

## Formation à la PCR Quantitative, de l'élaboration d'un protocole efficace à l'analyse des résultats

<p><b>DATES &amp; DURÉE</b> Du 14 (après-midi) au 16 octobre 2019 (2,5 jours)</p> <p><b>LIEU</b> Nantes</p> <p><b>PUBLIC</b> Toute personne ayant des connaissances de base en biologie moléculaire</p> <p><b>INTERVENANTS</b> M. Ducos de Biosciences &amp; Co</p> <p><b>INSCRIPTION</b> sur <a href="https://www.sirene.inserm.fr/">SIRENE</a> : <a href="https://www.sirene.inserm.fr/">https://www.sirene.inserm.fr/</a> (Onglet « Agent Formation » / Menu « Demander une formation » / Région « Grand-Ouest »)</p> <p><u>Date limite d'inscription :</u> 28 juin 2019</p> <p><b>CONTACT</b> Michèle HAYS Responsable Formation INSERM DR Grand Ouest 02 40 35 86 80 <a href="mailto:michele.hays@inserm.fr">michele.hays@inserm.fr</a></p>	<p><b>OBJECTIFS :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Connaître tous les paramètres des cinétiques d'amplification et de dissociation et comprendre leur importance dans les calculs de quantification</li> <li>➤ Maîtriser l'impact du choix des amorces sur les résultats</li> <li>➤ Rendre le design des amorces accessible</li> <li>➤ Elaborer une stratégie adéquate pour gagner du temps et améliorer la robustesse et reproductibilité de ses expériences</li> </ul> <p><b>PROGRAMME :</b> <b>Apports théoriques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Rappels des principes de la PCR et de l'intérêt de la qPCR</li> <li>• Les fondamentaux de la qPCR :             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Principe d'un équipement de qPCR</li> <li>- Choix d'indicateur quantifiable ; Choix des matrices et contrôle qualité ; Choix des amorces : ADN ou ARN ; Choix des gènes de référence : définition, usage</li> </ul> </li> <li>• RT-qPCR : principes</li> <li>• Mise en œuvre d'une expérience de qPCR et efficacité             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Optimisation, validation des amorces, détermination du seuil de détection Cq</li> <li>- Analyse de la courbe de fluorescence</li> </ul> </li> <li>• Efficacité de la PCR : les contrôles indispensables</li> <li>• Quantification par PCR en temps réel             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Quantification absolue vs quantification relative</li> <li>- Stratégie de quantification en fonction du contexte biologique</li> </ul> </li> <li>• Stratégie de normalisation             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Définition des gènes de référence</li> <li>- Choix et validation, moyenne arithmétique vs géométrique, outils informatiques de détermination (Rest, Beskeeper, GeNorm)</li> </ul> </li> <li>• Analyse des résultats             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Reproductibilité, sensibilité, précision, réplicats techniques et biologiques</li> <li>- Présentation des résultats : nb de copies, comparatif, fold change, fold increase, présentation de quelques logiciels à connaître et de paramétrages d'Excel</li> </ul> </li> <li>• Analyses statistiques : Tests paramétriques vs non paramétriques ; Autres tests</li> <li>• Publication et qPCR : les MIQE</li> <li>• Nouvelles approches méthodologiques basées sur la qPCR :             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Quantification des miRNA</li> <li>- qPCR à haut débit par microfluidique</li> <li>- TLDA - Openarray</li> <li>- Nanostring</li> <li>- PCR digitale : microfluidique vs nanogouttelettes</li> <li>- HRM (High Resolution Melting)</li> </ul> </li> </ul> <p><b>TD et TP in silico</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dessin des amorces adaptées à la qPCR</li> <li>• Démarche à suivre : étude bibliographique, outils informatiques d'aide au design d'amorces, confirmation par une approche <i>in silico</i></li> <li>• Logiciels d'alignement de séquence</li> <li>• Critères de qualité</li> <li>• Optimisation d'un couple d'amorce</li> <li>• Précautions et risques biologiques</li> <li>• Mise en place d'un projet de quantification : les étapes clés à considérer</li> <li>• Savoir détecter les inhibitions de la PCR et les erreurs</li> </ul> <p><b>MÉTHODES :</b> Apports théoriques et mise en pratique à partir d'exercices et d'étude de cas sur ordinateurs (1 par stagiaire). <i>Pas de pratique sur thermocycleurs.</i></p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------