

## PCR, quantitative in Echtzeit



J. Arnemann

Abteilung Molekulargenetik, Labor Dr. Wisplinghoff, Köln, Deutschland

**Synonym(e)** Echtzeit-PCR, quantitative; qPCR; Realtime-PCR

**Englischer Begriff** quantitative realtime PCR

**Definition** Die quantitative Echtzeit-PCR (qPCR) ist eine Modifikation der klassischen ▶ PCR (Polymerase-Kettenreaktion), die durch Einsatz von fluoreszenzmarkierten Sonden eine Quantifizierung des PCR-Produkts ermöglicht.

**Beschreibung** Eine Quantifizierung der PCR-Produkte wird meist im Zusammenhang mit Expressionsanalysen durchgeführt. So werden im Vorfeld der qPCR meist die RNAs in

cDNAs umgeschrieben, um dann aus dem Pool an cDNAs bzw. gewebsspezifischen Transkripten die gewünschte Zielsequenz zu amplifizieren. Für eine Quantifizierung werden definierte Standards (z. B. Plasmide) oder auch interne Referenzgene (z. B. „housekeeping genes“) eingesetzt. Für die eigentliche Quantifizierung werden fluoreszenzmarkierte Sonden verwendet, die an die PCR-Produkte binden und während eines PCR-Zyklus in Echtzeit detektiert werden. Die Fluoreszenzdaten aus der exponentiellen Phase der qPCR, wenn die Reaktionsbedingungen optimal sind, werden zur Quantifizierung herangezogen und zusammen mit denen der eingesetzten Referenzprobe ausgewertet.

### Literatur

Hughes S, Moody A (Hrsg) (2007) PCR. Scion Publishing Ltd, Bloxham  
Schmittgen TD, Livak KJ (2008) Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. Nat Protoc 3:1101–1108