**Dokumentacja na temat programu w języku Python dotyczącego metody ddCT (delta-delta CT) służącej do liczenia względnej ekspresji genów.**

Metoda ddCT została opisana w literaturze: Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods. 2001 Dec;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262. PMID: 11846609. Jest ona powszechnie wykorzystywana do obliczeń względnej ekspresji badanych genów w reakcji qPCR (quantitative PCR), gdzie genem referencyjnym jest jeden z genów metabolizmu podstawowego (Housekeeping gene). Dane przekształcane są tak, aby ekspresja genów w próbkach kontrolnych wynosiła 1, a względem nich ekspresja badanego genu w warunkach eksperymentalnych może być niższa lub wyższa.

Program ma na celu obliczenie metodą ddCT względnej ekspresji genów na podstawie surowych danych w pliku excel, który otrzymujemy po przeprowadzeniu reakcji qPCR z termocyklera. Głównymi danymi jest wartość Cq, czyli cyklu reakcji PCR w którym obserwujemy powstanie specyficznego produktu naszego genu. Końcowo otrzymujemy wykres średniej względnej ekspresji badanego genu (Fold change) dla danych próbek (uśrednione powtórzenia techniczne).

Opis działania programu:

1. Import używanych bibliotek:

Obraz zawierający tekst, Czcionka, linia, zrzut ekranu

Opis wygenerowany automatycznie

1. Należy wprowadzić ścieżkę do pliku excel z danymi genu badanego oraz pliku z danymi genu referencyjnego , a następnie program je odczytuje

Obraz zawierający tekst, paragon, algebra, Czcionka

Opis wygenerowany automatycznie

1. Definiowanie próbek kontrolnych:

Obraz zawierający tekst, Czcionka, biały, linia

Opis wygenerowany automatycznie

1. Obliczanie wartości dCT, czyli różnicy między Cq badanego genu a Cq genu referencyjnego dla każdej z próbek. Łączone są dwie tabele w formacie DataFrame, a różnica jest liczona względem kolumny z określonymi próbkami ‘Sample’. Następne jest obliczanie średniej wartości dCT tylko dla danych z próbek kontrolnych.

Obraz zawierający tekst, paragon, biały, algebra

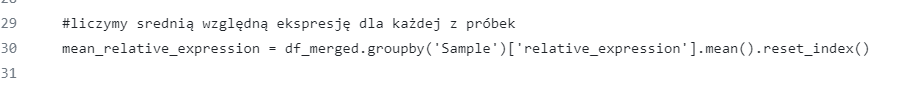
Opis wygenerowany automatycznie

1. Obliczanie wartości ddCT, czyli różnicy dCT dla każdej próbki i średniej wartości dCT próbek kontrolnych oraz względnej ekspresji badanego genu , czyli 2-ddCT .

Obraz zawierający tekst, zrzut ekranu, Czcionka, linia

Opis wygenerowany automatycznie

1. Obliczanie średniej względnej ekspresji dla próbek ze względu na powtórzenia techniczne



1. Ustalenie kolejności przedstawianych danych, oraz wizualizacja wyników w formie prostej tabelki oraz wykresu

Obraz zawierający tekst, Czcionka, zrzut ekranu

Opis wygenerowany automatycznie

Przykładowy wynik:

Obraz zawierający tekst, zrzut ekranu, menu, Czcionka

Opis wygenerowany automatycznie

Obraz zawierający tekst, zrzut ekranu, diagram, Czcionka

Opis wygenerowany automatycznie