



## Formulaire de contact

# Prestation de PCR quantitative en microfluidique

La plateforme qPCR-HD-GPC propose depuis septembre 2013 des prestations de PCR quantitative à haut débit, accessibles à toute la communauté scientifique. Le but de ce document est de vous présenter les différentes possibilités de prestation et d'identifier vos besoins afin de vous proposer une offre adaptée.

### Plateforme de qPCR Haut-Débit par microfluidique

---

- **Responsable Scientifique** : Bertrand DUCOS
- **Responsable Technique** : Marine DELAGRANGE
- **Contact**



[qpcr@biologie.ens.fr](mailto:qpcr@biologie.ens.fr)



01.44.32.39.19



<https://qpcr.cnrs.fr/>

La plateforme qPCR-HD-GPC, labélisée IBISA, fait partie du consortium Genomic Paris Centre (certifié ISO 9001 et NFX 50-900) qui rassemble les plateformes de séquençage à haut débit de l'ENS et de l'Institut Curie.

- **Prestations proposées et équipements**

Nous proposons un système d'accompagnement de projets pour lesquels la plateforme participe au dessin expérimental et prend en charge l'ensemble du processus expérimental et analytique afin de fournir des résultats prêts à être publiés aux porteurs de projets. La plateforme de PCR quantitative est équipée du système Biomark-HD™ de Fluidigm, système qui permet de quantifier simultanément l'expression de dizaines de gènes dans un grand nombre d'échantillons à l'aide de puces microfluidiques (de 2 304 à 36 960 PCR simultanées). Nous disposons également d'une puce pour la préparation de banques pour le séquençage ciblé et du système C1 de Fluidigm pour l'isolement et la préparation de cellules uniques avant analyse quantitative (qPCR, DNaseq et RNAseq).

<b>Prestations proposées</b>	<b>Équipements</b>
Préparation de cellules uniques isolées	C1 (Fluidigm)
Extraction des acides nucléiques	Kit RNeasy (Qiagen)   autres kits possibles
Contrôle qualité des ARN	NanoDrop™
	Fragment Analyzer (Agilent Technology)
Rétrotranscription des acides nucléiques	RT orientée ou spécifique Kit spécifiques (Fluidigm, Exiqon)   autres kits possibles
Contrôle qualité des ADNc	Fragment Analyzer (Agilent Technology)
Test multiplexage	CFX96 (BioRad®)
Calibration	Puce FlexSix (12.12)
Préamplification spécifique	Kit Fluidigm
qPCR	Biomark-HD™ et IFC contrôleurs (AX, HX et MX)
	Puce FlexSix ( $n_{\text{échantillon}} = 12$ et $n_{\text{cible}} = 12$ )
	Puce 48.48 ( $n_{\text{échantillon}} = 48$ et $n_{\text{cible}} = 48$ )
	Puce 96.96 ( $n_{\text{échantillon}} = 96$ et $n_{\text{cible}} = 96$ )
	Puce Access Array ( $n_{\text{échantillon}} = 48$ )
Puce 96 cellules	
Validation technique des données	Logiciel Fluidigm
Normalisation des données et analyses biostatistiques	Logiciel R

## Votre projet

**Titre du projet**

**Acronyme (6 lettres)**

**Nom du porteur de projet**

**Fonction**

**Mail**

**Téléphone**

**Laboratoire du porteur de projet**

**Statut du laboratoire**

Académique

Privé

**Adresse du laboratoire**

**Avez-vous une expérience en qPCR ?**

Oui

Non

**Décrivez votre projet et ses objectifs**

## Dessin expérimental

---

**Quel est votre modèle biologique ?**

**Quel est le nombre d'échantillons à quantifier ?**

**Quel est le nombre de cibles que vous souhaitez étudier ?**

**Quels sont vos gènes de références ?**

**Décrivez les expériences envisagées et les différentes conditions à analyser/comparer ?**

**Quelle chimie est envisagée ?**

- Sondes à hydrolyse
- EvaGreen
- Autre

**Les sondes/amorces ont-elles préalablement été testées et validées ?**

- Oui
- Non

**Quelle est leur température d'hybridation ?**

°C

## Réalisation du projet

---

**Quand souhaiteriez-vous débiter/finir ce projet ?**

**Quelles prestations souhaiteriez-vous que la plateforme assure ?**

- Préparation de cellules uniques
- Extraction des ARN
- Extraction des miRNA
- Dosage et dilution des ARN
- Contrôle qualité des ARN
- Rétro-transcription
- Contrôle qualité de tous les ADNc
- Contrôle qualité de quelques ADNc
- Test de multiplexage des amorces
- Calibration sur puce FlexSix
- Préamplification spécifique des ADNc
- Quantification par qPCR
- Validation technique des données
- Normalisation des données de qPCR
- Analyses biostatistiques

## Recommandations techniques

---

- Les échantillons devront être fournis en plaque 96 puits DNase/RNase-free, dans un volume minimum de 5µL. Les cellules feront l'objet d'un protocole particulier qui sera discuté avec le porteur de projet.
- Nous pouvons assurer la réception des sondes/amorces directement sur la plateforme. Dans le cas échéant, les sondes/amorces (10µM de chaque amorce) seront également fournies dans une plaque 96 puits DNase / RNase-free. Dans le cas de sondes à hydrolyse, nous proposons une tarification avantageuse sur les sondes Taqman™ en accord avec Thermofisher.
- En cas d'envoi, il est nécessaire de prévoir d'utiliser de la carboglace en quantité suffisante pour que les échantillons/sondes/amorces restent congelés au moins 3 jours (à titre indicatif la sublimation de carboglace est de 1kg/24h).
- Nous recommandons de contrôler la qualité de tous les ARN et ADNc.
- Notre technologie impose une préamplification spécifique des échantillons. Cette préamplification est calibrée sur une puce FlexSix.
- Avec la technologie Fluidigm les réplicats techniques ne sont pas nécessaires. Les réplicats biologiques sont fortement recommandés pour évaluer la variabilité biologique dans les différentes conditions expérimentales.

## Conditions générales de collaboration

---

La plateforme qPCR-HD-GPC de l'Institut de Biologie de l'École Normale Supérieure réalise de prestations de PCR quantitative à haut débit selon le mode de fonctionnement d'une collaboration entre l'utilisateur (ci-après dénommé « le porteur de projet ») et la plateforme qPCR-HD-GPC (ci-après dénommée « la plateforme »). Les conditions de cette collaboration sont énoncées ci-dessous. Merci de les lire attentivement, et de signer ce document si vous les acceptez.

- Les échantillons sont soit apportés en main propre soit envoyés à la plateforme dans un colis de carboglace. Les échantillons doivent être accompagnés par le bon de commande correspondant au devis ainsi que ce document de collaboration signé par le « porteur de projet ». La conservation des échantillons n'est pas garantie dans le temps par « la plateforme ». Si les échantillons sont précieux, ils peuvent être récupérés par le « porteur de projet » lorsque le projet est terminé.
- Toutes les données produites par « la plateforme » sur votre projet ne sont accessibles que par les personnels de la plateforme. Aucune divulgation de vos données n'est effectuée sans votre accord explicite et formulé par écrit.
- La collaboration de recherche mise en place implique que les expérimentateurs associés au projet figurent dans la liste des auteurs de la première publication présentant les résultats obtenus si la plateforme a participé à la réalisation des expériences de qPCR haut débit et/ou à l'analyse des résultats. Le personnel de « la plateforme » peut également participer à la rédaction de la partie méthodes et résultats de l'article, si le porteur de projet le souhaite. Dans tous les cas, la mention de la participation de la « plateforme » et de la Région Ile-de-France devra apparaître dans la partie remerciements de la publication avec la phrase suivante : « this project was carried out on the qPCR-HD-Genomic Paris Centre core facility and was supported by grants from Région Ile-de-France ».
- Les informations contenues dans ce document ne sont valables que 6 mois à compter de la date de signature des conditions de collaboration et devront faire l'objet d'une nouvelle collaboration si l'ensemble des échantillons prévus n'est pas parvenu sur la plateforme au-delà de cette durée.

**Signature du « porteur de projet précédé de la mention « Lu et approuvé »**

Fait à \_\_\_\_\_ ,  
Le \_\_\_\_\_

**Signature du « Responsable de la plateforme » précédé de la mention « Lu et approuvé »**

Fait à \_\_\_\_\_ ,  
Le \_\_\_\_\_