

SCIENCES DU VIVANT - OUTILS D'ANALYSE DE BIOMARQUEURS

# Quantification de l'expression des gènes par RT-PCR en temps réel

Les techniques de PCR sont devenues incontournables pour l'analyse quantitative de l'expression des gènes. Ce stage fait le point sur les aspects théoriques et méthodologiques de ces techniques.

**La réaction de polymérisation en chaîne (PCR)** est une technique dite de rupture qui a marqué un tournant technologique immense dans le monde de la biologie. Inventée par Kary Mullis en 1986 (prix Nobel en 1993), elle permet d'amplifier en 1 heure jusqu'à un milliard de fois de l'ADN à l'état de trace pour permettre son étude. Parce que l'ADN est un marqueur du vivant, la PCR donne accès à des prouesses technologiques telles que le séquençage et la compréhension des génomes, l'identification d'individus (par exemple pour les investigations policières), la détection d'allergènes et d'agents pathogènes (secteurs de l'agroalimentaire et du médical) ou encore le dépistage de maladies génétiques.

**L'invention de la PCR en temps réel (quantitative)** a permis d'élargir les applications de la PCR (classique) en apportant des réponses quantitatives absolues ou relatives. L'une des applications de la PCR en temps réel est la mesure des variations d'expression d'un gène donné par un tissu ou un type cellulaire dans une condition par rapport à une autre (par exemple physiologique vs pathologique). Dans ce cas, les ARNs totaux sont extraits des tissus ou cellules, rétro-transcrits en ADN complémentaires (RT pour reverse transcription) puis amplifiés par PCR en temps réel. La technique de RT-PCR en temps réel est utilisée couramment dans les laboratoires de recherche en biologie pour mesurer la dynamique d'expression des gènes dans diverses conditions expérimentales afin d'explorer le vivant dans ses dimensions fondamentales et appliquées.

## PUBLIC ET PRÉ-REQUIS

**Biologistes** : chercheurs en laboratoire privé ou public, doctorants, ingénieurs, techniciens... qui ont besoin de comprendre et d'appliquer la technique de RT-PCR quantitative dans leur domaine d'activité

**Pré-requis** : Bases théoriques en biologie moléculaire (notions de gène, ARN messager, ADN...)

## PROGRAMME

### PROGRAMME

**Session théorique** (1 jour) :

- Histoire de la découverte de la PCR
- Principes et bases mathématiques de la PCR classique et de la RT-PCR en temps réel
- Chimies de détection SYBR® Green et Taq-Man
- Conception des amorces et détermination de leur efficacité
- Vérification de la spécificité de l'amplification
- Choix des gènes de référence

**Session pratique** (2 jours) :

- Extraction des ARNs totaux à partir de lysats cellulaires
- Retro-transcription des ARNs en ADNs complémentaires (ADNc)
- Amplification des ADNc grâce à la PCR en temps réel
- Analyse et interprétation des résultats (analyses des courbes d'amplification, de fusion et quantification des variations d'expression génique)

## OBJECTIFS & COMPÉTENCES

**OBJECTIFS** :

### Informations clés

**🕒 Durée :**  
21 heures

**€ Tarif :**  
1710 €

### Responsable(s)

 **Khadija El Hadri-Zegouagh**

 **Martine Glorian**

### Contact

biosciences-fc@sorbonne-  
université.fr

- Comprendre et maîtriser les bases théoriques de la PCR en temps réel et de ses applications
- Mesurer des variations d'expression géniques par RT-PCR en temps réel dans une condition expérimentale par rapport à une autre, grâce à l'acquisition d'une approche opérationnelle sur les thermocyclers Light Cycler 480 et 96 (LC480 et LC96, Roche) (chimie de détection : SYBR® Green)

## MÉTHODES PÉDAGOGIQUES

### METHODES PEDAGOGIQUES

Apports Théoriques : 30%  
Applications Techniques : 70 %

## POUR CANDIDATER

Inscription via formulaire (voir site web).