

pcr后基因表达量如何比较- 荧光定量pcr为什么能够测基因表达差异-股识吧

一、real-time pcr定量方法分析中基因表达量数据怎么获得

绝对表达量要做标准曲线的。

相对表达量就找个内参，用 CT法

二、qPCR数据中对照组在表格中标准差怎么计算

3. Real-time qPCR定量方法可以分为绝对定量和相对定量。

绝对定量是用一系列已知浓度的标准品制作标准曲线，在相同的条件下目的基因测得的荧光信号量同标准曲线进行比较，从而得到目的基因的量。

该标准品可以是纯化的质粒DNA，体外转录的RNA，或者是体外合成的ssDNA。

相对定量可以分为比较Ct法和其他一些相对方法。

比较Ct指的是通过与内参基因Ct值之间的相差来计算基因表达差异，也称之为2-DCt。

3.1绝对定量从标准曲线获得线性方程： $Y=-3.432X+34.638$ ；

$R^2=0.995$ ， $E=95\%$ ，所以可以进行数据分析。

如果未知样品的Ct=25，代入方程： $25=-3.432X+34.638$ ，所以： $X=2.8\text{Copies}=10^{2.8322}$

3.22-DDCt定量2-DDCt方法使用的前提是内参和目的基因的扩增效率接近100%，且相差不超过5%。

所用公式如下： $2\text{-DDCt}=2-\left[\left(\text{Ct}_{\text{目的基因}}-\text{Ct}_{\text{内参基因}}\right)\right]_{\text{处理组}}-\left[\left(\text{Ct}_{\text{目的基因}}-\text{Ct}_{\text{内参基因}}\right)\right]_{\text{对照组}}=2-\left[E-F\right]_{\text{处理组}}-\left[A-B\right]_{\text{对照组}}=2\left(F-B\right)-\left(E-A\right)$

A)比如Cdk5在处理前和处理后样品中的Ct平均值是25和22.1；

内参GAPDH在处理前和处理后样品中的Ct平均值是18.2和18.3.那么处理所致倍数变化(fold change)应该是 $=2-\left[\left(22.1-18.3\right)\right]_{\text{处理组}}-\left[\left(25-\text{Ct}_{18.2}\right)\right]_{\text{对照组}}=23=8$ 也就是处理造成Cdk5表达增加了7倍。

如果是目的基因和内参基因的扩增效率相差比较大，可以用扩增效率进行校正，也就是Pfaffl方法。

所用公式如下：处理所致倍数变化(fold change)= $C(A-E)/D(F-B)$ 扩增效率(E)= $10^{-1/\text{斜率}}$ (理想的PCR扩增效率=2)百分比表示为： $e\%=(E-1)\times 100\%$ 同时是上面例子，如果Cdk5的扩增效率是70%；

GAPDH的扩增效率是95%，那么处理所致的倍数变化(fold change)应该是 $=\left(1.7\right)\left(25-22.1\right)/\left(1.95\right)\left(18.3-18.2\right)=4.36$ 即处理造成Cdk5表达量增加了3.36倍。

三、动物实验中，荧光定量PCR检测基因表达时因为老鼠个体差异存在，方差很大，请问这么解决。另外，各位是这么

个体的差异如果和实验的差异相当的话...你的数据是不能用的..至少是不可靠的...可以采用几个不同的内参基因分别做比较看看...如果都是这样的话..那结果就是个体差异而不是实验的..

四、论述RT-PCR检测基因表达的实验步骤及如何判断并消除DNA污染所造成的影响。

RT-PCR实验，主要分为3步：1. total RNA的提取2. mRNA的反转录3.

荧光定量PCR由于字数限制，详细步骤可以参考下面网址。

消除DNA污染：1. 按照说明书加入足量的Trizol，细胞过多会引起DNA污染。

2. 现在已经有去除基因组污染的反转录试剂盒，已经在很多实验室常用。

你可以尝试一下。

五、荧光定量pcr为什么能够测基因表达差异

荧光定量PCR会加入带有荧光基团的探针，探针是能和目的基因结合的单链DNA，如果合成双链DNA后，荧光基团就会激活发光，所以实时检测反应物的荧光强度，反应的就是双链DNA的浓度，由于合成双链DNA的速率和模板浓度有关，所以和参考曲线比较以后是可以计算出模板的相对浓度，当模板是信号RNA是，其反应的就是基因发达的量。

六、经过pcr扩增之后，为什么就能证明基因的表达量的多少

基因表达水平一般是通过该基因转录的mRNA的多少来衡量的，PCR之后可以通过产量的多寡来判断。

但是普通PCR一般只能定性判断基因表达量，实时荧光定量PCR可以通过PCR扩增来定量计算RNA含量（通过比较内参的ct值）。

所以，传统曲线只能定性判断，实时荧光定量PCR曲线可以定性判断。

七、如果实时定量PCR方法和Western Blot方法比较分析X基因在肿瘤组织和正常组织中的表达，写出技术路线和关键

一个代表转录水平；

另一个代表翻译及其后的修饰水平。

因为两者不一定是平行的。

这也就是为什么基因组研究做过后，自然要向蛋白质组研究方向发展。

免疫组化可以用来进行定位，但是不能精确定量，而且有时会有假阳性，不易与背景区分；

Western blot可以特异性检测某个蛋白质分子，进行定量，但是不能定位。

八、怎样看一个基因的表达高低？

RT-PCR加 蛋白定量

九、real-time PcR如何定量分析的

完全定量的话需要跑个标准品 做个标准品曲线半定量的话就是互相比较咯
具体的算法可以百度下 打起来太麻烦

参考文档

[下载：pcr后基因表达量如何比较.pdf](#)

[《股票买进需要多久》](#)

[《股票卖出后多久能确认》](#)

[《北上资金流入股票后多久能涨》](#)

[《股票停牌复查要多久》](#)

[《股票停牌重组要多久》](#)

下载：[pcr后基因表达量如何比较.doc](#)

[更多关于《pcr后基因表达量如何比较》的文档...](#)

声明：

本文来自网络，不代表

【股识吧】立场，转载请注明出处：

<https://www.gupiaozhishiba.com/book/41980017.html>