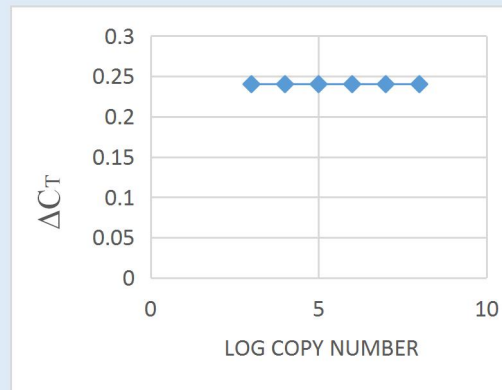
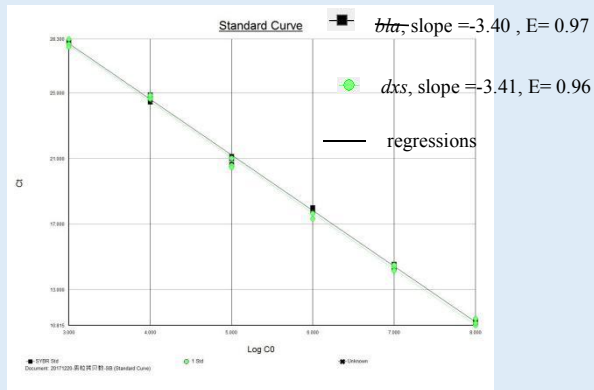


质粒拷贝数检测

介绍

质粒通常用作外源基因进入细菌宿主细胞的载体。使用细菌质粒的重组基因表达系统被广泛的用来生产多种有价值的蛋白产品，如基因治疗和疫苗。质粒稳定性对于重组表达系统中重组基因的维持和表达是必要的。所以，质粒稳定性的评估对于目标产物的连续生产是必需的。质粒稳定性的研究还可以帮助深入了解除了外源染色体外，细胞在复制，转录和翻译过程中的一般特征。

qPCR 荧光定量主要分为绝对定量和相对定量。绝对定量通过标准曲线的 C_T 值确定目标基因的精确拷贝浓度，相对的定量则是通过目标基因相对于另一个包含目标基因和参考基因恒定比率的样本比率来表示，相对定量主要通过 $\Delta\Delta C_T$ 法来计算。在这个实验中，*bla* 和 *dxs* 是分别用作靶基因和参考基因。并且由下图可以得知 *bla* 和 *dxs* 的 ΔC_T 值基本恒定，而且标准曲线的各参数基本一致，因此可以通过 $\Delta\Delta C_T$ 法来进行相对定量方法：目标基因的相对定量 = $(1+E)^{-\Delta\Delta C_T}$ ， $E = 10^{-1/\text{slope}} - 1$
 $\text{DNA (copy)} = 6.02 \times 10^{23}(\text{copy/mol}) \times \text{DNA amount(g)} / \{ \text{DNA length(dp)} \times 660(\text{g/mol/dp}) \}$



样品名称	C_T		拷贝数(copies/ μl)		PCN*
	<i>bla</i>	<i>dxs</i>	<i>bla</i>	<i>dxs</i>	
1	15.61	21.84	4.46×10^6	59.71×10^3	74.7
2	15.04	21.04	6.57×10^6	103.66×10^3	63.4
3	15.38	21.12	5.22×10^6	97.62×10^3	53.5
4	15.48	24.77	4.94×10^6	8.32×10^3	593.8
5	15.87	25.14	3.77×10^6	6.47×10^3	582.7
6	15.55	24.67	4.69×10^6	8.88×10^3	528.2

*PCN: plasmid copy number