

TATAA Biocenter qPCR Kurs **TATAA Biocenter Germany**

qPCR Core Module

Tag 1 - qPCR Einführung, Assay Design und Optimierung

- 09.00-10.30 Basic PCR and qPCR Theorie und Anwendungen
- Amplifikation und Detektion
- Chemikalien
- Anwendungsbeispiele
- 10.45-11.45 **qPCR Experiment**
-Praktische Empfehlungen bei der Vorbereitung von PCR Reaktionen
-Demonstration der qPCR Software
- 11.45-12.30 Mittagessen
- 12.30-13.30 Datenauswertung
- Wie wertet die qPCR Software die Daten aus?
- Wie werden Standardkurven verwendet?
- Was besagt eine Schmelzkurve?
- Prinzip der Quantifizierung durch Verwendung einer Standardkurve.
- Prinzip der relativen Quantifizierung
- 13.30-14.00 **Auswertung des qPCR Experiments**
- 14.00-14.45 Primer und Sonden Design
- Was beeinflusst das Primer Design?
- Was sind Primer-Dimere?
- Wie verhindert man Primer-Dimer-Bildung?
- Design von Molecular Beacons und TaqMan Sonden
- 14.45-15.30 Optimierung von qPCR Protokollen
- Welche Parameter können/sollten optimiert werden?
- Eine Optimierungsstrategie
- Multiplexing - Möglichkeiten und Probleme
- 15.45-16.30 **Auswertung des Optimierungs-Experiments und Arbeiten mit der Software**
- 16.30-17.00 Diskussion und F&A
- 17.00 Ende des qPCR Kurstag 1

TATAA Biocenter Germany

bioEPS GmbH, Start-Up Center Fördergesellschaft IZB GmbH
Lise-Meitner-Straße 30, 85354 Freising-Weihenstephan, Germany
Tel: +49 (0) 8161 713511 and 715545
<http://tataa.gene-quantification.info> e-mail: Michael.Pfaffl@tataa.com

Tag 2 - Quantifizierung und Normalisierung

- 09.00-10.00 qPCR Quantifizierungsstrategien
- Standardkurven
- Relative Quantifizierung
- Inhibierung durch biologisches Probenmaterial!
- 10.15-11.00 Normalisierung von qPCR Daten
- Welches Normalisierungslevel kann verwendet werden?
- Wie wähle ich ein gutes Referenzgen?
- 11.00-12.15 **Experiment zum Vergleich verschiedener Quantifizierungsstrategien**
- Relative und „Absolute“ Quantifizierung
- 12.15-13.00 Mittagessen
- 13.00-13.45 Absolute Quantifizierung
- Was ist ein geeigneter Standard?
- Verwendung interner Kontrollen
- 13.45-14.15 -Validierung von Assays
- 14.30-15.15 Beispiele zur Berechnung
- Welchen Effekt hat die Effizienz auf meine Quantifizierung?
- Quantifizierungsmethoden und -gleichungen
- 15.15-16.30 **Auswertung der experimentellen Daten**
- Unterschiede in den Quantifizierungsstrategien
- Pro und Contra der verschiedenen Methoden
- 16.30-17.00 Diskussion und F&A
- 17.00 Ende des qPCR Kurstag 2

TATAA Biocenter Germany

Tag 3 - Probenvorbereitung und Reverse Transkription

- 9.00-10.00 Prinzip der RNA und DNA Extraktion
- Wie sie funktioniert
- Verwendete Methoden und geeignete Produkte
- Praktische Empfehlungen
- Probennahme
- 10.00-11.00 Prinzip der RT und verschiedene RT Primer
- Pro und Contra der verschiedenen Methoden
- 11.15-12.00 **RT Experiment unter Verwendung verschiedener RT-Primer**
- **Oligo-(dt) Primer**
- **Random Hexamer Primer**
- **Gene spezifische Primer**
- 12.00-13.00 Mittagessen
- 13.00-13.45 **qPCR Experiment unter Verwendung der gewonnenen cDNA**
- **Gibt es einen besten RT-Primer?**
- 13.45-14.10 SNP Detektion.
- 14.15-15.00 Immuno qPCR.
- 15.00-16.00 **Auswertung der experimentellen Daten**
- **Welcher Primer ist der Beste?**
- **Wie sollen RT Experimente geplant werden?**
- 16.15-16.30 Diskussion und F&A
- 16.30 Ende des qPCR Kurstag 3

Mittagessen und Kaffeepausen sind in der Kursgebühr enthalten. Die Kurse beinhalten praktische Abschnitte, in welchen die Kursteilnehmer miteinbezogen werden. (blau markierte Abschnitte).

TATAA Biocenter Germany

bioEPS GmbH, Start-Up Center Fördergesellschaft IZB GmbH
Lise-Meitner-Straße 30, 85354 Freising-Weihenstephan, Germany
Tel: +49 (0) 8161 713511 and 715545
<http://tataa.gene-quantification.info> e-mail: Michael.Pfaffl@tataa.com