

72 samples  $\Rightarrow$  1 run

$\hookrightarrow$  triplicates

(24) samples

$\hookrightarrow$  1 ntc (check)

~~1 ntc~~

$\hookrightarrow$  1 cal

$\Rightarrow$  22 samples left

1 run / reference gene } 6 runs  
C, 6 REF

<p>✓ 489, 486, 490 ✓ 484, 491 ✓ purple</p>	<p>✓ 434, 437, 435 ✓ 439, 442 ✓ yellow</p>
<p><del>477, 477, 477</del> 480, 477, 474 ✓ 482, 481 ✓ red</p>	<p>408, 411, 405 ✓ 406, 412 ✓ green</p>

- ntc: black - cal: blue



Dan  
Dann

# quantitative Real Time PCR - SYBR Green

Organismus:  
Gewebe:

\* Gen:  
Run:

Pipettierschema:

1  ntc	9  408	17  485	25  477	33  481	41  435	49  442	57  486	65  441
2  ntc	10  411	18  485	26  477	34  482	42  435	50  442	58  489	66  441
3  ntc	11  411	19  486	27  477	35  482	43  437	51  442	59  489	67
4  Cal	12  411	20  486	28  488	36  482	44  437	52  484	60  489	68

5  Cal	13  412	21  486	29  488	37  434	45  437	53  484	61  498	69
6  Cal	14  412	22  474	30  488	38  434	46  439	54  484	62  498	70
7  408	15  412	23  474	31  481	39  434	47  439	55  486	63  498	71
8  408	16  485	24  474	32  481	40  435	48  439	56  486	64  441	72

Mastermix ansetzen

je Ansatz Mastermix (75 Reaktionen)

10 µl	750 µl	2x	qPCR S'Green BlueMix (Biozym)
0.4 µl	30 µl	20 µM	Primer
0.4 µl	30 µl	20 µM	Primer
4.2 µl	315 µl		DEPC-H <sub>2</sub> O

15 µl 1125 µl  
je Ansatz 19 µl Mastermix pipettieren

DNA zugeben

je Ansatz 5 µl

- 1) ntc's pipettieren und verschließen
- 2) ~~ntc's pipettieren und verschließen~~ → close!
- 3) Cal pipettieren und verschließen
- 4) restliche cDNAs pipettieren und verschließen

Rotor-Gene-Q beladen und Programm ausführen

- 1) Hold 95°C | 2 min
- 2) Cycling 40x
  - a) Denaturie Rung 95°C | 5 sek
  - b) Annealing/Extension 60°C | 30 sek | green
- 3) Melt

Range 60°C - 95°C | Inkrement 1°C, 5 sek | Acquisition green

syber channel, melt