

FQ PCR quantitative en temps réel

SCIENCES, TECHNOLOGIES, SANTÉ

Présentation

Référence formation: FQ-S30FQPCR

Responsable(s) pédagogique : N. Kassis et Pr Mireille Viguier

Forme de l'enseignement : en présentiel

4 personnes formées sur les 5 dernières années

OBJECTIFS

- Comprendre la théorie de la PCR quantitative en temps réel afin de pouvoir l'appliquer à une étude transcriptomique : calcul du niveau d'expression d'un gène (ARNm) par différentes façons.
- Normaliser des résultats par le(s) « bon(s) » gène(s) non régulé(s) par l'expérience, comment le(s) choisir de façon mathématique (geNorm) .
- Donner toutes les clefs pour réaliser cette étude : depuis l'extraction des ARN (théorie et pratique), la Transcription Inverse (théorie), jusqu'à l'exploitation critique des résultats par différentes approches (quantification absolue versus quantification relative), en passant par la recherche de séquence nucléotidique des gènes et le design des amorces spécifiques .
- Examiner les fluorophores (SYBR Green I), les sondes d'hydrolyse (Taqman, 3'MGB, UPL) et les sondes d'hybridation (Beacon, Scorpio, FRET).

COMPÉTENCES VISÉES

A l'issue de la formation, l'apprenant est capable de :

- Décrire les bases théoriques et pratiques de la RT PCRq
- Choisir les amorces nécessaires
- Mettre en œuvre une application transcriptomique : étude de l'expression des gènes, de la conception expérimentale à l'analyse critique des résultats

Programme

ORGANISATION

Référence formation : FQ-S30FQPCR

Volume horaire : 28 heures

Calendrier : Du 12 au 15 septembre 2022

Rythme : 4 jours

Lieu : Campus des Grands Moulins

CONTENUS PÉDAGOGIQUES:

Alternance de cours théoriques suivi de l'application pratique. Le déroulement de la formation est adaptée au profil des participant.e.s.

Poly format papier . Résultats et poly format PDF sur clef USB.

Kit Rneasy mini QIAGEN (extraction d'ARN), Gel Electrophorèse et/ou BioAnalyzer2100 AGILENT (analyse des ARN, intégrité), LightCycler 480 et/ou 1.5 Capillaire (PCRq), site NCBI (recherche de séquence), Oligo 6.0 (design de primer), Blast (recherche d'homologie)

PARTIE THÉORIQUE (10H)

- PCR en temps réel quantitative : principes et applications

Pour en savoir plus, rendez-vous sur > u-paris.fr/choisir-sa-formation

- Exemples d'applications : quantification d'ARNm
- Normalisation du niveau des transcripts par un gène de référence : méthode mathématique pour choisir le « bon » gène de référence, choix crucial pour les résultats
- Quantification relative et quantification absolue
- Choix et calcul des amorces oligonucléotidiques
- Les différents types de chimie : SYBR Green I, Taqman, FRET, 3'MGB, Scorpia, Beacon, UPL...
- Principes de l'extraction des ARN (principe de base de Chomczynski et Sacci et principe des colonnes), étude de l'intégrité,

qualité et quantité des ARN. Théorie de la transcription inverse

PARTIE PRATIQUE (18H)

- PCR en temps réel quantitative : quantification du niveau d'expression de gènes
- Choix et design des amorces oligonucléotidiques : manuellement, à l'aide d'un logiciel et *in silico*
- Recherche de séquences nucléotidiques *in silico*
- Extraction d'ARN par un kit. Quantification, vérification de la qualité et de l'intégrité des ARN

Des modifications mineures peuvent être apportées sous la responsabilité de l'encadrement pédagogique

MOYENS PÉDAGOGIQUES ET TECHNIQUES D'ENCADREMENT

Responsable pédagogique : N.Kassis, Pr M.Viguié

Ressources matérielles

Afin de favoriser une démarche interactive et collaborative, différents outils informatiques seront proposés pour permettre :

- d'échanger des fichiers, des données

- de partager des ressources, des informations
- de communiquer simplement en dehors de la salle de cours et des temps dédiés à la formation.

MOYENS PERMETTANT DE SUIVRE L'EXÉCUTION DE LA FORMATION ET D'EN APPRÉCIER LES RÉSULTATS

Au cours de la formation, le stagiaire émerge une feuille de présence par demi-journée de formation en présentiel et le Responsable de la Formation émet une attestation d'assiduité pour la formation en distanciel.

À l'issue de la formation, le stagiaire remplit un questionnaire de satisfaction en ligne, à chaud. Celui-ci est analysé et le bilan est remonté au conseil pédagogique de la formation.

Admission

- Technicien.ne.s
- Ingénieur.e.s et chercheur.e.s des entreprises et des collectivités dans le domaine des sciences du vivant.

PRÉ-REQUIS

Connaissance des principes de la PCR classique

LES CLEFS DE LA RÉUSSITE

Des fiches pratiques sont à votre disposition sur la page <http://www.reussir-en-universite.fr/index.html>

Droits de scolarité :

Contacts

Pour en savoir plus, rendez-vous sur > u-paris.fr/choisir-sa-formation

Gestionnaire de formation continue

Reine Rigault

01 57 27 82 34

reine.rigault@u-paris.fr

Responsable pédagogique

Mireille Viguié

En bref

Composante(s)

UFR Sciences du Vivant

Modalité(s) de formation

- Formation continue

Capacité d'accueil

6 minimum et 12 maximum

Lieu de formation

Campus des Grands Moulins

Pour en savoir plus, rendez-vous sur > u-paris.fr/choisir-sa-formation