

La PCR Quantitative Pratique

Dates & Horaire	15 au 18 septembre 2020 – 8h45 – 17h00
Effectif	8 personnes maximum
Lieu	VWR International S.A.S Le périgares – bat B – 201 rue Carnot 94126 Fontenay 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

	<ul style="list-style-type: none">• 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	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, Administrateur et directeur à l'Ecole de l'ADN
Contact	Service Formation : formation.paris5@inserm.fr Assistante Formation : catherine.rogers@inserm.fr