

La PCR quantitative

Principe, développement de méthodes, et applications niveau 1

Au cours de la formation toute l'approche est abordée en théorie et pratique, toutes les notions sont introduites progressivement. Il s'agit de comprendre et d'appliquer les diverses techniques de quantification des acides nucléiques (ARN et ADN) par PCR en temps réel. La formation est axée sur l'application de la technologie de la PCR en temps réel (Real-Time PCR) ainsi que la validation de méthodes et de protocole.

Date & Horaire	Lundi 11 au Mercredi 13 mars 2019 – 8H45 à 17H30
Lieu	VWR International S.A.S. " Le Périgares " – bât. B, 201 rue Carnot – F-94126 Fontenay-sous-Bois
Public visé	La formation s'adresse aux personnels de structures qui souhaitent acquérir et approfondir les bases de la technique de PCR quantitative.
Programme	<p><u>Jour 1 dédié aux rappels des bases de la biologie moléculaire et de la PCR:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 09 h 00 - 10 h 30 : Rappels sur les bases théoriques de la biologie moléculaire : Structure des nucléotides; Structure des génomes eucaryotes, procaryotes; Réplication; Synthèse d'ADN in vitro. ○ 10 h 30 - 12 h 00 : Généralités sur La PCR : Principe; choix de l'enzyme ; choix des amorces ; Principe du phénomène de fluorescence, molécules et sondes fluorescentes. ○ 13 h 30 - 15h 00 : Stratégies en PCR - travaux dirigés utilisation d'outils informatiques: Choix des amorces ; Calculs de taille et Tm. Qualité et validation de la PCR ○ 15 h 00 - 16h 30 : Présentation des différents principes de la PCR quantitative : PCR quantitative en temps réel. ○ 16 h 30 - 17h 30 : Bilan sur les notions théoriques : Débriefing, questions diverses. <p><u>Jour 2 dédié aux mises au points de PCR quantitatives et de ses applications</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 9 h 00 – 9 h 30 : Rappels sur les fondamentaux de la PCR quantitative: ○ 9 h 30 - 11 h 30 : Mise au point d'une PCR quantitative: Optimisation, validation ; Plan d'expérience ; Stratégies de Normalisation ; Dilutions limites, standards externes/internes, PCR compétitive ; Réalisation d'une quantification absolue, calibration et droite d'étalonnage ; ○ 11h 30 - 12 h 00 : Stratégies en PCR quantitative: Organisation d'un laboratoire de PCR en temps réel ; Condition de travail ; Choix de réactifs, validation de méthode ;

	<ul style="list-style-type: none"> o 13 h 30 - 16 h 30 : Indications de la PCR quantitative : Mesure de l'expression d'ARN messager à l'aide de la PCR quantitative Applications en biologie : expression relative; Validation de microarray et qPCR à haut débit ; Applications en génomique : discrimination allélique ; Analyse quantitative dans le monde bactérien et viral ; Caractérisation fonctionnelle des gènes ; <p><u>Jour 3 dédié aux études de cas:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> o 09 h 00 - 12 h 00 : Etudes de cas – travaux dirigés – analyses de protocoles: Etude d'une gamme de calibration ; Calculs de Ct et analyse différentielle de Ct; Mesures de l'efficacité ; Variante de la méthode des droites standard ; Estimation de la spécificité d'amplification, analyse de sa fonction dérivée. o 13 h 30 - 15 h 00 : Etudes de cas – travaux dirigés Analyses d'expressions relatives ; Identification de variants d'expression ; Quantifications de charges virales. o 15 h 00 - 16 h 30 : Etudes de cas fournis par les participants : o 16 h 30 - 17 h 30 : Bilan sur les méthodes : Débriefing, questions diverses;
Formateur	<p>Christian Siatka ,PhD Docteur en pharmacogénétique, biochimie biologie cellulaire et moléculaire DU de toxicologie clinique, DEA de Biologie Santé Ingénieur INSA en Biotechnologie – génie biomoléculaire Fonctions : Professeur associé à l'Université de Nîmes</p>
Contact	<p style="text-align: center;">Inscriptions Sur : www.sirene.inserm.fr avant le 4 février 2019 Contact : Diane - VILLA Assistante Formation : diane.villa@inserm.fr 2, rue d'Alésia 75014 PARIS - tél. : 01 40 78 49 11 Service Formation : formation.paris5@inserm.fr</p>