Genotipiziranje epitelnih stanica iz konjskog izmeta izolacijom proizvoda polimerazne lančane reakcije

**Cilj** Pokazati da primjena polimerazne lančane reakcije(prema engl, *polymerase chain reaction*, PCR) modificirane za amplifikaciju DNA uzoraka s malim brojem kopija, tj. izolaciju PCR proizvoda (IPCRp), predstavlja napredak u dobivanju genotipova iz fekalne DNA u odnosu na ranije korištene genotipizacijske postupke.

**Postupci** Ekstrahirali smo DNA iz konjskog izmeta modificiranim protokolom *Qiagen DNA Stool Mini Kit*. Nakon ekstrakcije odredili smo DNA genotipove IPCRp-om, što je najmoćniji postupak za PCR amplifikaciju. Lance smo označili biotinom i amplificirali multipleks priborom temeljenim na IPCRp-u te ih stavili su na pločice omotane streptavidinom, s kojih smo isprali sve osim obojene ciljne sekvence, eliminirajući sav pozadinski šum. Nakon toga smo ih otpustili i genotipizirali u konfiguraciji jednog lanca.

**Rezultati** Multipleks priborom temeljenim na IPCRp-u (6 lokusa) odredili smo pune profile genotipova konjske DNA, tj. profile sa svih 6 lokusa, u 87% uzoraka koje smo prikupili iz svježeg izmeta te djelomične profile (s 1 do 5 lokusa) u 13% uzoraka, uz ukupnu stopu genotipiziranja od 100%.

**Zaključak** Amplifikacijska metoda IPCRp, u kombinaciji s ekstrakcijom uz pomoć *Qiagen DNA Stool Mini Kit*-a, može maksimizirati vjerojatnost dobivanja DNA genotipova iz konjskog izmeta.