

LA PCR QUANTITATIVE

Formation proposée en partenariat avec BIOSCIENCES & Co



● Public

Personnels scientifiques et techniques

● Objectif

- Présenter tous les paramètres des cinétiques d'amplification et de dissociation et souligner leur importance dans les calculs de quantification
- Souligner l'impact du choix des amorces sur les résultats
- Rendre le design des amorces accessible
- Trouver une bonne stratégie pour gagner en temps et en efficacité
- Comprendre l'importance de la rigueur extrême nécessaire dans cette technique à chaque étape afin d'obtenir reproductibilité et fiabilité des résultats

● Programme

I – ASPECT THÉORIQUE

- Mesure du signal d'amplification par fluorescence
- Analyse de la courbe de dissociation (Melting Curve Analysis)
- Étude de la cinétique d'amplification
- Efficacité de la PCR
- Quantification par PCR en temps réel
- Stratégie de normalisation
- Les résultats
- Publication et PCRQ : les MIQUE
- Validation des microarray et PCRQ haut débit
- Différentes approches du génotypage ou polymorphisme en PCRQ
- Dessin des amorces de PCRQ
- Stratégie efficace de design



CODE STS 05

• Durée

3 jours (21 heures)

• Tarif

1920 €

• Dates

Nous consulter

• Lieu

Lyon

• Contact

formation.continue@ens-lyon.fr

Tél. : 04 37 37 60 00

ENS de LYON

15 parvis René Descartes

BP 7000 – 69342 Lyon Cedex 07

LA PCR QUANTITATIVE

2 – ASPECT PRATIQUE

- Précautions et risques biologiques
- Mise en place d'un projet de quantification : les points à considérer
- Les équipements : thermocycleurs, circuit PCR, Nanodrop, bio analyseur
- Les consommables
- Les kits
- Protocoles et optimisation
- Échantillons, ARN, cDNA, ADN : nature, qualité, extraction, quantification, conservation
- La reverse transcription : une étape clé à optimiser en permanence
- Le cDNA
- Détecter les inhibitions de la PCR
- Les amorces
- La gamme d'étalonnage
- Les contaminations et cross contaminations

3 – PARTIE PRATIQUE

- Présentation des équipements nécessaires leur bonne utilisation
- Circuit PCR, Nanodrop, Instrument de QPCR et éventuellement Robot pipetteur
- Les bons gestes et les pièges à éviter
- Se focaliser sur la programmation, l'analyse d'une manipulation et l'exploitation des résultats
- Présentation du logiciel du StepOne Plus
- Préparation et programmation de la manipulation et des runs
- Réalisation de deux gammes d'étalonnage – Une série d'échantillons
- Analyse des runs
- Calcul et exploitation dans Excel
- Présentation d'outils gratuits pour les calculs ou la normalisation : REST, Bestkeeper, Genorm
- Bibliographie

● **Intervenant**

Ingénieur INSERM

