

## **KURS 11.**

### ***„Zastosowanie techniki Real Time PCR w analizie ekspresji genów i detekcji mikroorganizmów”***

#### **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 ampliconu (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™).

##### **Dzień 3:**

Wykrywanie obecności bakterii Escherichia coli oraz Legionella pneumophila w próbkach wody

- Prelekcja – wprowadzenie do zajęć
- Izolacja DNA z próbek wody przy użyciu zestawu opartego o złoża krzemionkowe
- Wykonanie reakcji Real Time PCR: wykrywanie obecności bakterii Escherichia coli, Legionella pneumophila oraz Legionella spp.
- Prelekcja – wykorzystanie techniki Real Time PCR w diagnostyce
- Analiza uzyskanych wyników

#### **Dzień 4:**

Wykrywanie bakterii *Listeria monocytogenes* oraz *Salmonella* spp. w żywności

- Izolacja DNA z żywności przy użyciu zestawu opartego o złoża krzemionkowe
- Wykonanie reakcji Real Time PCR: wykrywanie obecności bakterii *Listeria monocytogenes* oraz *Salmonella* spp.
- Projektowanie układu starterów/sondy do wykrywania wybranego mikroorganizmu – analiza bioinformatyczna.
- Analiza uzyskanych wyników
- Prelekcja – „Poza Real Time PCR...” – przegląd innych technik stosowanych w diagnostyce opartej na sekwencji DNA.

**Cel szkolenia:** Kurs jest połączeniem kursów „Zastosowanie techniki Real Time PCR do detekcji mikroorganizmów” oraz „Zastosowanie techniki Real Time PCR w analizie ekspresji genów”. Jest szczególnie dedykowany osobom, które w krótkim czasie chcą zdobyć gruntowną wiedzę na temat praktycznego stosowania techniki Real Time PCR. Podczas czterodniowego szkolenia uczestnicy nauczą się izolować DNA, RNA, stosować technikę Real Time PCR do analizy ekspresji genów i detekcji mikroorganizmów, analizować uzyskane wyniki oraz projektować własne reakcje. Różne typy wykonywanych reakcji (z użyciem barwnika interkalującego SYBR-Green, sond Taqman, reakcji typu „duplex”, „one-step”) pozwolą zdobyć szeroką wiedzę na temat możliwości, jakie daje technika Real Time PCR.

Podczas zajęć zostaną wykorzystane odczynniki do Real Time PCR firmy Biorline, zestawy do izolacji RNA i DNA firmy Eur<sub>x</sub> oraz zestawy diagnostyczne:

AmpliTest *Escherichia coli* (Real Time PCR)

AmpliTest *Legionella pneumophila* (Real Time PCR)

AmpliTest *Legionella* spp. (Real Time PCR)

AmpliTest *Listeria monocytogenes* (Real Time PCR)

AmpliTest *Salmonella* spp. (Real Time PCR)

Reakcje Real Time PCR będą wykonywane na aparacie LightCycler 480 firmy Roche.

**Cena netto: 2 000,00 zł netto/osoba (max. 4-5 osób)**

**Czas trwania: ok. 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](mailto:magdalenajaskiewicz-czajka@technologypark.pl)

### **Rabaty:**

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

### **Uwagi:**

Istnieje możliwość ustalenia indywidualnego terminu szkolenia.