

Les techniques de la PCR Digitale

Dates & Horaires	04 au 07 juillet 2022 - 09h00 – 17h00
Effectif	7 personnes maximum
Lieu	VWR International – Bâtiment Estréo – 1-3 rue d'Aurion - 93110 Rosny-Sous-Bois
Public visé	Cette formation s'adresse à tout public ayant une connaissance de base en biologie moléculaire, et souhaitant acquérir les connaissances théoriques et pratiques de la PCR digitale, avoir une vue d'ensemble des logiciels couramment utilisés pour l'analyse des résultats, quantification absolue.
Programme	<p><u>LES MATINS : COURS ET TRAVAUX DIRIGÉS</u></p> <p>Rappels sur la technique de la PCR quantitative Rappels sur les fondamentaux de la PCR quantitative, notion de Cq, formats de fluorescence, méthodes de calcul de l'efficacité. Mise au point d'une PCR quantitative : Optimisation, Validation, Plan d'expérience, Stratégies de Normalisation, Dilutions... Calibration et droite d'étalonnage...</p> <p>Présentation de la technique de la dPCR : Génération et partition en micro gouttelettes Préparation des échantillons Utilisation du système de fluidique Lecture par fluorescence Estimation de la quantification et concentration de la cible Correction de l'estimation avec la Loi Poisson et ses différents paramètres.</p> <p>Stratégie de la dPCR (PCR digitale) Quantification absolue : détermination du nombre de copies d'un gène Variation du nombre de copies : CNV Détection d'un événement rare : mutation rare avec détermination de l'abondance d'une mutation dans un mélange de cellules normales Quantification de pathogènes : virus, bactéries, parasites... Expression génique : intérêt pour visualiser de faibles variations d'expression</p> <p>Normes Digital MIQE</p> <p><u>TRAVAUX DIRIGÉS</u> Design et conception des amorces, choix des amorces, résolution des problèmes de spécificité et de sensibilité Etude de cas et analyses de résultats à partir d'exemple</p>

	<p><u>LES APRÈS-MIDI : TRAVAUX PRATIQUES</u></p> <p>Mise en place de la méthode de quantification absolue avec détermination du nombre de copies d'ungène et/ou quantification de pathogène : virus, bactéries, parasites... Extraction et purification d'ADN avec différentes méthodes, Contrôle du dosage et pureté, Préparation des échantillons Plan de plaque, Lecture par fluorescence Interprétation des résultats</p> <p>Mise en place de la méthode par expression génique avec pour intérêt la visualisation de faibles variations d'expression Extraction et purification d'ARN, Contrôle du dosage et pureté, Reverse transcriptase, Préparation des échantillons Plan de plaque, Lecture par fluorescence Interprétation des résultats.</p> <p>Optimisation de l'ensemble des contrôles et leurs intérêts (référence au Digital MIQE)</p> <p>Principe de détection utilisées : EVA Green, sondes Taqman</p> <p>Travaux pratiques sur QX 200 et système NAICA</p>
Formateur	Stéphane THEULIER – Enseignant – Ingénieur chef de projet - Ecole de l'ADN (Nîmes)
Inscription	<p>Sur https://www.sirene.inserm.fr/jetspeed/</p> <p>Date limite d'inscription : 07 juin 2022</p>
Contact	<p>Service Formation : formation.paris5@inserm.fr Assistante Formation : catherine.rogers@inserm.fr</p>