
Programme de Formation

PCR quantitative en temps réel



Organisation

Durée : 34 heures

Mode d'organisation : Présentiel

Contenu pédagogique



Public visé

Chercheurs, ingénieurs et techniciens



Objectifs pédagogiques

- Acquérir les connaissances théoriques permettant la réalisation d'un projet de PCR quantitative
- Maîtriser les différentes étapes pratiques nécessaires au projet de qPCR, de l'extraction des acides nucléiques au traitement des données
- Identifier les points critiques pour la bonne réalisation d'un projet de qPCR



Description

Cours et travaux dirigés

- Principes de la PCR et de la PCR quantitative en temps réel, choix des amorces, choix de la technique et des fluorophores utilisés. Notion de Ct, calcul de l'efficacité, résolution des problèmes de spécificité et de sensibilité
- Principes de la qPCR absolue ou relative
- Sélection des gènes de référence et méthode de normalisation, utilisation des logiciels geNorm et NormFinder
- Analyses des données de qPCR, courbes de fluorescence, limite de Ct, réplicats techniques, calcul des variations d'expression, méthode $\Delta \Delta Ct$
- qPCR en microplaque, carte microfluidique et nanovolumes
- Normes MIQE

Travaux pratiques

- Broyage, extraction, purification des ARN
- Dosage et contrôle qualité des ARN
- Contrôle de la non-contamination des ARN par qPCR
- Etape de transcription inverse
- Contrôle qualité des cDNA par qPCR



- Utilisation d'amorces pour qPCR sybrGreen et/ou TaqMan
- Utilisation de dilutions en série pour la réalisation de gamme de qPCR
- qPCR en microplaque et carte microfluidique
- Calculs et résultats en quantification absolue et en quantification relative, calcul des efficacités, stabilité des gènes de référence utilisés, calcul des variations d'expression



Prérequis

Avoir une expérience des techniques de biologie moléculaire



Modalités pédagogiques

Alternance de cours (5H), de travaux dirigés (15H) et de travaux pratiques (14H).

TD et TP en sous-groupe de 2 ou 3 participants maximum avec un intervenant par sous-groupe.



Moyens et supports pédagogiques

EQUIPEMENTS : Broyeur Precellys, Qiacube Qiagen, Nanodrop, Qubit, Bioanalyzer Agilent, TapeStation Agilent, PCR Master cycler Eppendorf, robot EpMotion 5075, qPCR StepOnePLus, qPCR QuantStudio.

Il est conseillé de venir avec son propre ordinateur portable et de se munir d'une blouse de laboratoire.

Des supports papier ainsi que des fichiers aux formats PDF et Excel seront mis à disposition des participants.



Modalités d'évaluation et de suivi

Un suivi individualisé par des évaluations formatives est assuré. Une attestation de fin de formation est délivrée à la fin du parcours.



Informations sur l'admission

L'admission à cette formation ne fait l'objet d'aucun examen, test ou sélection préalable ; l'inscription est validée après réception du dossier complet et confirmation par l'organisme de formation.



Informations sur l'accessibilité

Notre organisme s'engage à garantir l'accessibilité de ses formations à distance et en présentiel aux personnes en situation de handicap. Un référent handicap est mobilisable afin d'analyser les besoins spécifiques et de mettre en place, lorsque cela est possible, les adaptations pédagogiques, techniques ou organisationnelles nécessaires.