

RNA-Quantifizierung mittels qPCR

Thorsten Enge David Maruhn

15. Juni 2024

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	2
2	Materialien und Methoden	2
3	Durchführung	3
4	Ergebnisse	3
5	Diskussion	3
6	Schlussfolgerung	3

1 Einleitung

Während bei der DNA-Analytik untersucht wird, ob eine bestimmte DNA-Sequenz auf dem Genom vorhanden ist, wird bei der RNA-Analytik untersucht, ob und wie stark ein bestimmtes Gen transkribiert wird. Das Vorhandensein eines Gens auf dem Genom bedeutet nicht zwangsläufig, dass dieses Gen auch transkribiert wird. Mechanismen wie die DNA-Methylierung, die Histonmodifikation, Transkriptionsfaktoren und Enhancer bzw. Silencer beeinflussen die Transkription eines Gens. Die durch die Analyse der RNA kann einerseits das Vorhandensein eines Gens auf dem Genom bestätigt werden, andererseits kann durch die quantifizierung Rückschlüsse auf die Transkriptionsrate gezogen werden und somit auf die Aktivität des Gens. Das nichtvorhandensein einer RNA bedeutet nicht zwangsläufig, dass das Gen nicht auf dem Genom vorhanden ist, sondern dass es nicht transkribiert wird.

2 Materialien und Methoden

Zellkulturen

Für die RNA-Isolation wurden die Zelllinien HEK293T und A375 verwendet. Beide Zellkulturen sind immortale humane Zelllinien.

- HEK293T sind Zellen, die aus der Niere eines Embryos gewonnen wurden. Sie sind durch die Transformation mit dem SV40-T-Antigen immortalisiert worden.
- A375-Zellen stammen aus einem Melanom, sind sie von natur aus immortalisiert.

Genes of Interest

Die Gene of Interest sind die Gene, die in dieser Arbeit quantifiziert werden sollen. In diesem Fall sind es die Gene GAPDH und Beta-Actin.

- GAPDH (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) katalysiert die Oxidation von Glyceraldehyd-3-phosphat zu 1,3-Bisphosphoglycerat im Glykolyseweg.



- Beta-Actin wird in der qPCR als Referenzgen verwendet, da es in allen Zellen in gleicher Menge vorhanden ist und somit als Kontrollgen dient.

3 Durchführung

4 Ergebnisse

Messung	Wert1	Wert2
1	10	20
2	30	40

Tabelle 1: Beispieltabelle

5 Diskussion

6 Schlussfolgerung