

KURS 10.

„Zastosowanie techniki Real Time PCR w analizie ekspresji genów”

ZAKRES TEMATYCZNY SZKOLENIA:

Dzień 1:

Analiza względnego poziomu ekspresji genów metodą „two-step” z wykorzystaniem barwnika interkalującego SYBR-Green®

- Prelekcja-omówienie poszczególnych etapów eksperymentów, wprowadzenie do techniki Real Time PCR
- Izolacja RNA materiału roślinnego przy użyciu zestawu opartego o złoża krzemionkowe
- Analiza jakości uzyskanego RNA w denaturującym żelu agarozowym
- Ocena stężenia uzyskanych preparatów RNA
- Odwrotna transkrypcja
- Przygotowywanie krzywych kalibracyjnych do analizy względnego poziomu transkrypcji
- Reakcja Real Time PCR wykorzystaniem fluoroforu SYBR-Green®-określanie względnego poziomu transkrypcji dwóch genów badanych oraz dwóch genów referencyjnych
- Prelekcja – szczegółowe omówienie reakcji Real Time PCR – zasada działania, typy reakcji ze względu na system detekcji amplikonu (fluorofor SYBR - Green, sond typu Taqman, Molecular Beacon, reakcje typu multiplex, analiza HRM)

Dzień 2:

Określanie bezwzględnej ilości kopii cząsteczek RNA metodą „one-step” z użyciem sond Taqman

- Reakcja Real Time PCR typu one-step (jednoczesna reakcja odwrotnej transkrypcji i qPCR w jednej próbce) z wykorzystaniem sond typu Taqman. Reakcja typu „duplex” – jednoczesne określanie ilości dwóch transkryptów w badanych próbkach RNA.
- Analiza uzyskanych wyników (analiza krzywych topnienia jako sposób na określenie jakości powstającego produktu PCR, analizy typu absolute quantification, relative quantification, mono-oraz dual-color).
- Analiza statystyczna zmian w poziomie ekspresji badanych transkryptów.
- Projektowanie starterów/sond do reakcji Real Time PCR. Nauka korzystania z dostępnych programów do projektowania starterów i sond (QuantPrime, OligoArchitect, RealTimeDesign™).

Cel szkolenia: Celem kursu jest przekazanie praktycznej wiedzy pozwalającej na samodzielne stosowanie techniki Real Time PCR w analizie ekspresji genów. Uczestnicy samodzielnie wykonają eksperyment pozwalający na określenie poziomu ekspresji dwóch genów względem genów referencyjnych w materiale roślinnym, począwszy od izolacji RNA, skończywszy na analizie statystycznej uzyskanych wyników. Zaplanowane eksperymenty pozwolą na zdobycie praktycznej wiedzy pozwalającej projektować i wykonywać reakcje Real Time PCR z wykorzystaniem barwnika interkalującego SYBR-Green oraz sond Taqman.

Podczas zajęć zostaną wykorzystane odczynniki do Real Time PCR firmy Bioline, zestaw do izolacji RNA firmy Eurx. Reakcje Real Time PCR będą wykonywane na aparacie LightCycler 480 firmy Roche.

Cena netto: 1 140,00 zł netto/osoba (max. 4-5 osób)

Czas trwania: 8 godz. dziennie (8.00-16.00)

Informacje ogólne

Miejsce prowadzenia zajęć:

Wrocławski Park Technologiczny, bud. Delta, ul. Duńska 9, Wrocław

Cena szkolenia dodatkowo obejmuje:

- Materiały dydaktyczne w formie papierowej
- Dyskusje w gronie ekspertów
- Przerwy kawowe lub catering w każdym dniu szkolenia (w zależności od opcji)
- Certyfikat ukończenia kursu w języku polskim

Zgłoszenia:

Celem rejestracji na szkolenie prosimy o kontakt z Magdaleną Jaśkiewicz-Czajka pod numerem telefonu +48 781-871-602, bądź korespondencyjnie na adres email: magdalena.jaskiewicz-czajka@technologypark.pl

Rabaty:

W przypadku zgłoszenia większej ilości uczestników- rabat ustalany jest indywidualnie.

Uwagi:

Istnieje możliwość ustalenia indywidualnego terminu szkolenia.