



## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

### **Bi9310 – Úvod do kvantitativní PCR** *18. - 21. ledna 2010*

#### *Den 3*

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

#### **Skupina 1:**

Cíl: najít rozdíl v expresi *cycD1* v buňkách ošetřených nebo neošetřených TPA.

cDNA do reakce – upřesnění podle výsledků kalibračních křivek

Každý vzorek v triplicátu + NO RNA (2x – jednou přidám vodu, jednou přidám NO RNA vzorek ze zpětné transkripce) a NO RT kontroly.

#### **Skupina 2:**

Skupina SYBR green – inhibitory

Cíl: Charakterizovat účinek EtOH a DMSO na průběh a efektivitu qPCR

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

Kalibrační křivky: Sériové ředění

Ředicí varianty: naředit tak, aby nanášený objem byl 2 $\mu$ l

100 ng (2 $\mu$ l)

10 ng

1 ng

100pg

10pg

1pg

Na destičku připravit tři varianty kalibračních řad:

1. kontrolní – bez ovlivnění

2. 2% EtOH (zásobní 100%) – na úkor vody v mastermixu

3. 5% DMSO (zásobní 100%) – na úkor vody v mastermixu



## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

### **Skupina 3:**

Cíl: najít rozdíl v expresi JUN v buňkách RPMI senzitivních či rezistentních vůči Velcade.

cDNA do reakce – upřesnění podle výsledků kalibračních křivek

Každý vzorek v triplikátu + NO RNA (2x – jednou přidám vodu, jednou přidám NO RNA vzorek ze zpětné transkripce) a NO RT kontroly.