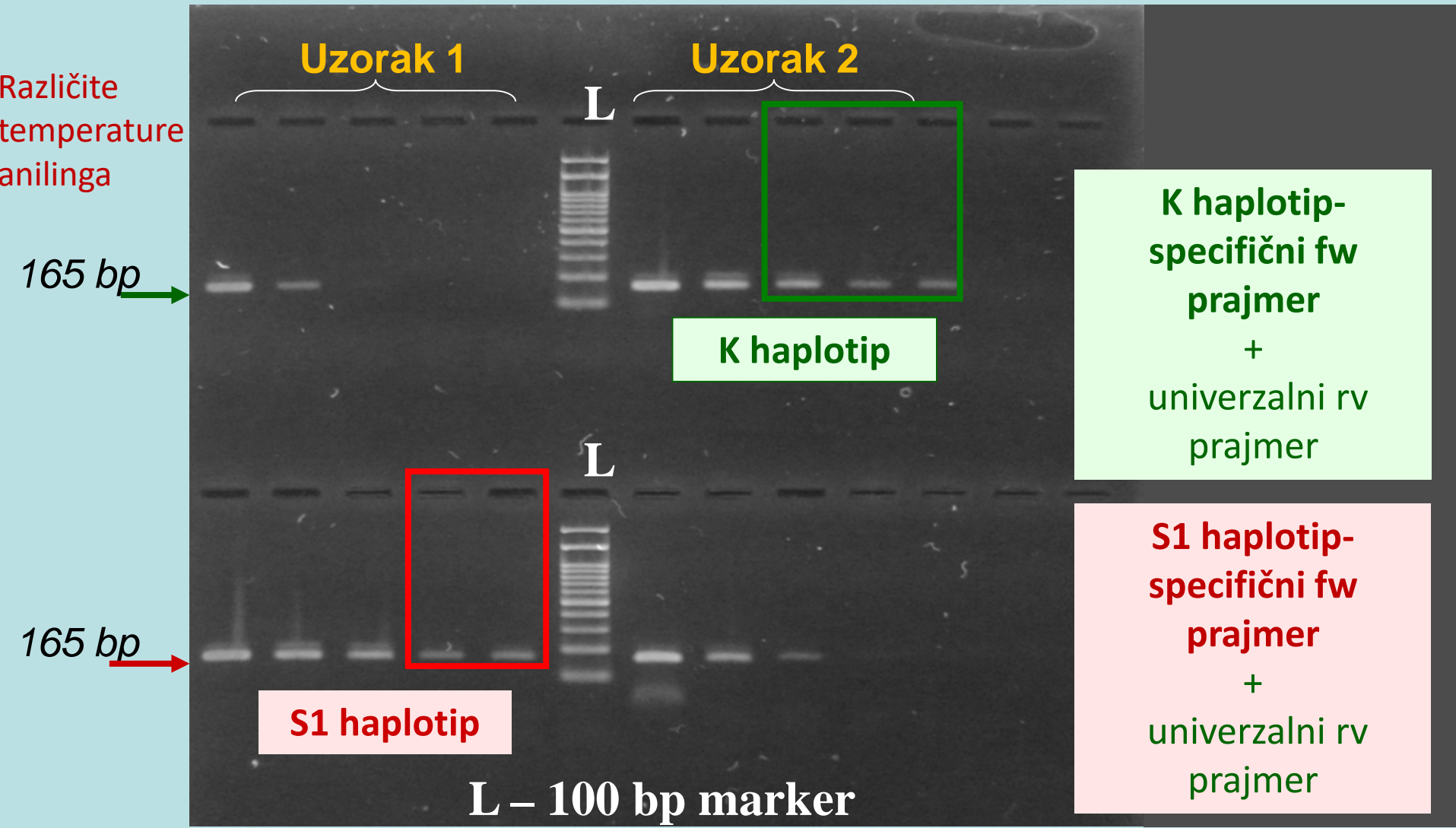
Peshter 1 (P1) haplotip definisan na osnovu SNP (G→A) na poziciji 10133 unutar *cytb* sekvence mtDNK



Diferencijacija **K** i **P1** haplotipa pomoću **RFLP** metode



Razlikovanje **K** i **S1** haplotipova putem ARMS gradient PCR metode



Analiza genetičkog diverziteta *Equus asinus* u Srbiji analizom mitohondrijalne DNK (mtDNK)

Uzorci su uzeti iz 3 najveće populacije balkanskog magarca na teritoriji Srbije.

Kao referentni uzorci, za komparaciju su korićeni podaci o magarcima iz susednih zemalja.

Stanišić et al. (2017)
Animal Genetics

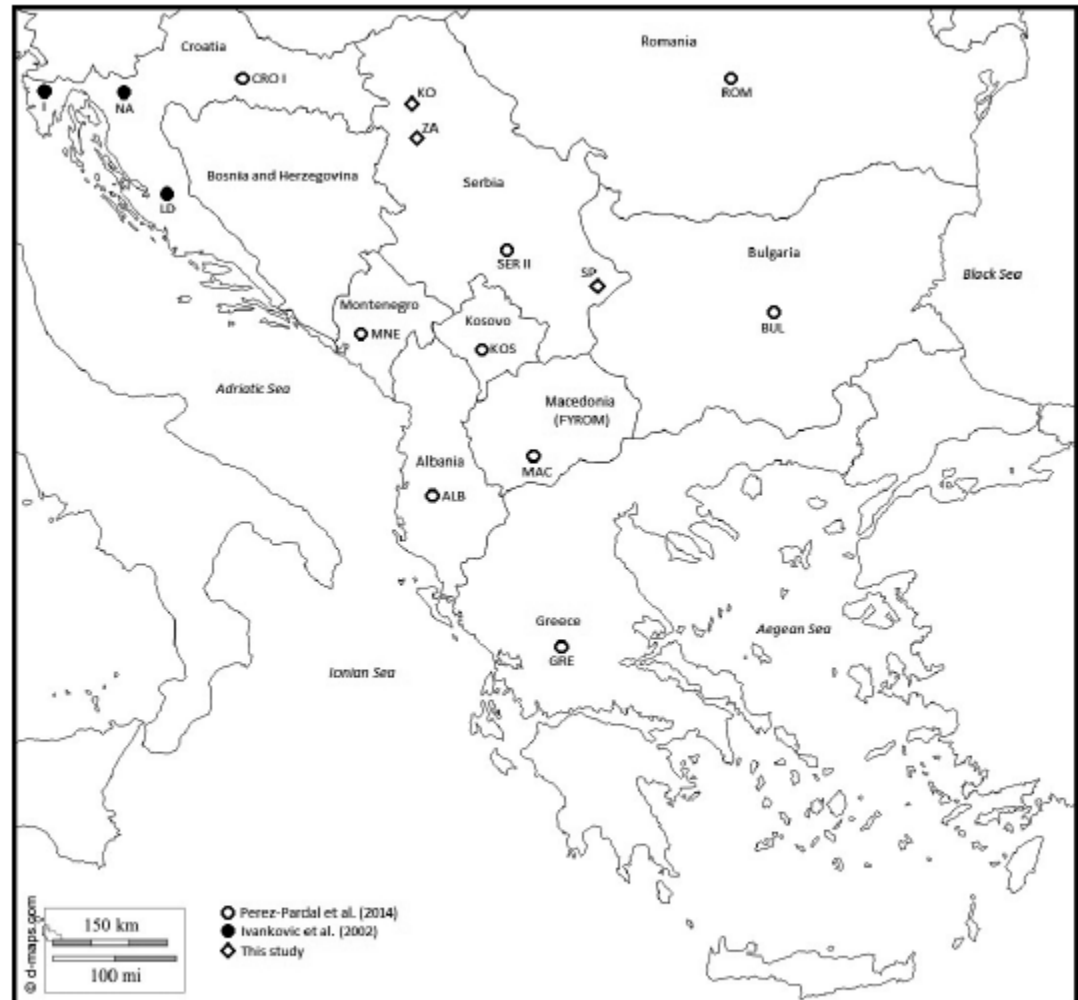
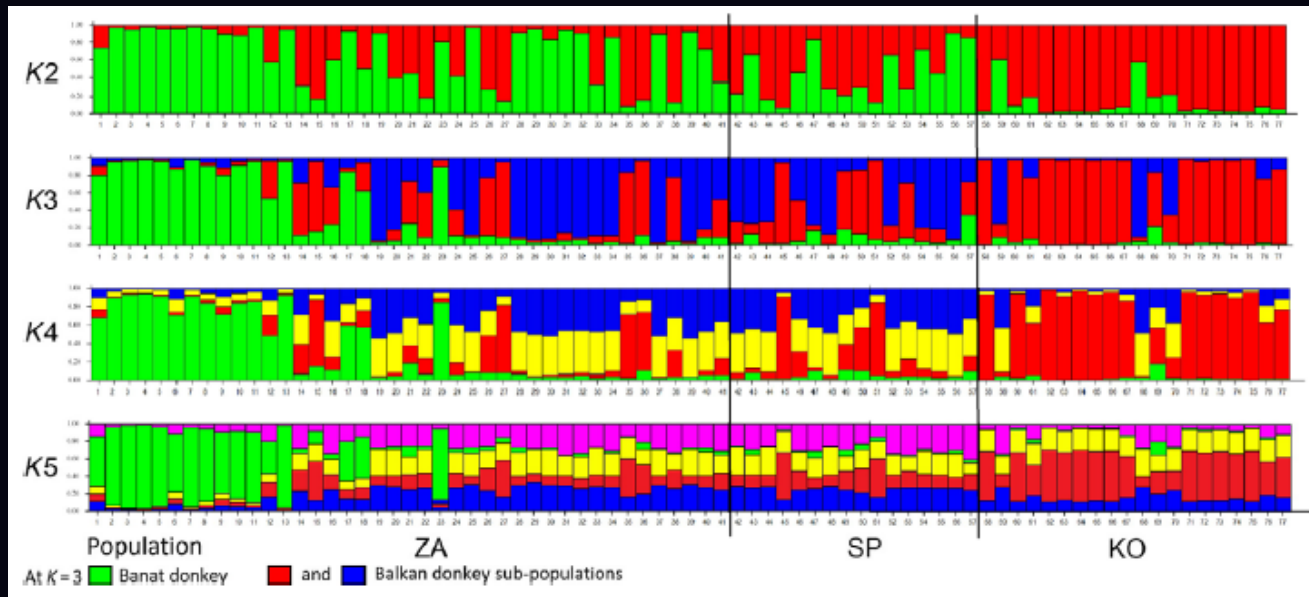


Figure 1 Sampling sites of three donkey populations from Serbia (○) and countries of origin of other relevant donkey populations used in the study: ○ sites from which samples for 10 Balkan donkey populations studied by Pérez-Pardal et al. (2014) were taken; ● sites from which samples for Istrian (I), Littoral-Dinaric (LD) and North-Adriatic (NA) donkey populations studied by Ivankovic et al. (2002) were taken.

Analize porekla, genetičkog statusa i diverziteta magaraca analizom mikrosatelita i mtDNK



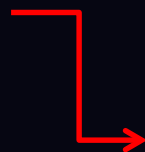
Stanišić et al. (2017)
Animal Genetics



a) Balkanski magarac



b) Banatski magarac



Analize porekla, filogenije i srodničkih odnosa magaraca sa Balkana analizom mtDNK

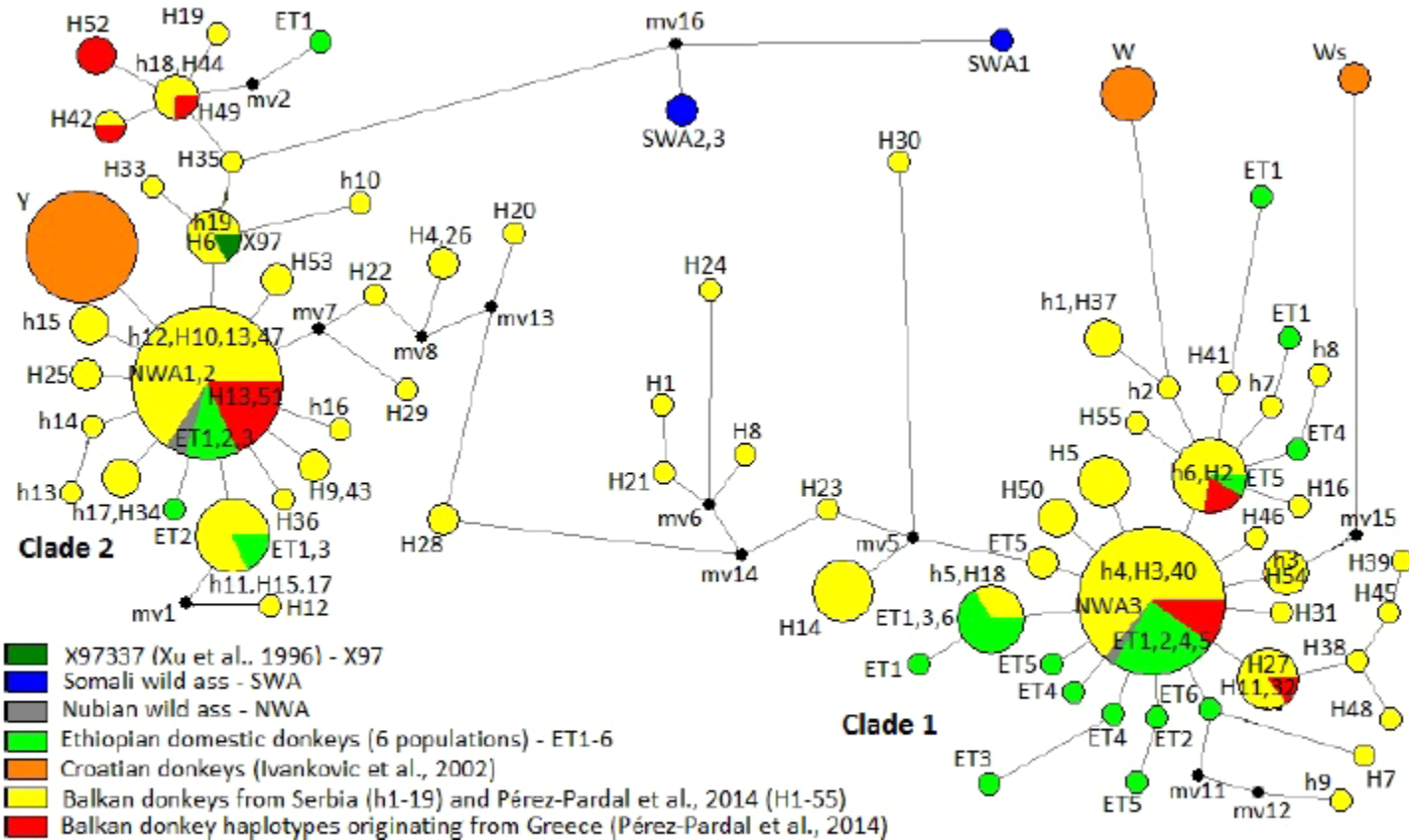
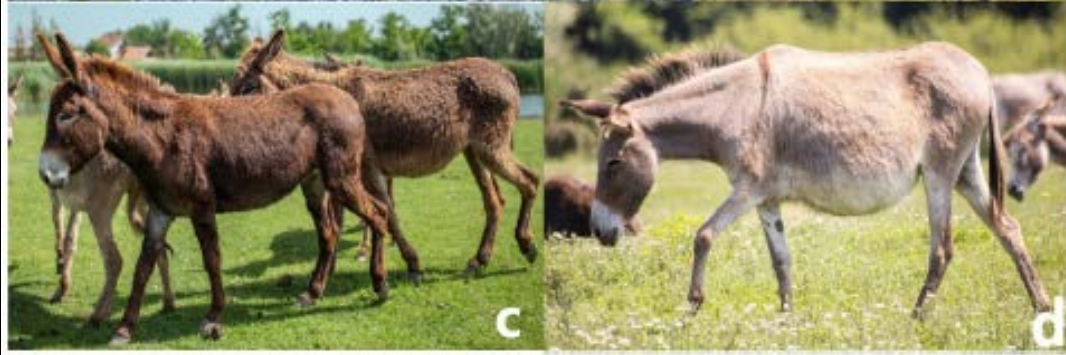


Figure 5 Median-joining network based on mitochondrial sequences of 258 modern and ancient European and African donkeys from 20 populations. Ethiopian domestic donkey populations: Afar (ET1), Hararghe (ET2), Sinnar (ET3), Abyssinian (ET4), Omo (ET5) and Ogaden (ET6); the size of the node is proportional to the number of individuals.



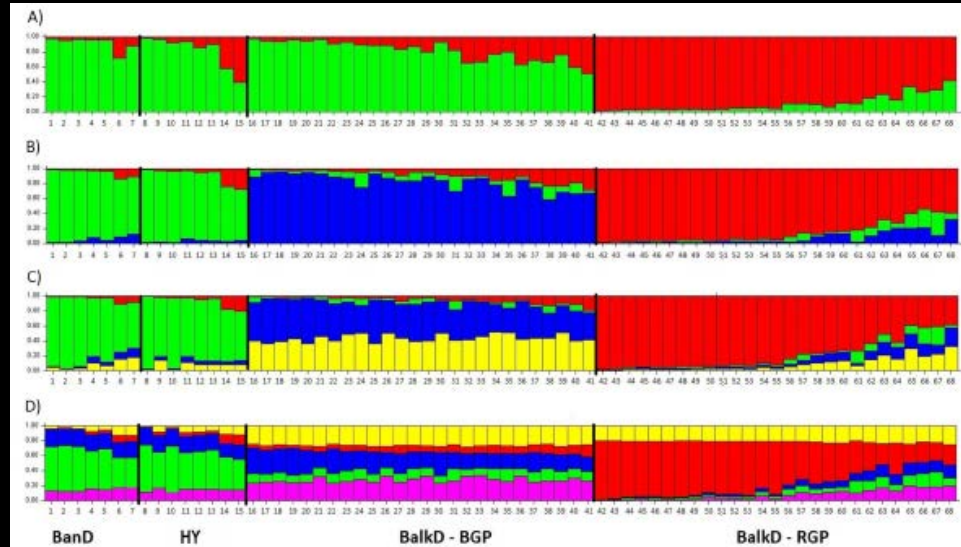
Definitivna potvrda nove rase “**Banatski magarac**” sa jedinstvenim morfološkim i genetičkim karakteristikama

Stanišić et al. (2020)
PeerJ

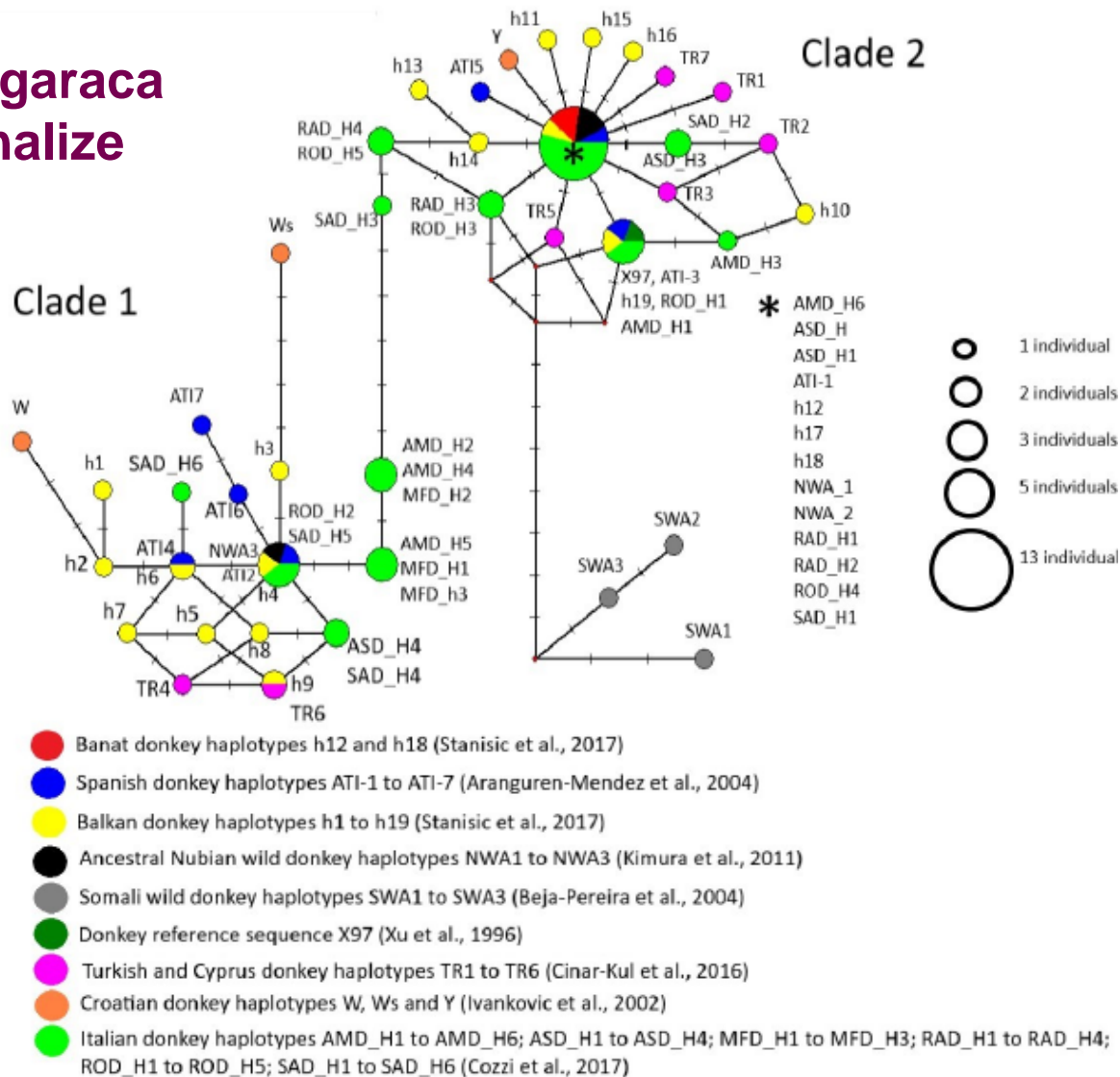
a i b) Banatski magarac

c) Hibrid Banatskog i Balkanskog magarca

d) Balkanski magarac

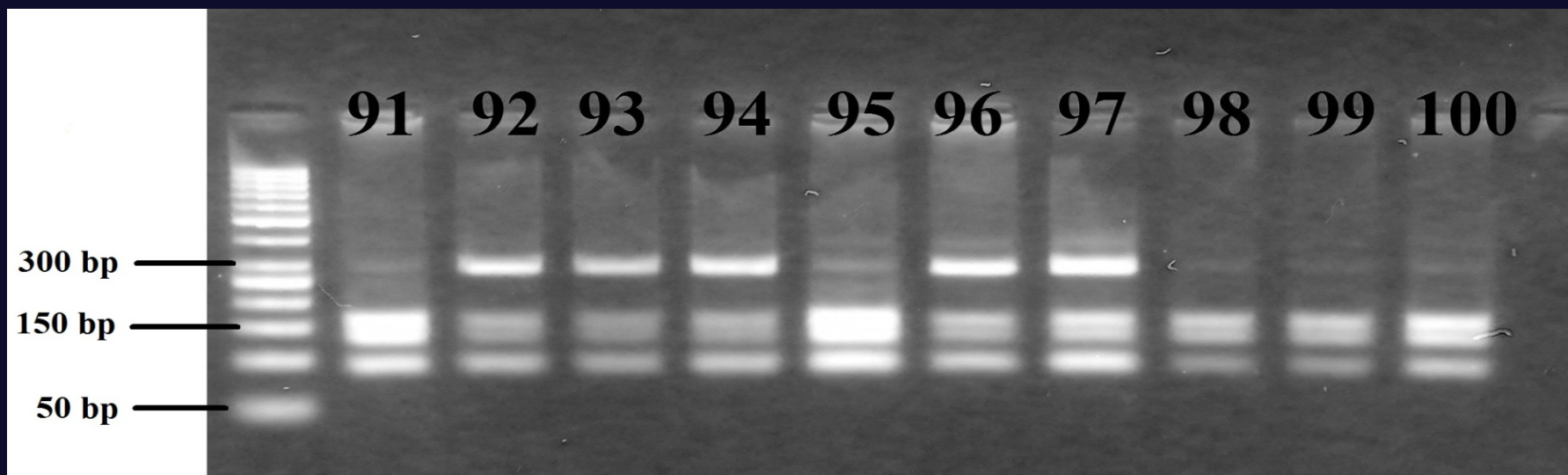


Srodnički odnosi između 71 haplotipa magaraca na osnovu analize mtDNK



6. ANALIZA GENSKIH LOKUSA VEZANIH ZA EKONOMSKI ZNAČAJNE PROIZVODNE KARAKTERISTIKE

PCR-RFLP analiza učestalosti alela za kazein

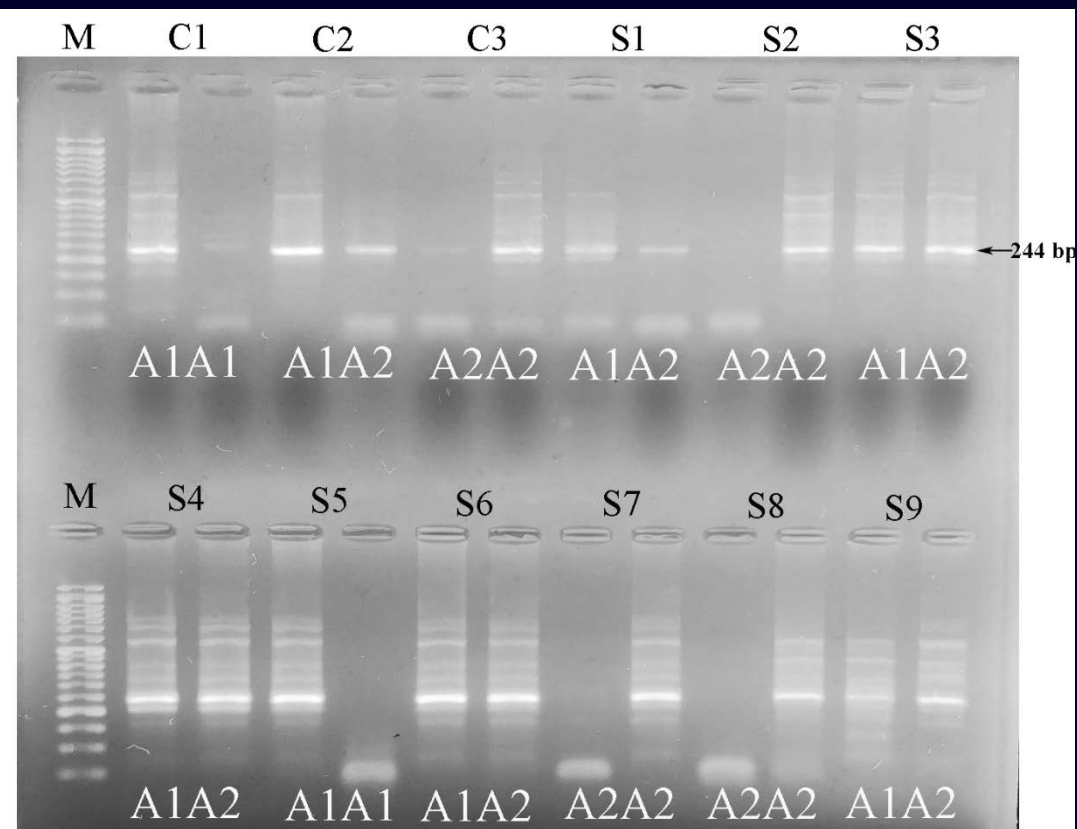


AA	AB	BB
	288	288
156	156	
132	132	
91	91	91

Maletić et al. (2016)

Determinacija genotipa za β kazein metodom *Allele Specific PCR* (AS-PCR)

radi procene
povezanosti genotipa
krave i karakteristika
mleka



Rezultati *AS-PCR* na 2% agaroznom gelu.

M-DNK marker od 50 bp;

C1 – kontrola - genotip A1A1;

C2 – kontrola - genotip A1A2;

C3 – kontrola - genotip A2A2;

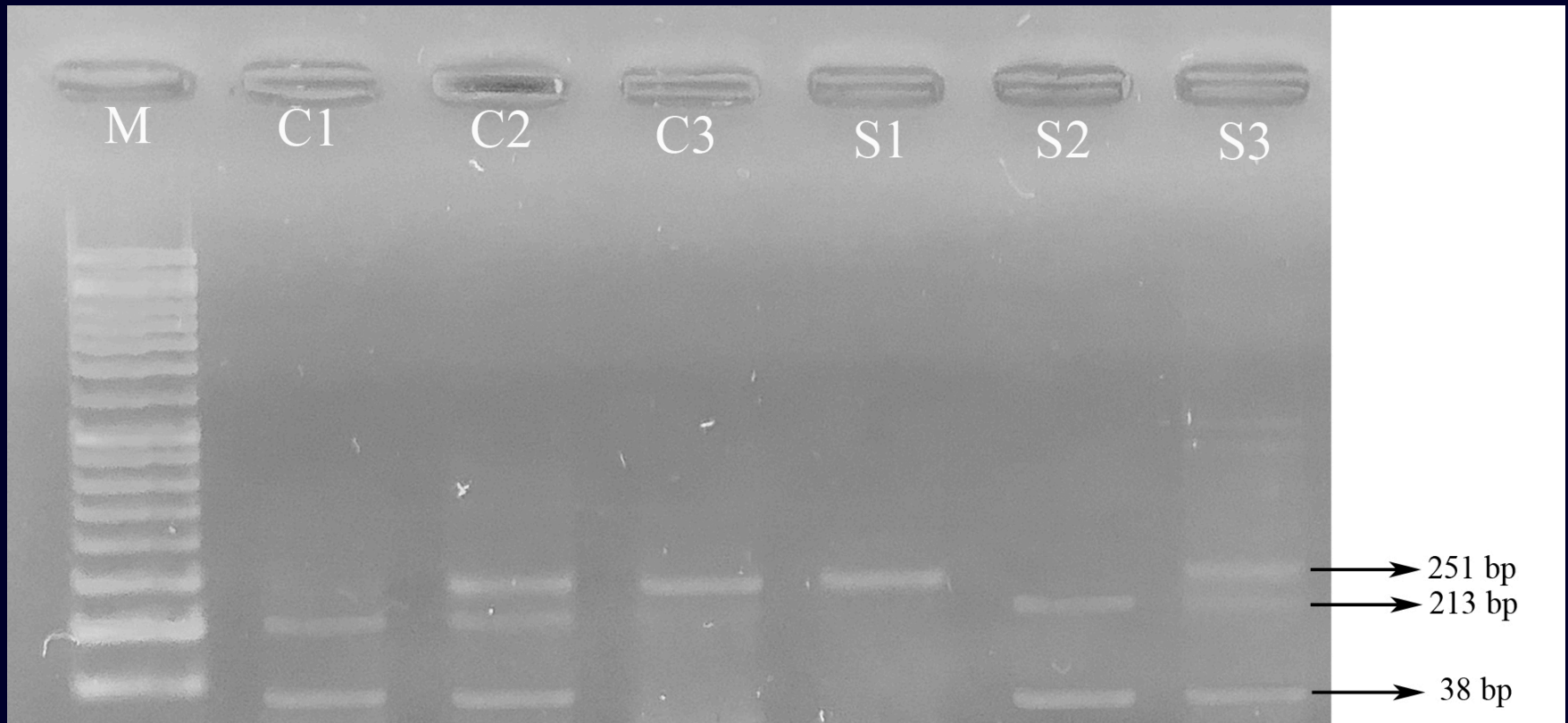
Uzorak S5 - genotip A1A1;

Uzorci S1, S3, S4, S6, S9 - genotip A1A2;

Uzorci S2, S7, S8 - genotip A2A2

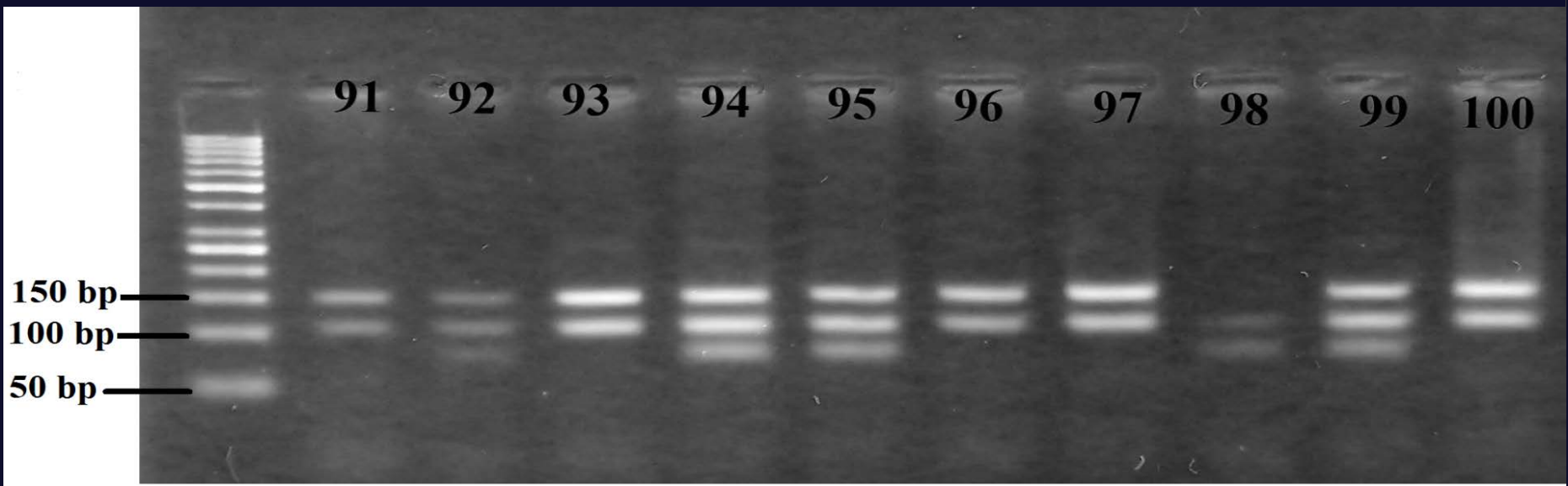


Determinacija genotipa za β kazein metodom RFLP-PCR



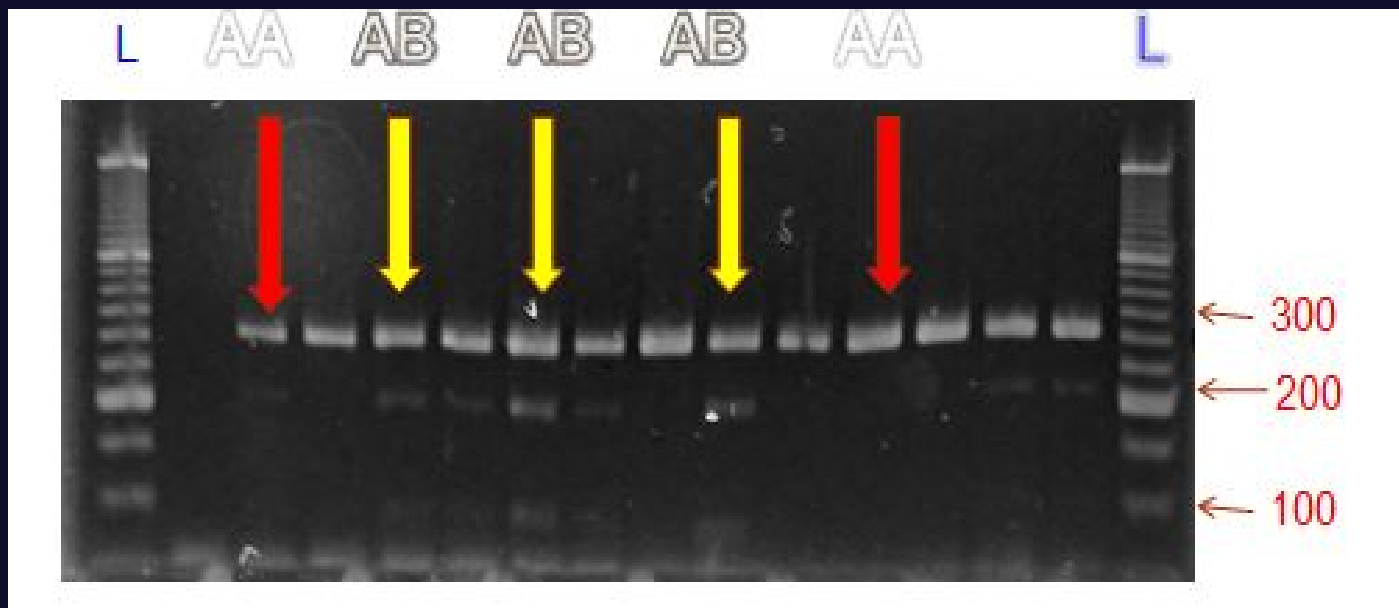
M – ladder (100 bp);
C1 – kontrola - genotip A1A1;
C2 – kontrola - genotip A1A2;
C3 – kontrola - genotip A2A2;
S1, S2 i S3 – uzorci

PCR-RFLP analiza učestalosti alela za laktoglobulin



AA	AB	BB
144	144	
108	108	108
	74	74
	70	70

PCR-RFLP analiza alelnog polimorfizma za laktoferin gen

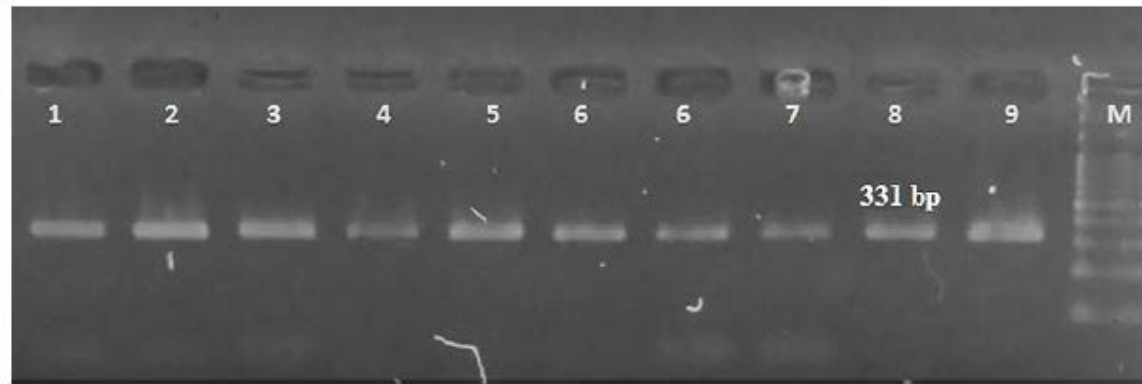


AA	AB	BB
301	301	
	201	201
	100	100

Maletić et al. (2013)
Acta Veterinaria

Analiza polimorfizma gena za leptin i procena povezanosti genotipa i karakteristika mleka kod goveda rase Buša i hibrida Buše i Podolac rase

Rezultati analize polimorfizma marker gena A59V kod Buša goveda

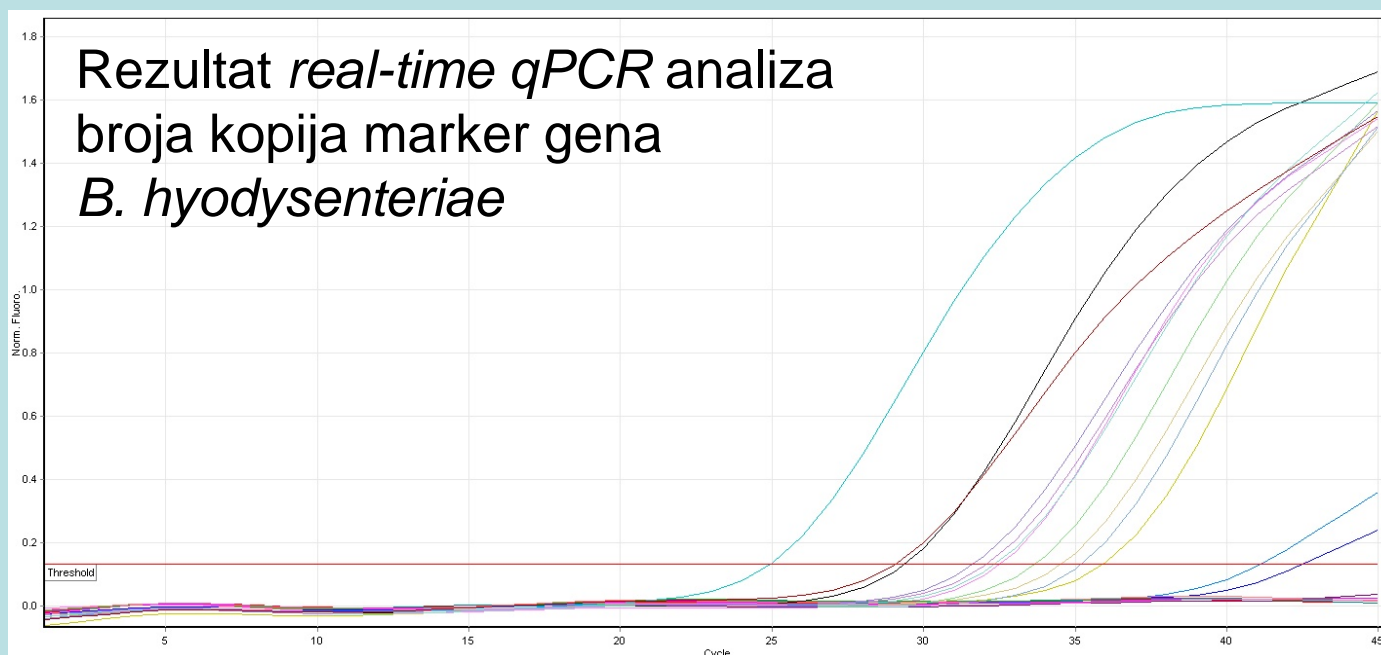


Rezultati analize polimorfizma marker gena SAU3AI kod Buša goveda i hibrida Buše i Podolca

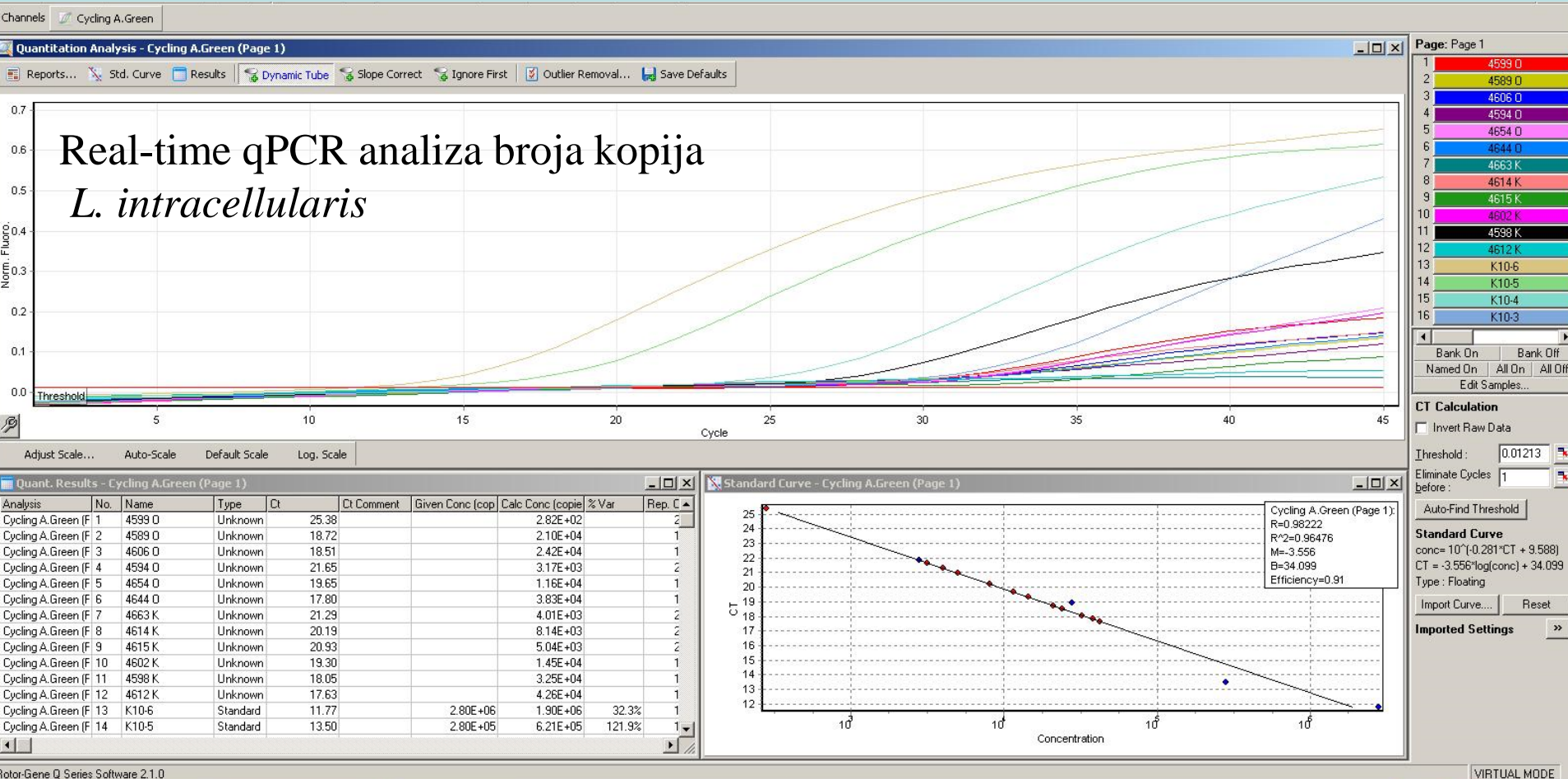
Breed	Genotype			
	AA		AB	
	No.	%	No.	%
Busha	28	77.78	8	22.22
Half-breed	8	80.00	2	20.00
Total	36	78.26	10	21.74

7. PROCENA EFEKTA PATOGENA, PESTICIDA, LEKOVA I DIJETARNIH SUPLEMENATA

Ispitivanje efikasnosti biljnog preparata na stepen infekcije bakterijom *Brachyspira hyodysenteriae* kod svinja sa dizenterijom



Ispitivanje efikasnosti biljnog preparata na stepen infekcije bakterijom *Lawsonia intracellularis* kod svinja sa proliferativnom enteropatijom



Prikaz rezultata kvantifikacije gen kopija bakterije *L. intracellularis*

Drašković et al. (2018) *Preventive Veterinary Medicine*

Ispitivanje efikasnosti oralno aplikovanog fluralanera u tretmanu generalizovane demodikoze kod pasa

Klinička slika pre tretmana i 56 dana nakon tretmana



Fig. 1 Multiple photos of a dog with generalized demodicosis showing the clinical condition on a day 0 and b day 56 following fluralaner treatment

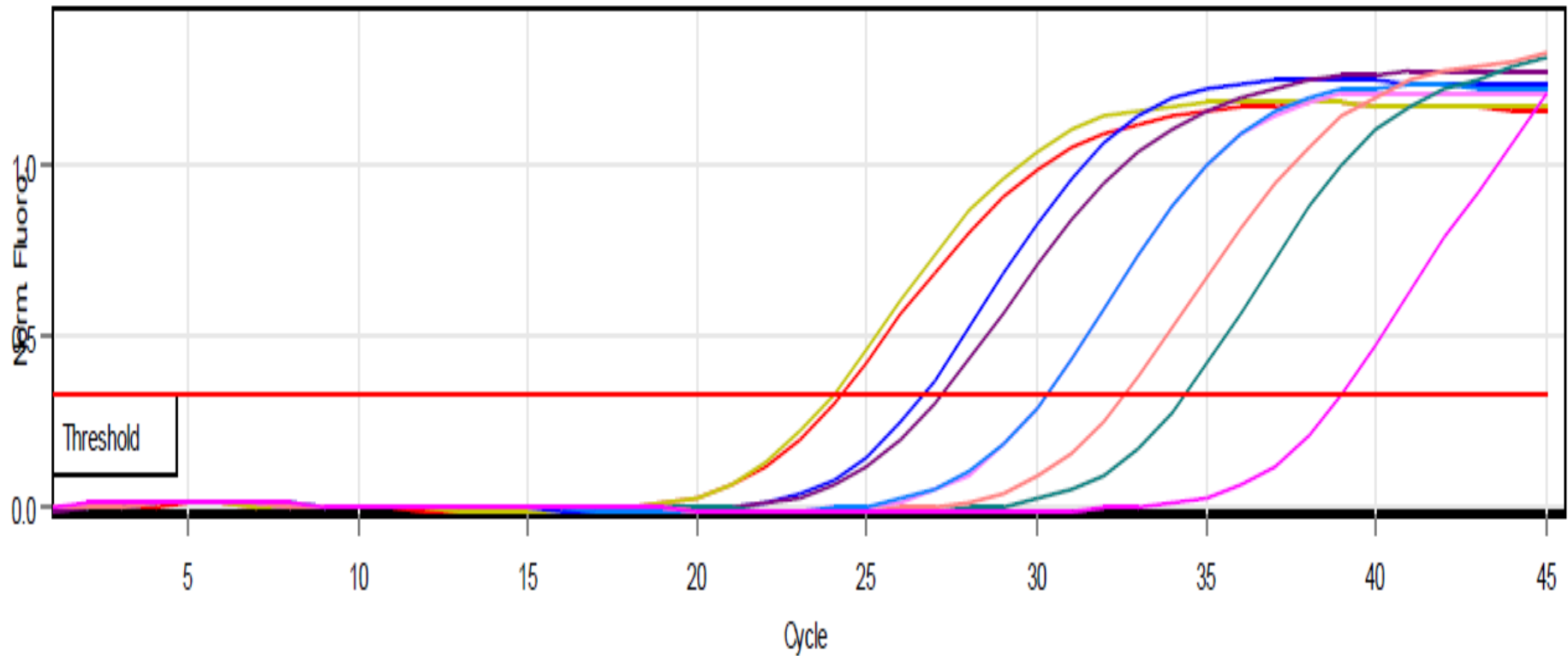
Ct vrednost pre tretmana i 28, 56, 84 i 112 dana nakon tretmana (*real-time* PCR)

Table 2 qPCR median cycle threshold (Ct) values with interquartile ranges (IQR) for *Demodex* mite DNA in samples from dogs with generalized demodicosis treated with fluralaner on day 0, 28, 56, 84 and 112

Sample	Median Ct (IQR)
Sampled on day 0	21.3 (18.9–23.1)
Sampled on day 28	23.6 (21.7–24.6)
Sampled on day 56	25.8 (24.2–28.1)
Sampled on day 84	28.2 (26.0–29.8)
Sampled on day 112	30.7 (28.4–31.4)
Undiluted control	23.4 (23.4–23.5)
10× diluted control	26.5 (26.4–26.6)
100× diluted control	29.7 (29.5–30.1)

Djurić et al. (2019)
Parasites & Vectors

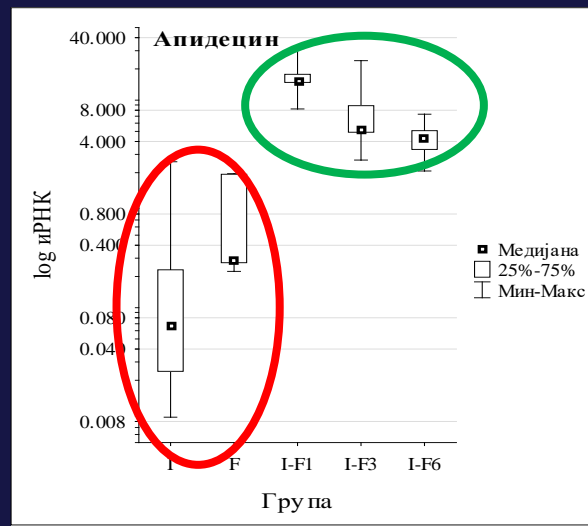
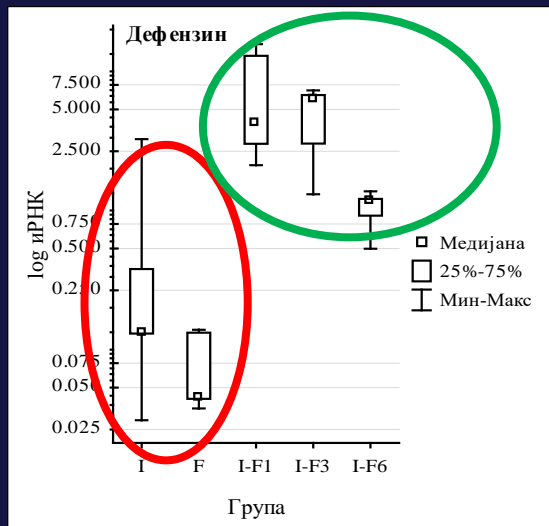
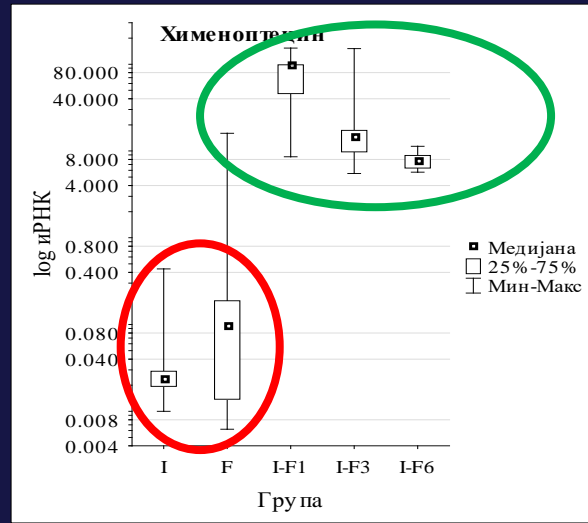
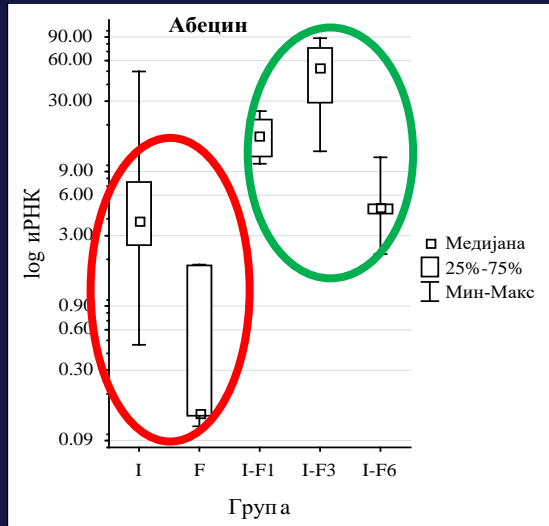
Analiza ekspresije gena za imune peptide u funkciji procene efekata pesticida, farmaka i suplemenata na pčele



Glavinić et al. (2019) *Peer J*

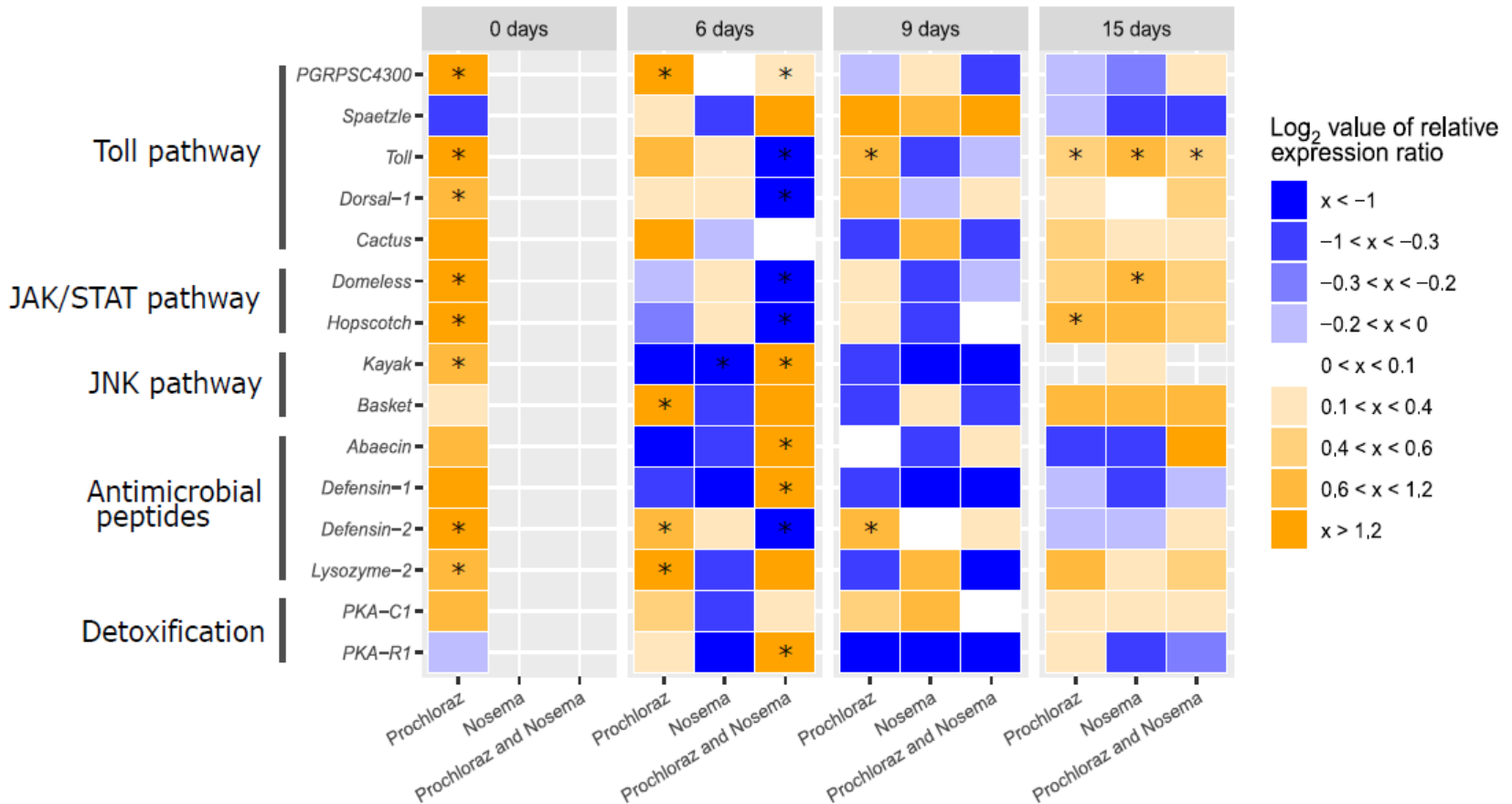
Tesovnik et al. (2020) *Environmental Pollution*

Ispitivanje efikasnosti dijetarnog suplementa u prevenciji imunosupresije pčela analizom ekspresije imunogena

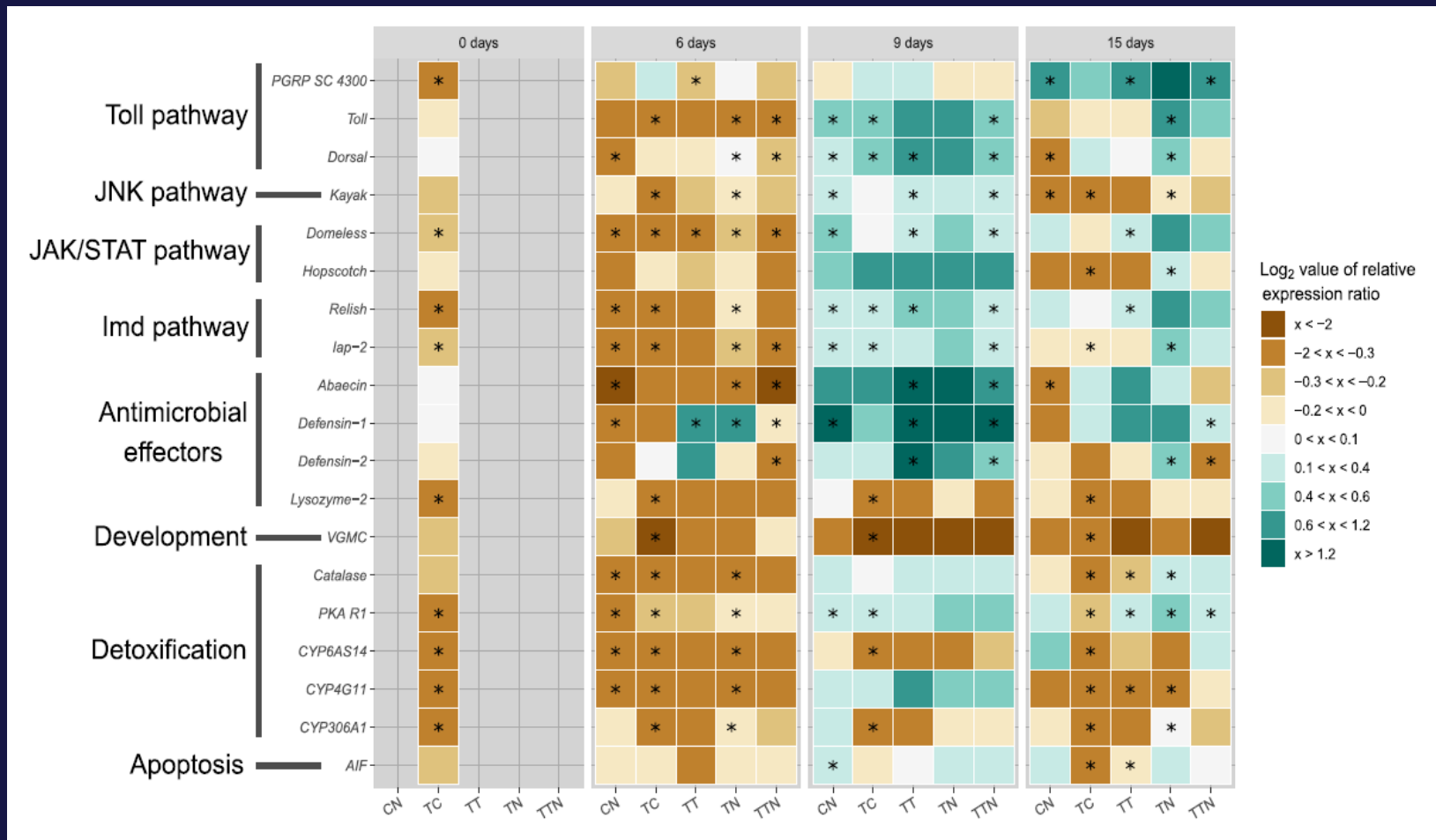


Glavinić et al. (2017)
Plos One

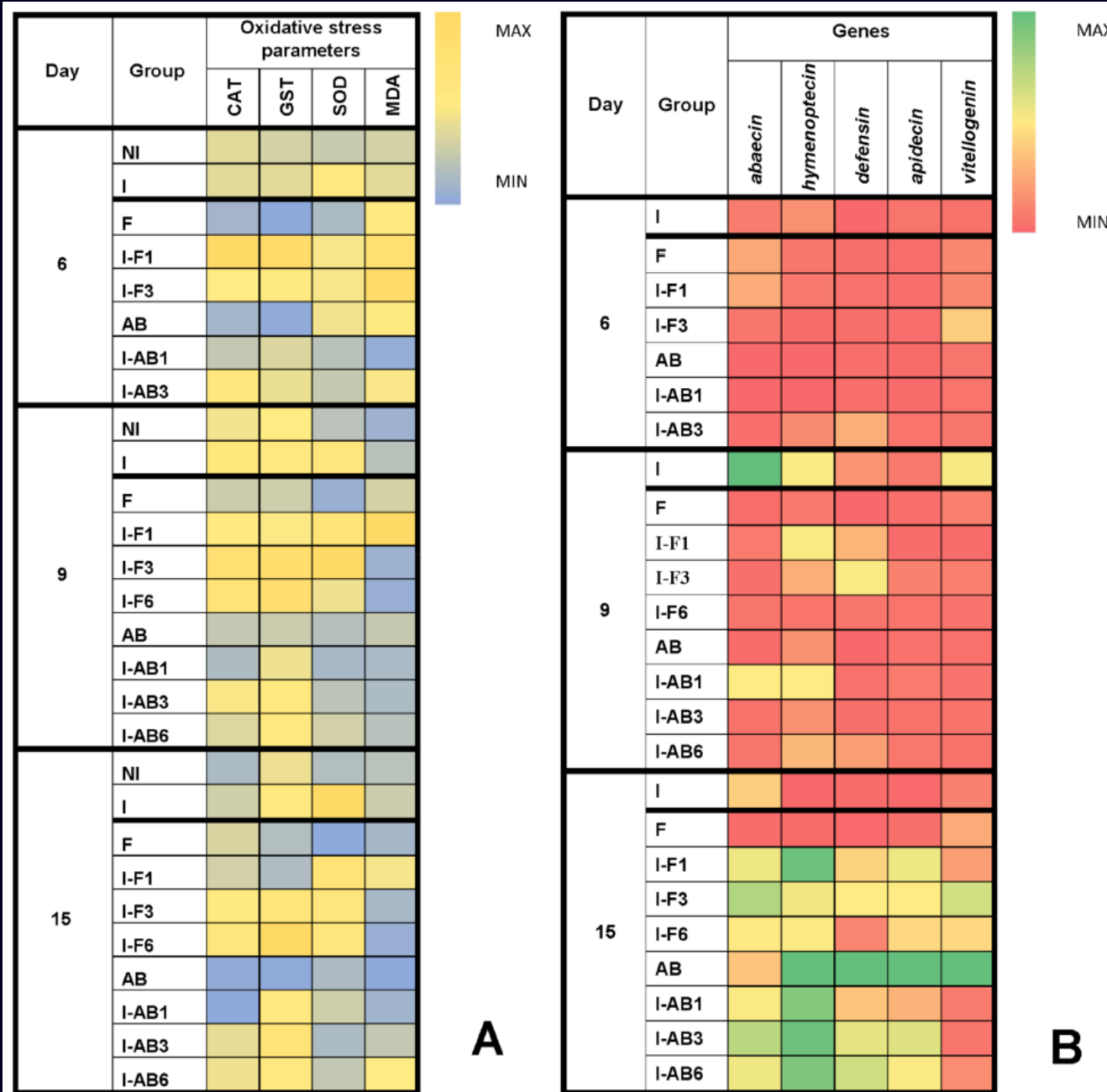
Procena štetnog efekta pesticide (prochloraza) i parazita *Nosema ceranae* na imunitet pčela analizom ekspresije imunogena



Procena štetnog efekta pesticide (tiametoksama) i parazita *Nosema ceranae* na imunitet pčela analizom ekspresije imunogena



Tesovnik et al. (2020)
Environmental Pollution



Parametri oksidativnog stresa i ekspresija imuno-gena kod pčela nakon tretmana fumagilinom i ekstraktom *Agaricus blazei*

Glavinic et al. (2021) *Insects*

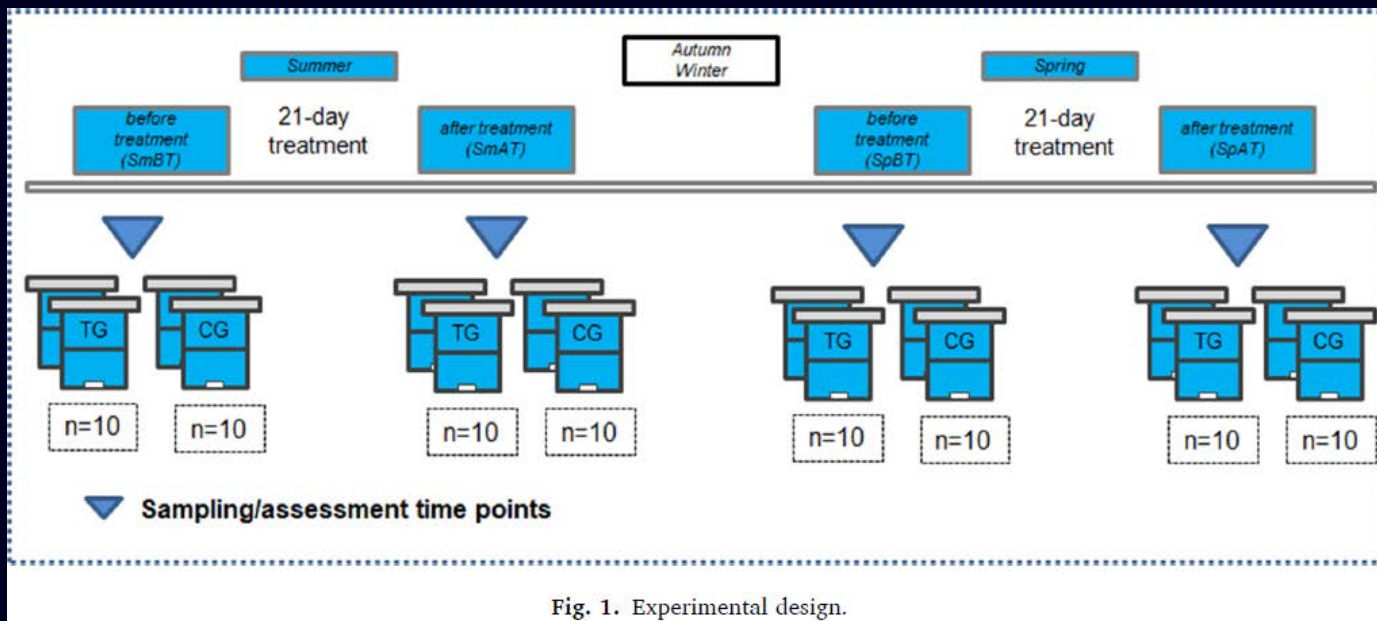


Fig. 1. Experimental design.

Efekat suplementa B+ na pčele potvrđen na osnovu jačine pčelinjih zajednica, prevencije nutritivnog stresa i povećanog uspeha pčela u borbi protiv ekto- i endo-parazita.

Jovanovic et al. (2021)
Preventive Veterinary Medicine

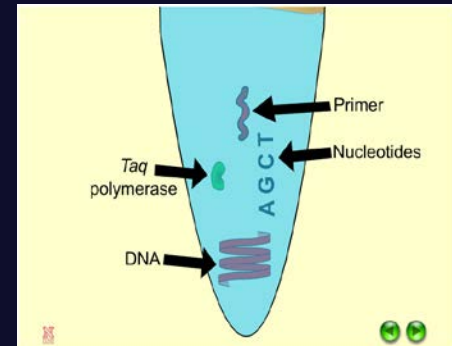
Table 1

Primers used in research.

Primer description	Primer sequences	References
Housekeeping gene (β -actin)	F: TTGTATGCCAACACTGTCCTTT R: TGGCGGATGATCTTAATTT	Simone et al., 2009
ABPV	F: TCCTATATCGACGACGAAAGACAA R: GCGCTTTAATTCATCCAATTGA	Chantawannakul et al., 2006
CBPV	F: CGCAAGTACGCCTTGATAAAGAAC R: ACTACTAGAACTCGTCGCTTGG	Blanchard et al., 2007
DWV	F: CCTGGACAAGGTCTCGGTAGAA R: ATTCAGGACCCACCCAAAT	Chantawannakul et al., 2006
SBV	F: AAGTTGGAGGCGGYATTTG R: CAAATGTCTTCTTACDAGAAGYAAGGATTG F: GGGGGCATGTCTTTGACGTACTATGTA	Chantawannakul et al., 2006
<i>N. ceranae</i>	R: GGGGGCGTTTAAAATGTGAAACAACATATG	Martín-Hernández et al., 2007
<i>N. apis</i>	F: CGGCGACGATGTGATATGAAAATATTAA R: CCCGGTCATTCTCAAACAAAAACCG	Martín-Hernández et al., 2007

8. FORENZIČKE ANALIZE

Putem PCR amplifikacije uz korišćenje *species* – specifičnih prajmera omogućena je brza i precizna analiza velikog broja forenzičkih uzoraka u cilju određivanja vrste životinje od koje uzorak potiče



**Primena PCR dijagnostike u forenzičke svrhe
olakšava rad lovačkih udruženja
u kontroli odstrela (borbi protiv krivolova)
i zaštiti brojnog stanja divljači**

Analiza forenzičkih uzoraka u cilju određivanja vrste životinje od koje uzorak potiče

Species-specifični prajmeri koji se mogu koristiti za identifikaciju velikog broja vrsta papkara

Conserved forward primer

12S-FW 5'- GGTAATCTCGTGCCAGCCA -3'

Conserved reverse primer

12S-REV 5'- TCCAGTATGCTTACCTTGTTACGAC -3'

720bp

Specific primers Srndać (*Capreolus capreolus*)

12SCC-FW 5'- TGAAAATAGATAACGAAAGTAGCTTTGAACTA -3'

175bp

Specific primers Evropski jelen (*Cervus elaphus*)

12SCE-FW 5'- CAAAAACATATAACGAAAGTAACTTTCCGACC -3'

175bp

Specific primers Jelen lopatar (*Dama dama*)

12SDD-FW 5'- TAAACAACGAAGGTAACCTTATCG -3'

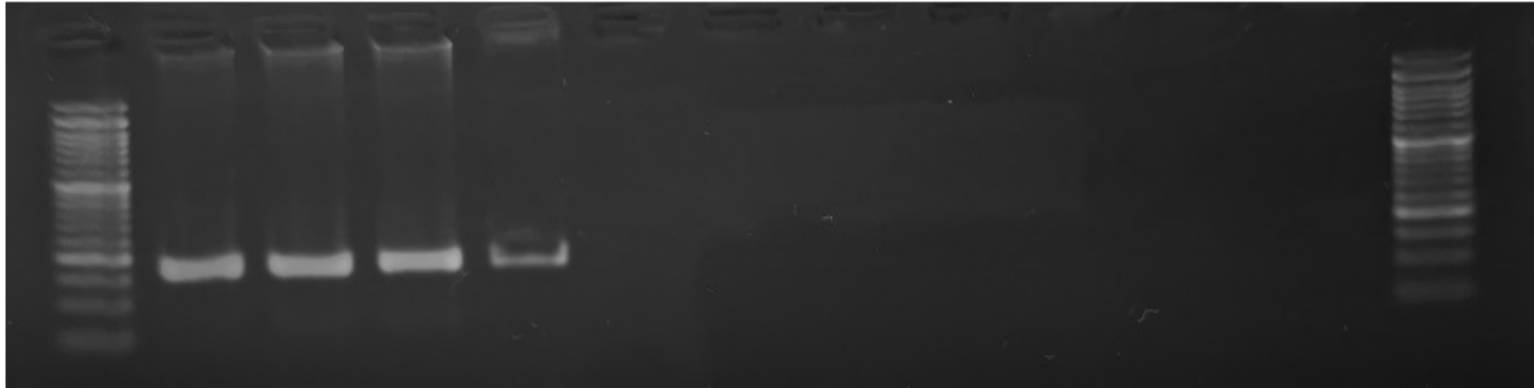
169bp

Reverse primer - ZAJEDNIČKI ZA SVE TRI VRSTE

12SCERV-REV 5'- AAAGCACCGCCAAGTCCTT -3'

Rezultati analize forenzičkih uzoraka mesa zaplenjenih zbog sumnje na krivolov u cilju određivanja vrste ubijene životinje

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 M



Elektroforetski gel PCR produkata:

M – marker; 1 – pozitivna kontrola Evropski jelen;

2, 5 i 8 – uzorak 2001; 3, 6 i 9 – uzorak 2002; 4, 7 i 10 – uzorak 2003;

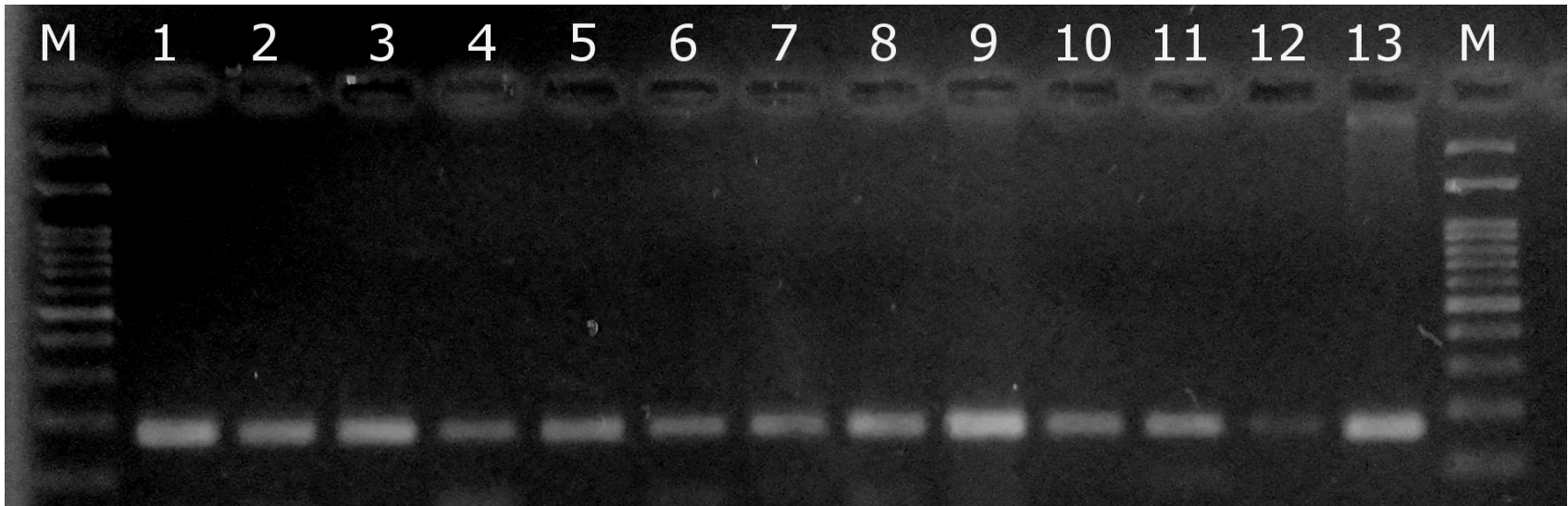
11 – negativna kontrola.

species-specifični prajmeri za evropskog jelena (*Cervus elaphus*) korišćeni su za uzorke 1, 2, 3 i 4;

species-specifični prajmeri za srnu (*Capreolus capreolus*) korišćeni su za uzorke 5, 6 i 7;

species-specifični prajmeri za jelena lopatara (*Dama dama*) korišćeni su za uzorke 8, 9 i 10.

Potvrda uspešnosti identifikacije različitih vrsta divljači iz različitih tipova forenzičkih uzoraka



M – ladder;

2 – dlaka (evropski jelen);

4 – dlaka (jelen lopatar);

6 – dlaka (srna); 7 - krv (evropski jelen);

8 – krv (jelen lopatar); 9 – krv (srna);

10 – štavljena koža (evropski jelen);

11 – feces (evropski jelen);

12 – feces (jelen lopatar);

13 – slezina (evropski jelen)

1 – pozitivna kontrola za evropskog jelena;

3 – pozitivna kontrola za jelena lopatara;

5 – pozitivna kontrola za srnu;

Rezultati real-time PCR amplifikacije koji ukazuju da uspeh analize nije direktno proporcionalan broju dlaka iz koga je izolovana DNK

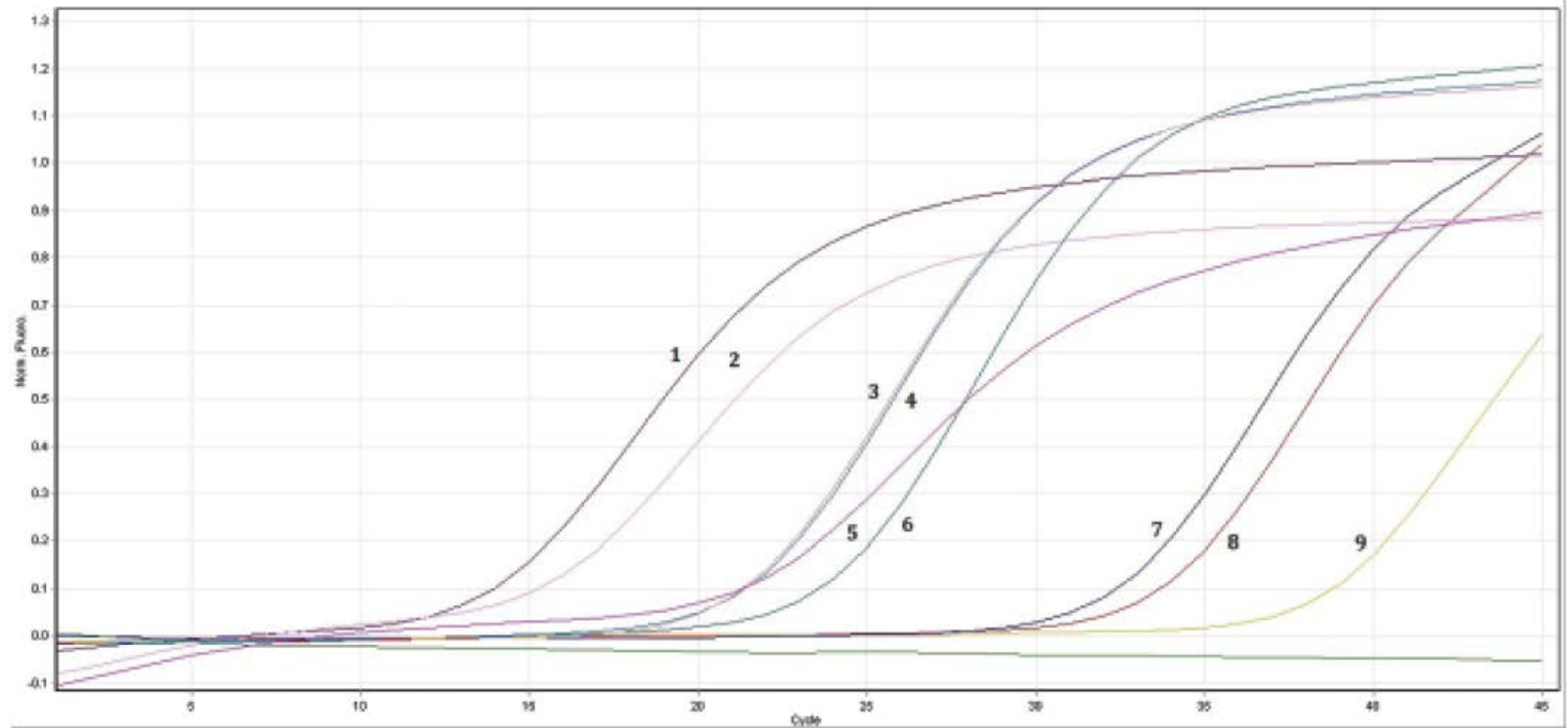
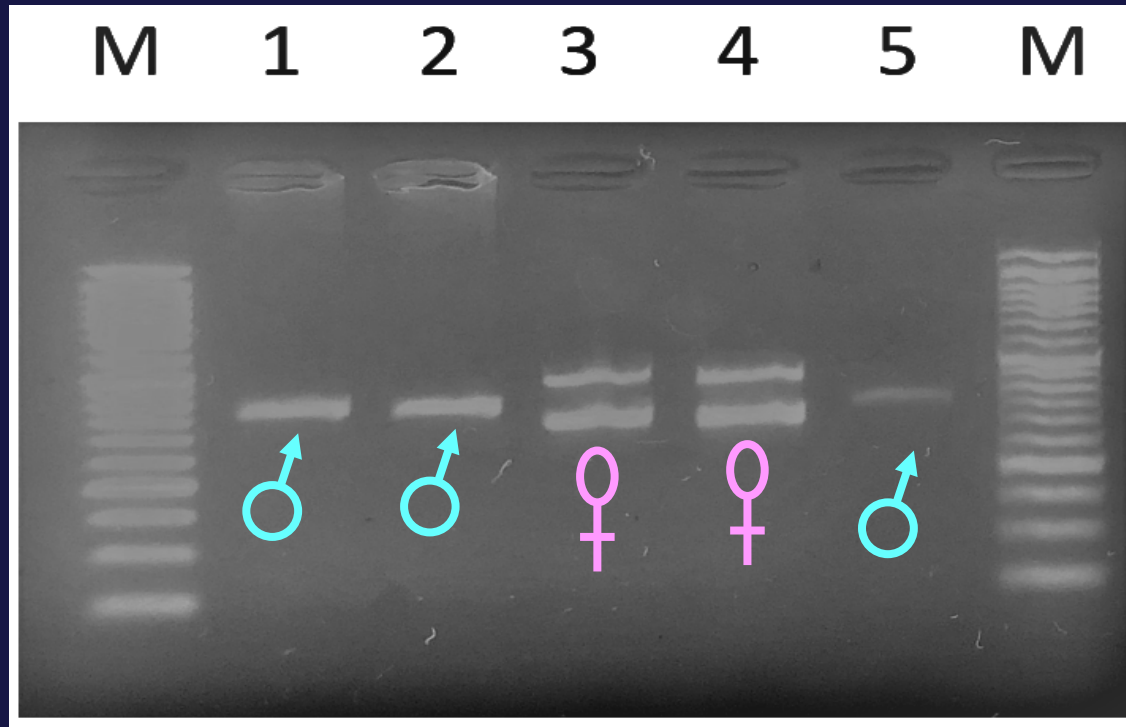


Figure 2. Amplification plots of samples tested on real-time PCR (1, 5, 7 – samples with one hair; 4, 6, 9 – samples with five hairs; 2, 3, 8 – samples with ten hairs)

Analizom forenzičkih uzoraka mesa može se odrediti i pol životinje od koje meso potiče



M – marker;

1 – uzorak 2001;

2 – uzorak 2002,

3, 4 – pozitivna kontrola (mužjak),

5 – uzorak 2003

Utvrđivanje pola životinje od koje potiče meso

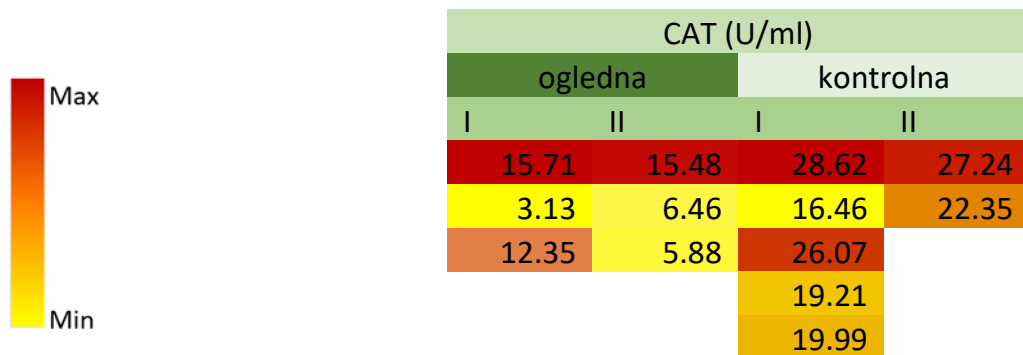
Goveđe meso od muških jedinki je komercijalno vrednije od mesa poreklom od ženskih jedinki, jer se ženke koriste za reprodukciju i obično se kolju tek kada ostare, odnosno kada je povećana dužina i tvrdoća mišićnih vlakana, a nivo kolagena veći, što rezultira žilavim mesom nižeg kvaliteta i, samim tim, niže komercijalne vrednosti.

Određivanje pola fetusa goveda je značajno jer se na međunarodnom tržištu u okviru EU , prilikom uvoza i izvoza, goveđe meso poreklom od muških jedinki plaća 130 Eura / 100 kg mesa više nego meso poreklom od ženskih jedinki.

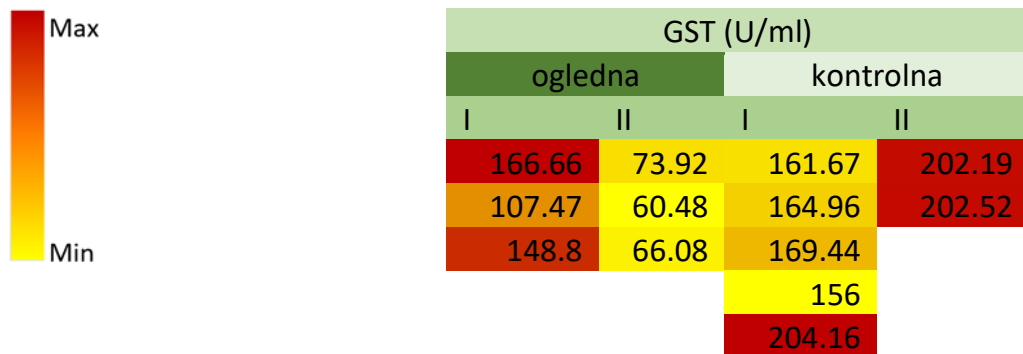
OGLED SA ODBIJENIM PRSADIMA UZ KORIŠĆENJE MULTIFUNKCIONALNOG ADITIVA NA BAZI VISOKO AKTIVNOG ZnO

OGLEDNA GRUPA		KONTROLNA GRUPA	
Uzorak	TCS	Uzorak	TCS
1	65	1	96
2	78	2	105
3	89	3	161
/	/	4	134

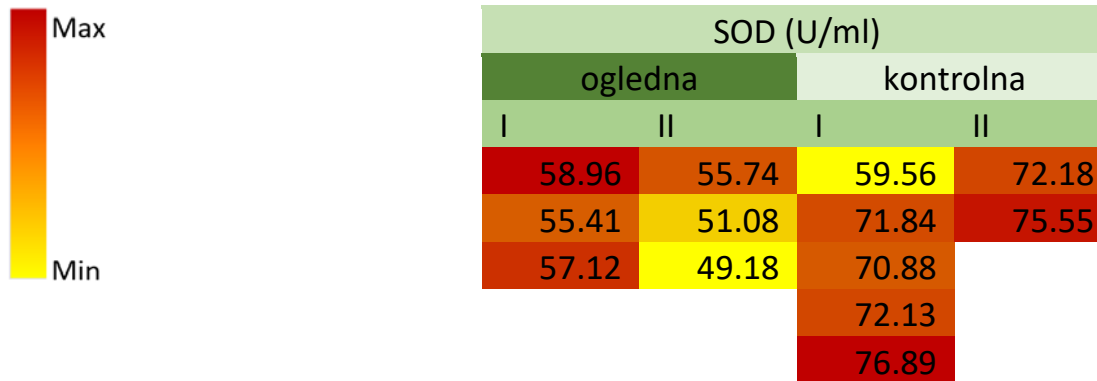
TCS vrednosti analiziranih uzoraka. Veći TCS govori o većem oštećenju DNK



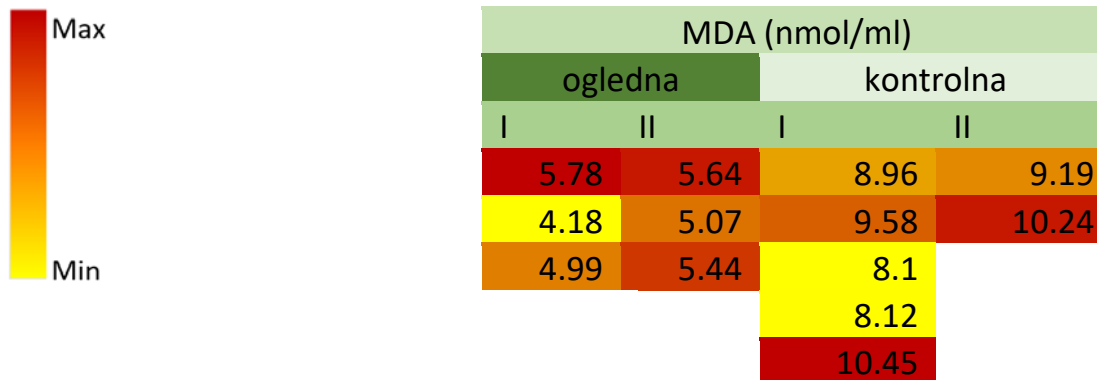
Slika 1: Heat map sa dobijenim vrednostima za aktivnost (U/ml) CAT (Katalaze)



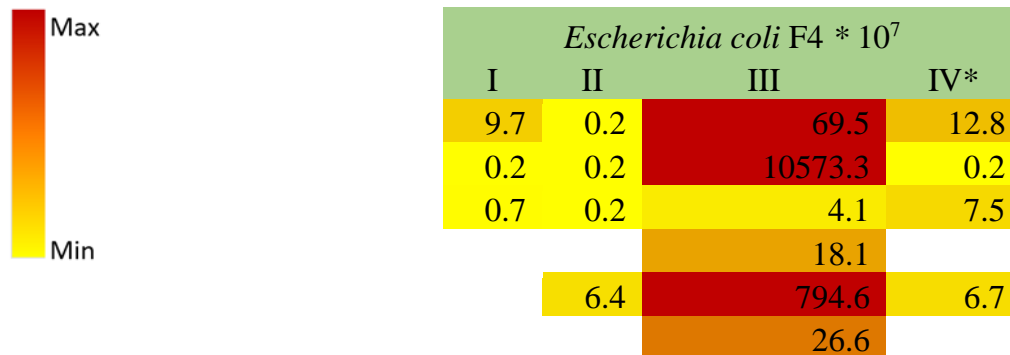
Slika 2: Heat map sa dobijenim vrednostima za aktivnost (U/ml) GST (Glutation S transferaze)



Slika 3: Heat map sa dobijenim vrednostima za aktivnost (U/ml) SOD (Superoksid dismutaza)

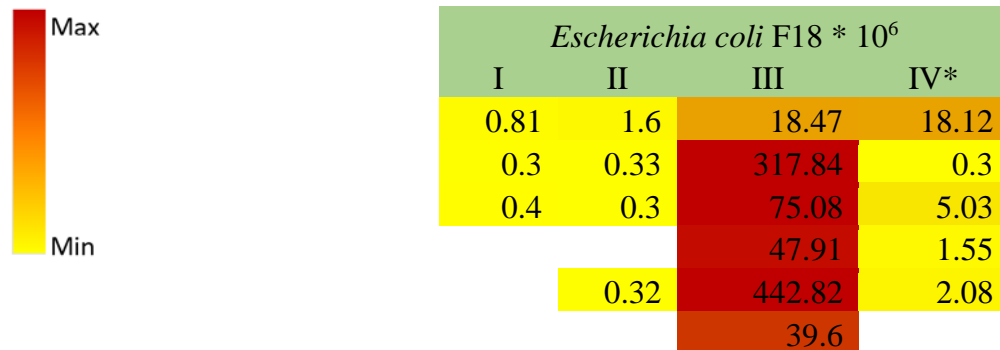


Slika 4: Heat map sa dobijenim vrednostima za koncentraciju (nmol/ml) MDA (Malondialdehida)



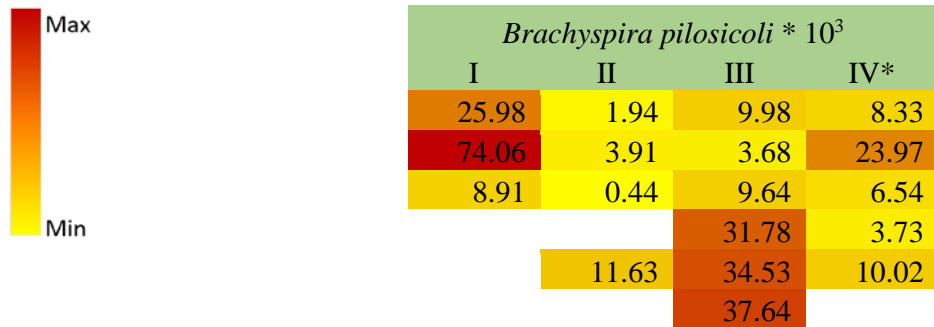
Slika 1: Heat map sa dobijenim vrednostima za *Escherichia coli* F4 * 10⁷ ng/μl

* zbog uginuća prasića poslednje (IV) uzorkovanje je izvršeno od drugih 5 jedinki



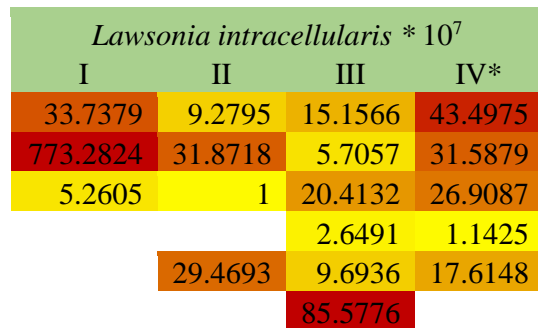
Slika 2: Heat map sa dobijenim vrednostima za *Escherichia coli* F18 * 10⁶ ng/μl

* zbog uginuća prasića poslednje (IV) uzorkovanje je izvršeno od drugih 5 jedinki



Slika 3: Heat map sa dobijenim vrednostima za *Brachyspira pilosicoli* * 10³ ng/μl

* zbog uginuća prasića poslednje (IV) uzorkovanje je izvršeno od drugih 5 jedinki



Slika 4: Heat map sa dobijenim vrednostima za *Lawsonia intracellularis* * 10⁷ ng/μl

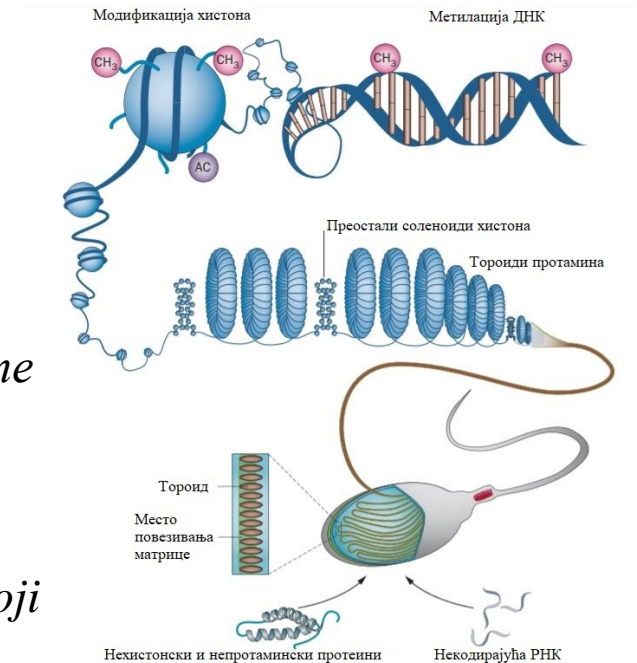
* zbog uginuća prasića poslednje (IV) uzorkovanje je izvršeno od drugih 5 jedinki

Утврђивање нивоа експресије епигенетски значајних гена

- Епигенетика обухвата наследне промене фенотипа које нису зависне од примарне ДНК секвенце већ од окружења
- **Епигенетске промене можемо пратити посредно методом реверзне транскрипције**
- ***qReal-Time PCR* анализа експресије епигенетски везаних гена у сперматозоидима**

Епигенетски значајни geni utiču na „pakovanje“ ДНК u spermatozoidima, pri čemu su ovde najznačajniji protamine koji u najvećem procentu (oko 85 %) zamenjuju histone u jedru spermatozoidea.

Takođe pratimo gene za ДНК metiltransferaze – enzime koji obavljaju metilaciju ДНК molekula.



Dnmt3a, Dnmt3b, Jhdm2a, Kat8, PRM1, PRM2, IGF2, CD45, c-Kit, E-cadherin GAPDH (Zeng u cap., 2014)