



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

TENTO PROJEKT JE SPOLUFINANCOVÁN EVROPSKÝM SOCIÁLNÍM FONDĚM
A STÁTNÍM ROZPOČTEM ČESKÉ REPUBLIKY

Bi9310 – Úvod do kvantitativní PCR

QRT-PCR – ANALÝZA EXPRESE A VLIV INHIBITORŮ NA PRŮBĚH PCR

Skupina mRNA – U937/U937 TPA

Cíl: rozdíl v expresi *cycD1* v buňkách ošetřených TPA vs. neošetřené buňky
qPCR :

cDNA do reakce 50ng

Triplikáty + NTC, NoRT kontroly

Složení PCR jako v případě kalibračních křivek.

Skupina mRNA – zdravá mozková tkáň vs. nádorová tkáň

Cíl: rozdíl v expresi *cycD1* v buňkách zdravé mozkové tkáně vs. nádorové tkáň

cDNA do reakce – upřesnění podle výsledků kalibračních křivek (složení PCR reakce shodné)

Triplikáty + NTC

Skupina SYBR green - inhibitory

Cíl: Charakterizovat účinek EtOH, SDS a na průběh a efektivitu qPCR

Složení PCR shodné jako v případě optimalizace primerů - koncentrace primerů určena podle výsledků optimalizace

Kalibrační křivky: Sériové ředění

Ředící varianty: naředit tak, aby nanášený objem byl 2 μ l (s výjimkou 25ng)

25 ng (2,5 μ l)

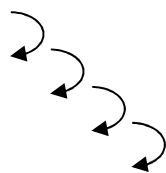
10 ng

1 ng

100pg

10pg

1pg



Na destičku připravit čtyři varianty kalibračních řad

1. kontrolní – bez ovlivnění
2. 1% EtOH (zásobní 100%)
3. 0,005% SDS (zásobní 10%)
4. 5% DMSO (zásobní 100%)