



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

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

Bi9310 – Úvod do kvantitativní PCR

Den 3

Úkol č. 5: qRT-PCR analýza exprese a vliv inhibitorů na průběh PCR

Skupina 1 a 3:

Cíl: Najít rozdíl v expresi *cycD1* v buňkách ošetřených nebo neošetřených TPA, případně ATRA, a zjistit, zda přítomnost ethanolu ovlivňuje průběh PCR reakce.

cDNA do reakce – upřesnění podle výsledků kalibračních křivek.

Pracovat v duplexu = v jedné jamce je jak sonda pro *cycD1* (FAM), tak pro GAPDH (VIC).

Každý vzorek v triplikátu + NO RNA (přidám vodu) a NO RT kontroly.

Obdobně připravit 2 triplikáty s přidaným ethanolom na úkor vody – do jednoho triplikátu přidat 1 μ l a do druhého 0,5 μ l čistého ethanolu.

Skupina 2:

Skupina SYBR green

Cíl: Stanovit expresi GAPDH pomocí SYBR green a najít rozdíl v expresi *cycD1* v buňkách ošetřených nebo neošetřených Temozolomidem.

Složení SYBR green experimentu shodné jako v případě optimalizace primerů - koncentrace primerů určena podle výsledků optimalizace.

Zároveň obdobně jako v případě skupin 1 a 3 najít rozdíl v expresi *cycD1* v buňkách ošetřených nebo neošetřených Temozolomidem. Aplikovat 2 μ l neředěné cDNA na každou jamku.

Pracovat v duplexu = v jedné jamce je jak sonda pro *cycD1* (FAM), tak pro GAPDH (VIC).

Každý vzorek v triplikátu + NO RNA (přidám vodu) a NO RT kontroly.