

V tabulkách máte hodnoty Ct (bod přechodu křivky do exponenciální fáze) pro oba geny, ze kterých si spočítáte jejich míru exprese. Jelikož níže uvedené výpočty platí pouze pro srovnání referenčního genu (housekeeping) a vyšetřovaného genu (ten zde není), provedete výpočty alespoň pro porovnání exprese housekeep. genů vůči sobě.

Z Ct hodnot je na první pohled zřejmé, že GAPDH se v podstatě u všech exprimuje více než  $\beta$ -aktin. K tomu ještě využijete všechny 3 vzorce v upravené podobě (červeně). Do výrazu  $\Delta Ct$  testovaného vzorku dosadíte nejnižší hodnotu  $\Delta Ct$  v rámci vaší skupiny a do výrazu  $\Delta Ct$  kontrolního vzorku dáte svoji hodnotu  $\Delta Ct$  – vyjde vám záporné číslo, které dosadíte do vzorce pro R. Exponent bude kladný, protože  $\Delta \Delta Ct$  je záporné, tedy  $R = 2^{-(-\Delta \Delta Ct)}$ . Výsledné číslo pak udává kolikrát více se exprimuje GAPDH než  $\beta$ -aktin v rámci hodnot vaší skupiny.

Ten, kdo bude mít ve skupině nejnižší  $\Delta Ct$ , může do výsledků použít hodnoty někoho jiného se zmínkou, že jeho hodnota posloužila k výpočtu  $\Delta \Delta Ct$ .

Těm, kterým PCR nevyšla můžou k modelovému výpočtu použít hodnoty někoho jiného.

Snad je to trochu srozumitelné...jinak to udělat nejde, tak aspoň takto.

Pod tabulkama máte také fotky křivek obou genů.

Původní vzorec:

$$R = 2^{-\Delta \Delta Ct}$$

kde:

$$\Delta \Delta Ct = \Delta Ct_{\text{testovaného vzorku}} - \Delta Ct_{\text{kontrolního vzorku}}$$

$$\Delta Ct_{\text{testovaného vzorku}} = Ct_{\text{cílového (target) genu}} - Ct_{\text{housekeeping genu}}$$

Přizpůsobené vzorce:

$$R = 2^{-\Delta \Delta Ct}$$

kde:

$$\Delta \Delta Ct = \Delta Ct_{\text{nejnižší hodnota v rámci skupiny}} - \Delta Ct_{\text{vaše hodnoty}}$$

$$\Delta Ct = Ct_{\beta\text{-aktin}} - Ct_{\text{GAPDH}}$$

## Úterý

| Vzorek č. | $\beta$ -aktin (Ct) | GAPDH (Ct) |
|-----------|---------------------|------------|
| 1         | 43.50               | 33.49      |
| 2         | 37.33               | 36.05      |
| 3         | 31.05               | 29.49      |
| 4         | 33.75               | 30.00      |
| 5         | 31.32               | 29.04      |
| 6         | X                   | 35.21      |
| 7         | 33.13               | 30.24      |
| 8         | 37.36               | 28.01      |
| 9         | X                   | X          |
| 10        | X                   | X          |
| 11        | 32.30               | 28.53      |
| 12        | 37.80               | 31.86      |
| 13        | 30.46               | 29.30      |
| 14        | 36.41               | 33.07      |

## Středa

| Vzorek č. | $\beta$ -aktin (Ct) | GAPDH (Ct) |
|-----------|---------------------|------------|
| 1         | 32.29               | 32.09      |
| 2         | 37.17               | 34.15      |
| 3         | 34.48               | 32.50      |
| 4         | X                   | X          |
| 5         | 41.40               | 37.67      |
| 6         | X                   | X          |
| 7         | 35.83               | 30.59      |
| 8         | 34.57               | 27.73      |
| 9         | 36.05               | 33.98      |
| 10        | 34.68               | 36.16      |
| 11        | X                   | 30.92      |

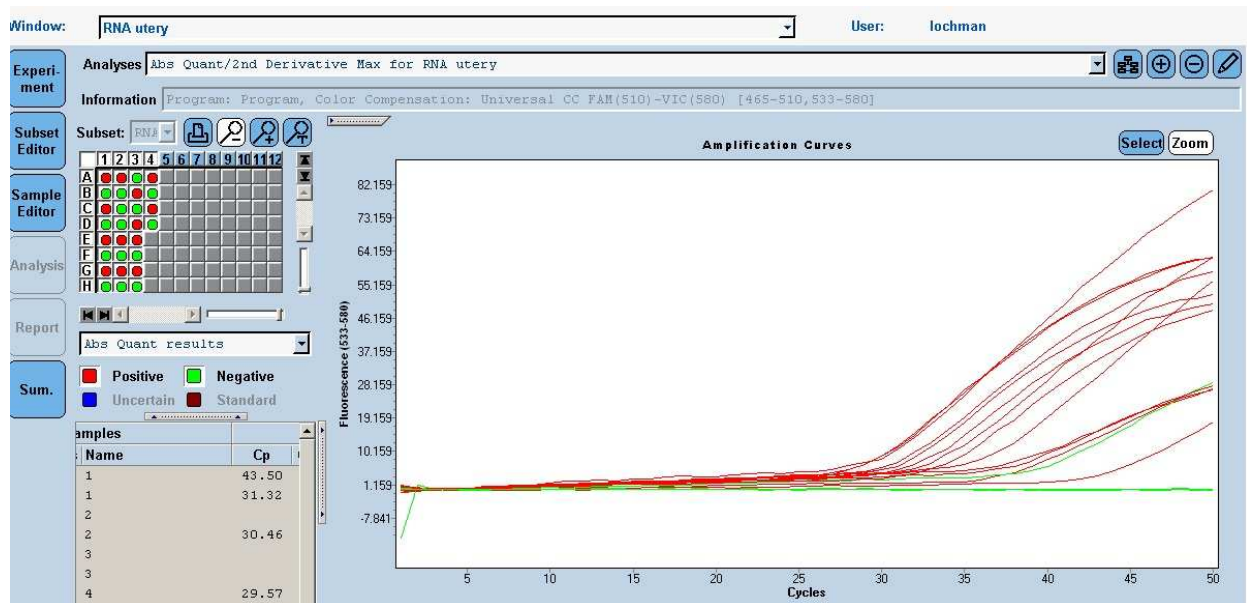
### Čtvrtek

| Vzorek č. | $\beta$ -aktin (Ct) | GAPDH (Ct) |
|-----------|---------------------|------------|
| 1         | 32.99               | 30.91      |
| 2         | 38.78               | 34.94      |
| 3         | 31.23               | 29.40      |
| 4         | 35.38               | 31.50      |
| 5         | 32.79               | 32.47      |
| 6         | 32.31               | 37.75      |
| 7         | 45.00               | X          |
| 8         | 30.78               | 27.49      |
| 9         | 31.81               | 30.98      |
| 10        | X                   | X          |
| 11        | 29.04               | 28.08      |
| 12        | 38.56               | 27.64      |
| 13        | 26.88               | 38.45      |
| 14        | 33.00               | 31.85      |
| 15        | 29.82               | 27.46      |
| 16        | 31.51               | 28.58      |

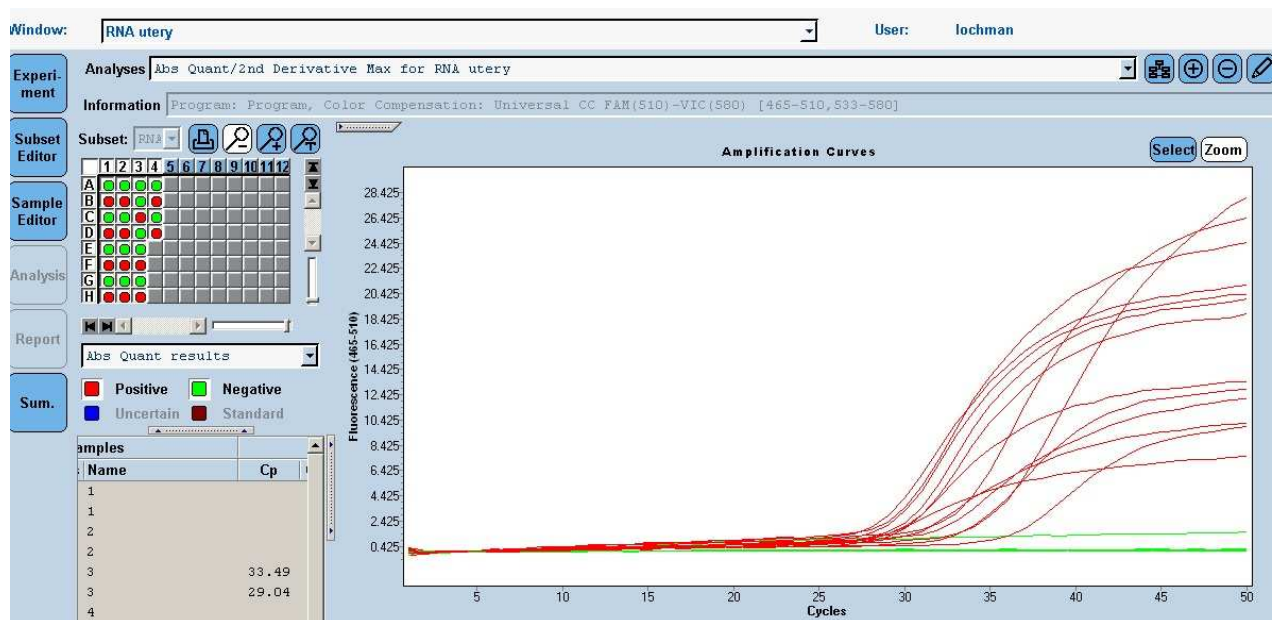
### Pátek

| Vzorek č. | $\beta$ -aktin (Ct) | GAPDH (Ct) |
|-----------|---------------------|------------|
| 1         | 32.04               | 29.57      |
| 2         | 32.28               | 29.11      |
| 3         | X                   | 30.23      |
| 4         | 30.56               | 28.54      |
| 5         | 29.89               | 30.80      |
| 6         | 31.64               | 31.71      |

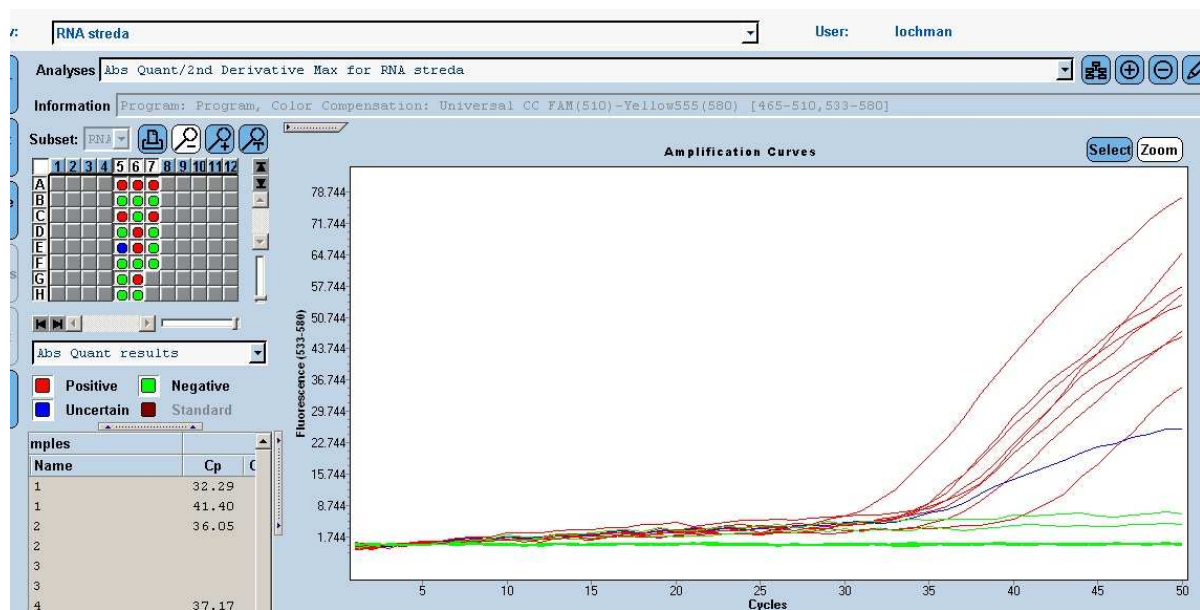
## Úterý – $\beta$ -aktin



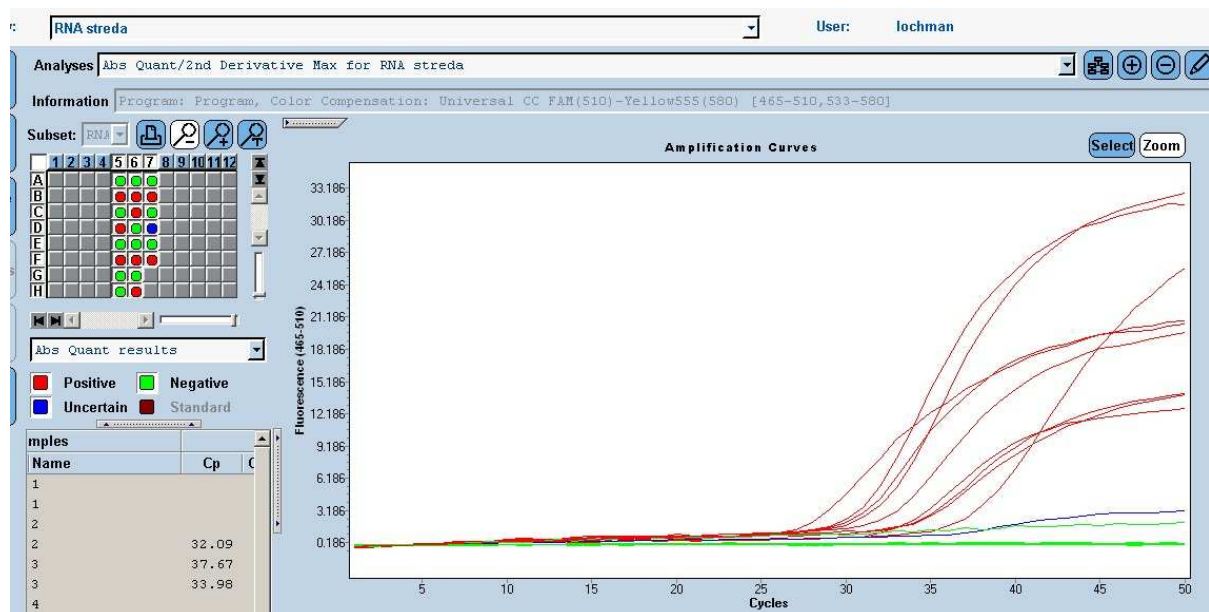
## Úterý - GAPDH



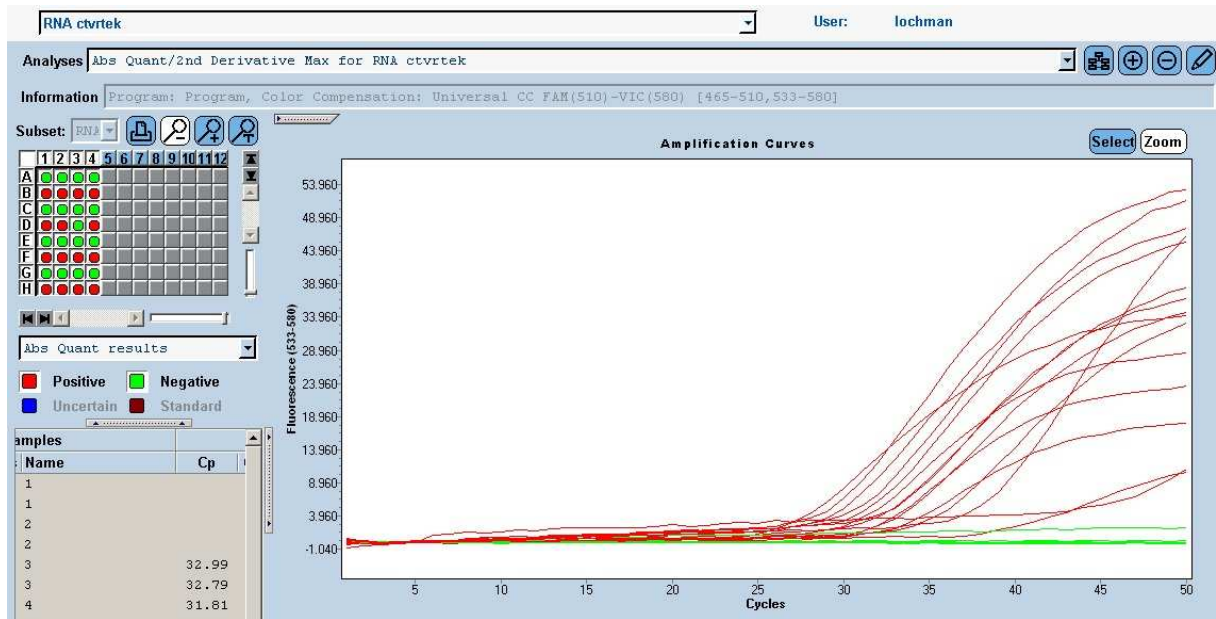
## Středa – $\beta$ -aktin



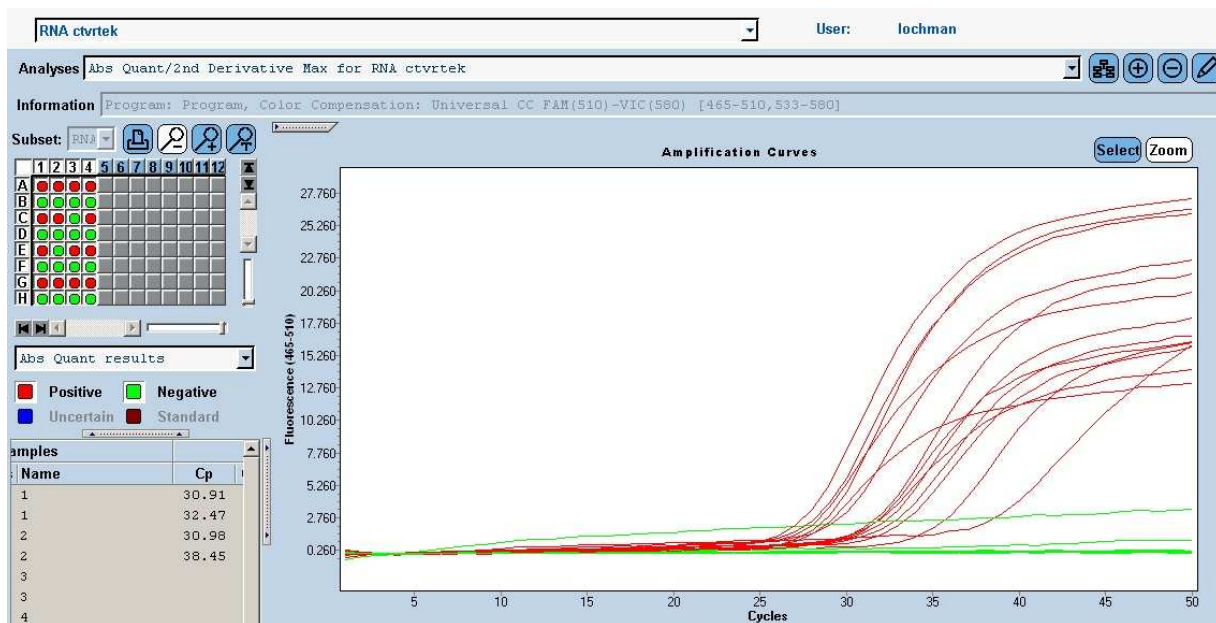
## Středa – GAPDH



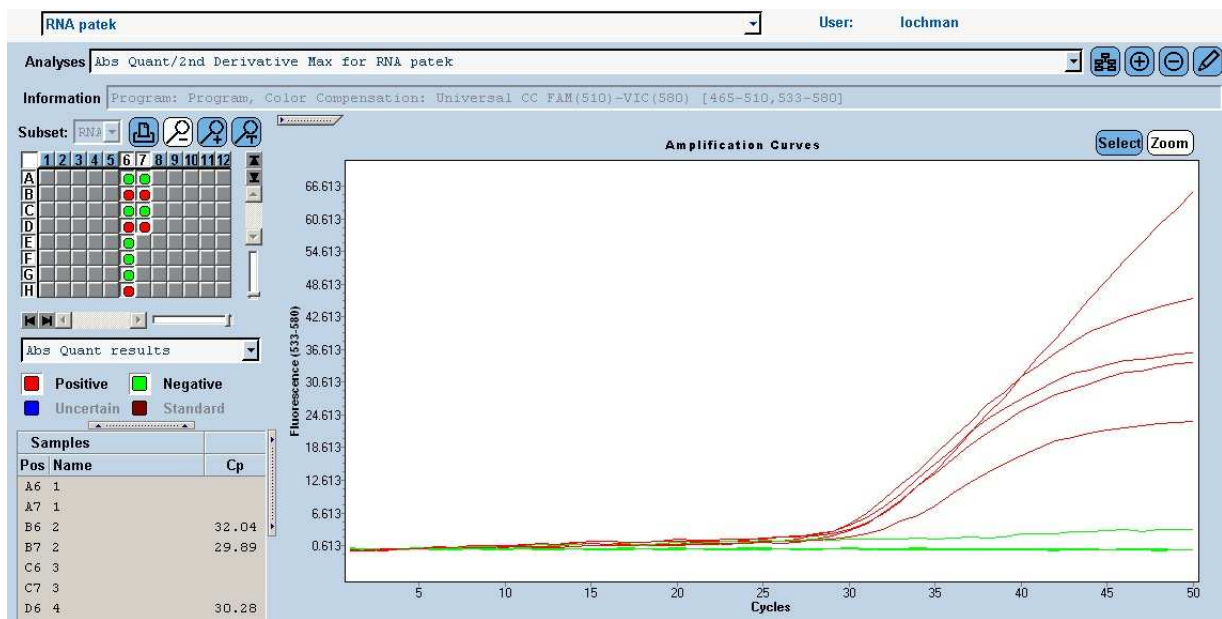
## Čtvrtek – $\beta$ -aktin



## Čtvrtek – GAPDH



## Pátek – $\beta$ -aktin



## Pátek – GAPDH

