

Les techniques de PCR digitale (dPCR)

Présentiel – Formation Inter régions

Dates & Horaire	Du 08 au 11 septembre 2025 -- 09h00 – 17h00
Effectif	6 personnes maximum
Lieu	VWR International – Estréo – 1-3 rue d'Aurion - 93110 Rosny-Sous-Bois
Public visé et objectifs	Toute personne 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.
Prérequis	Maîtriser les techniques de base de la biologie moléculaire.
Programme	RAPPELS SUR LA TECHNIQUE DE LA PCR QUANTITATIVE • Rappels sur les fondamentaux de la PCR quantitative • Mise au point d'une qPCR • Stratégies de normalisation, dilutions... • Calibration et droite d'étalonnage... PRESENTATION DE LA TECHNIQUE DE PCR DIGITALE (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 STRATEGIES DE LA dPCR • 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 NORMES DIGITALES MIQE NORMES MIQE TRAVAUX DIRIGES • 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

	TRAVAUX PRATIQUES • Mise en place de la méthode de quantification absolue avec détermination du nombre de copies d'un gène et/ou quantification de pathogène : virus, bactéries, parasites... ○ Extraction et purification d'ADN avec différentes méthodes ○ Contrôle du dosage et pureté ○ Préparation des échantillons ○ Plant de plaque ○ Lecture par fluorescence ○ Interprétation des résultats • 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 ○ Optimisation de l'ensemble des contrôles et leurs intérêts ○ Principe de détection utilisée : EVA Green, sondes Taqman ○ Travaux pratique sur QX 200 et système NAICA
Formateur	Stéphane THEULIER Ingénieur Projets, Ecole de l'ADN, Nîmes
Inscriptions	Sur https://www.sirene.inserm.fr/jetspeed/ Date limite d'inscription : 25 août 2025
Contact	Assistante Formation : kamelia.brahmi@inserm.fr Chargée de Formation : catherine.rogers@inserm.fr



Attention, les formations demandant la manipulation de produits chimiques ne sont pas accessibles aux femmes enceintes.