

La PCR quantitative Pratique

Inter-régions – Présentiel

Dates & Horaires	20 au 23 juin 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 plus particulièrement à un public ayant peu ou jamais pratiqué la PCR quantitative. Pré-requis : maîtriser les techniques de base de la biologie moléculaire.
Programme	<p><u>LES MATINS : COURS ET TRAVAUX DIRIGÉS</u></p> <p>Présentation des différents principes de la PCR quantitative</p> <ul style="list-style-type: none"> • 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 • Stratégies en PCR quantitative <ul style="list-style-type: none"> – Méthode par quantification absolue (standard externe) – Méthode par quantification relative avec et sans standard externe • Normes MIQE <p>Travaux dirigés</p> <ul style="list-style-type: none"> • Design et conception des amorces, choix des amorces, résolution des problèmes de spécificité et de sensibilité, • Principes de la PCR relative, choix des gènes de normalisation avec différents logiciels, suivi de la normalisation par la méthode $\Delta \Delta Ct$. <p><u>LES APRÈS-MIDI : TRAVAUX PRATIQUES</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Mise en place de la méthode par quantification absolue avec sa gamme standard : extraction et purification d'ADN avec différentes méthodes, contrôle du dosage et pureté, plan de plaque, dilutions, établissement des standards, choix des fluorochromes, qPCR et interprétation des résultats • Réalisation de courbe de fusion et leur interprétation • Détermination de l'efficacité des amorces : <ul style="list-style-type: none"> • méthode des dilutions en série et croisées, • utilisation du principe de gradient de température sur des dilutions de standards • Mise en place de la méthode par quantification relative avec utilisation du $\Delta \Delta Ct$ avec et sans gamme standard : extraction et purification d'ARN, contrôle du dosage et pureté, reverse transcriptase, plan de plaque, choix des fluorochromes, qPCR et interprétation des résultats • Optimisation de l'ensemble des contrôles et surtout leur intérêt (référence au MIQE) • Principe de détection utilisé : SYBR (EVA) Green, sondes à hydrolyse, Molecular Beacon

Formateur	Stéphane THEULIER Enseignant – Ingénieur chef de projet à l'Ecole de l'ADN
Inscription	Sur https://www.sirene.inserm.fr/jetspeed/ Date limite d'inscription : 24 mai 2021
Contact	Assistante Formation : catherine.rogers@inserm.fr Service Formation : formation.dr-idfcn@inserm.fr