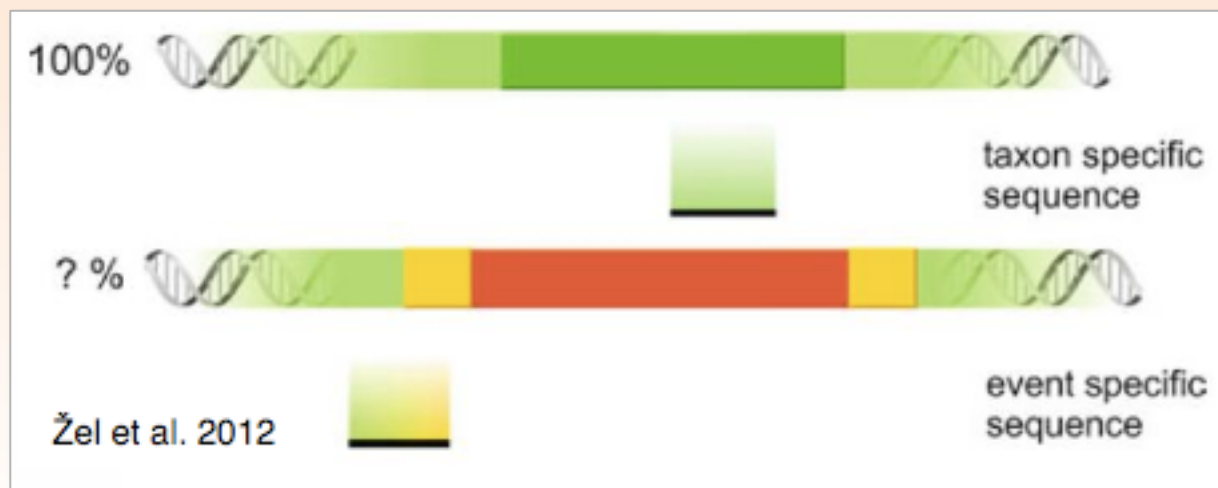


Application de la PCR Numérique à la Détection d'OGM dans l'Alimentation

60 pays (40% population mondiale) exigent un étiquetage des aliments contenant des OGM au dessus d'une certaine norme (ex. : Chine 0% ; Canada 5%)

Réglementation européenne (note 1829/2003)

- ✓ Etiquetage obligatoire d'un aliment si $\geq 0,9\%$ d'OGM
- ✓ Les résultats des analyses quantitatives doivent être exprimé comme le % d'ADN transgénique par rapport à un gène de référence chez la même espèce.



Application de la PCR Numérique à la Détection d'OGM dans l'Alimentation

Analyse de farines de maïs et de corn flakes pour quantification de l'OGM MON810

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS ONE

Quantitative Analysis of Food and Feed Samples with Droplet Digital PCR

Dany Morisset*, Dejan Štebih, Mojca Milavec, Kristina Gruden, Jana Žel

Department of Biotechnology and Systems Biology, National Institute of Biology, Ljubljana, Slovenia

Table 1. Application of the ddPCR duplex assay on different sample matrices.

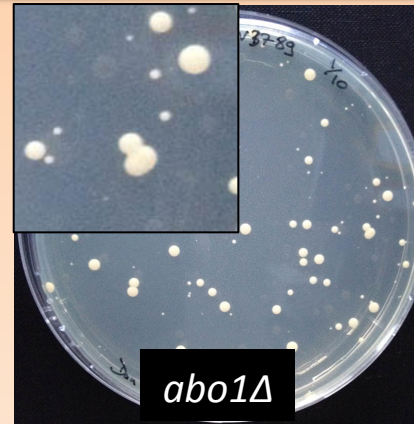
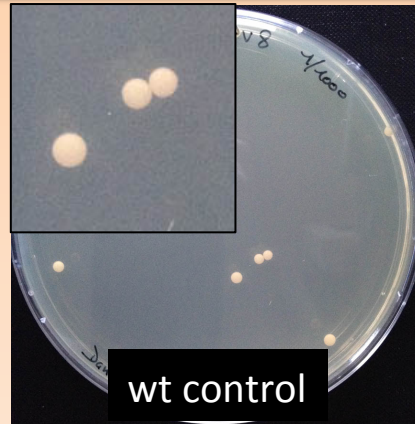
Sample	Target value	Average MON810% (ddPCR)	Bias MON810% (ddPCR)	Average MON810% (qPCR)	Bias MON810% (qPCR)
ERM-BF413d	0.57% ^a	0.62%	8.0%	0.46%	-19.3%
ERM-BF413f	2.85% ^a	2.92%	2.5%	2.29%	-19.6%
ERM-BF413ek	0.77% ^a	0.70%	-9.0%	0.58%	-24.7%
ERM-BF413gk	3.85% ^a	3.68%	-4.1%	3.66%	-4.9%
G0009/04	0.29% ^c	0.26%	-11.7%	0.29%	n.a.
G0180/07	0.04% ^c	0.04%	2.9%	0.04%	n.a.
G211/10	0.45% ^b	0.46%	-1.8%	0.50%	11.1%
G212/10	2.10% ^b	2.32%	10.4%	2.30%	9.5%
G231/11	2.64% ^c	2.31%	-12.4%	2.64%	n.a.
G0147/08	29.6% ^c	21.7%	-26.7%	29.6%	n.a.
G254/11	3.82% ^c	3.47%	-9.2%	3.82%	n.a.

La qPCR est extrêmement sensible aux inhibiteurs co-purifiés pendant les extractions d'ADN

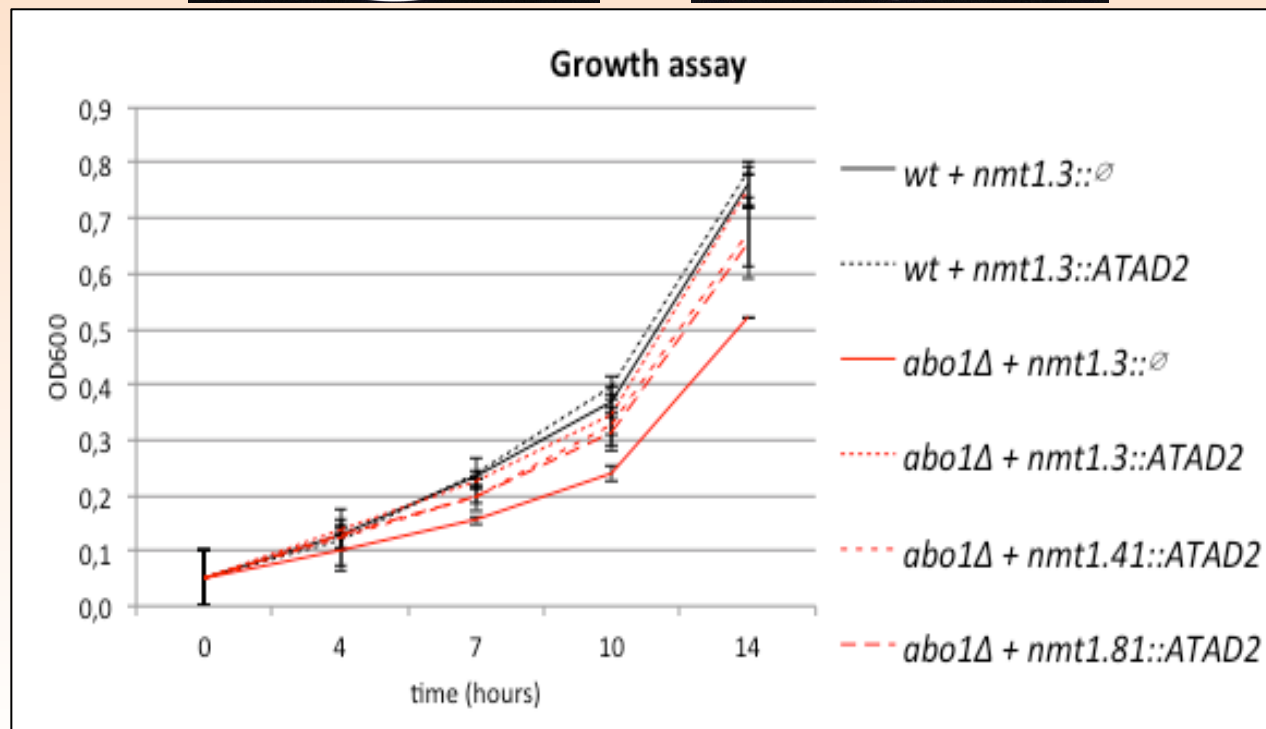
Travaux pratiques

**Analyse de l'abondance de transcrits des régions
péricentromérique, subtélomérique et des transposons
dans un mutant conditionnel de levure
*Schizosaccharomyces pombe***

Etude de la fonction de la protéine de levure Abo1

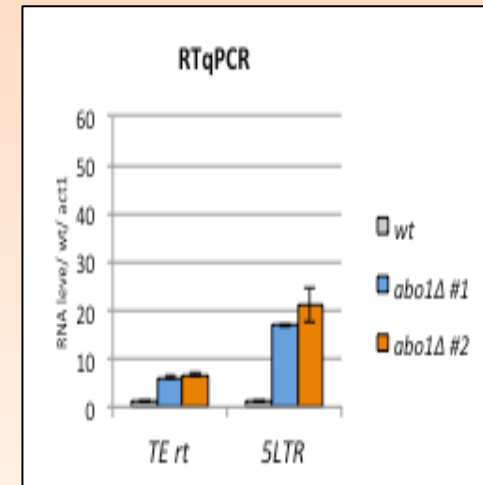
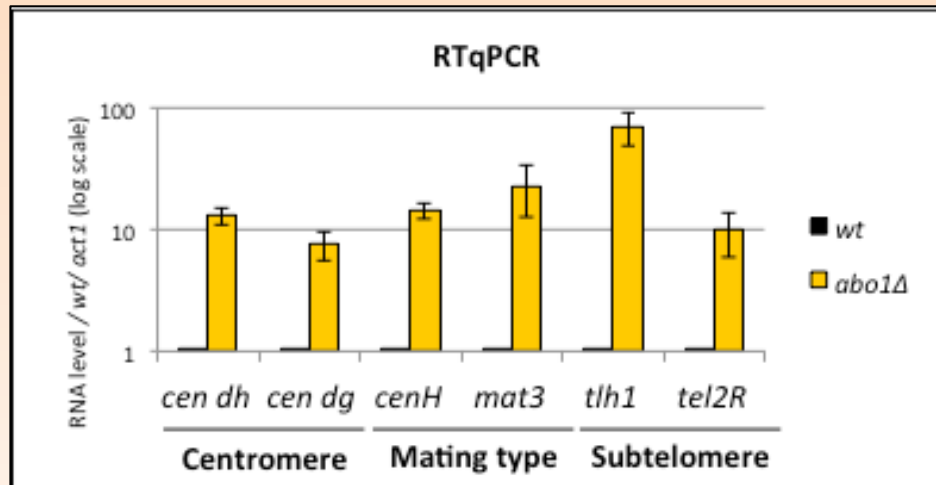


abo1Δ a un défaut de pousse



Le défaut de pousse d'*abo1Δ* est complétement par l'expression de son homologue humain Atad2

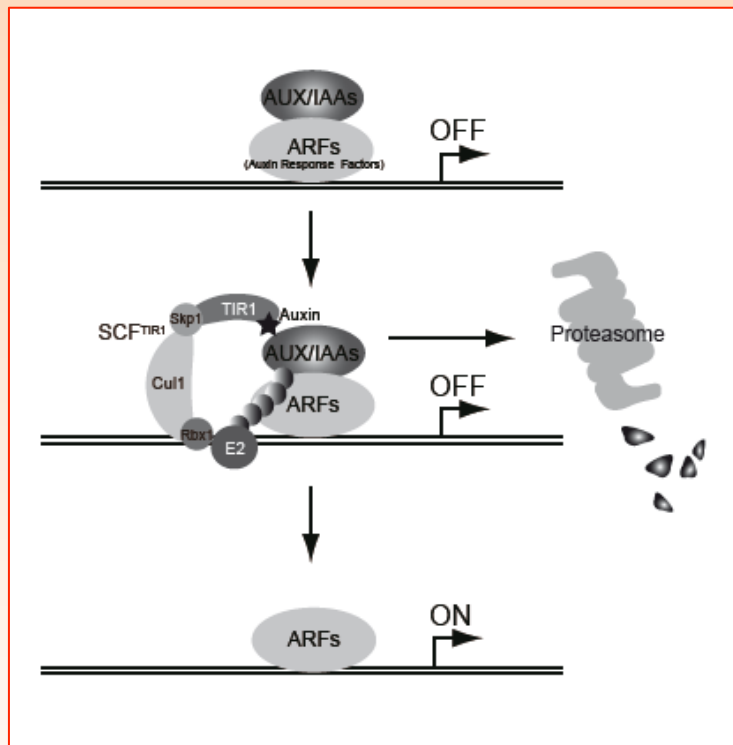
Etude de la fonction de la protéine de levure Abo1



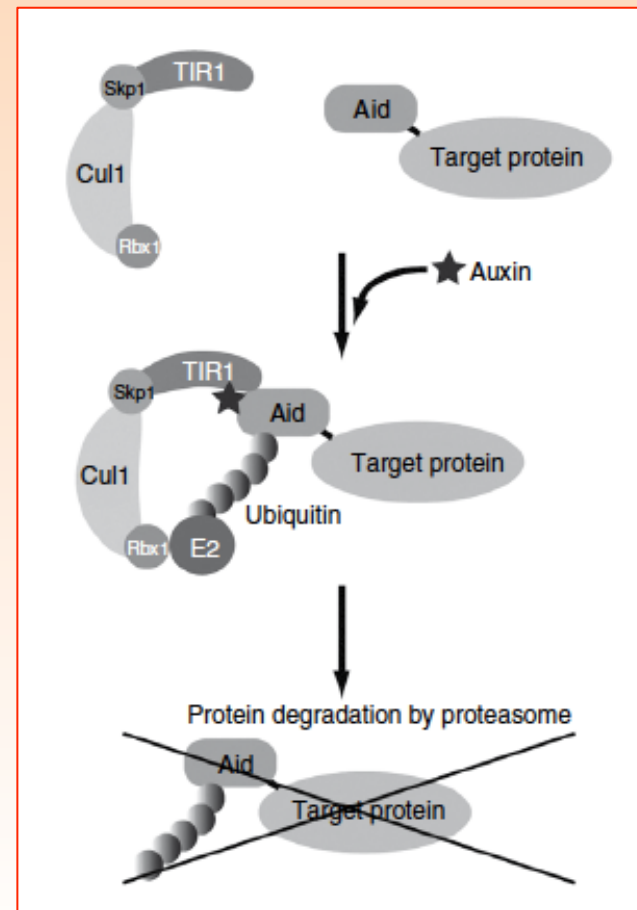
L'absence d'Abo1 induit une accumulation de transcrits correspondant aux régions d'hétérochromatine et aux transposons

Mutant Conditionnel d'*abo1*: le Système Degron AID

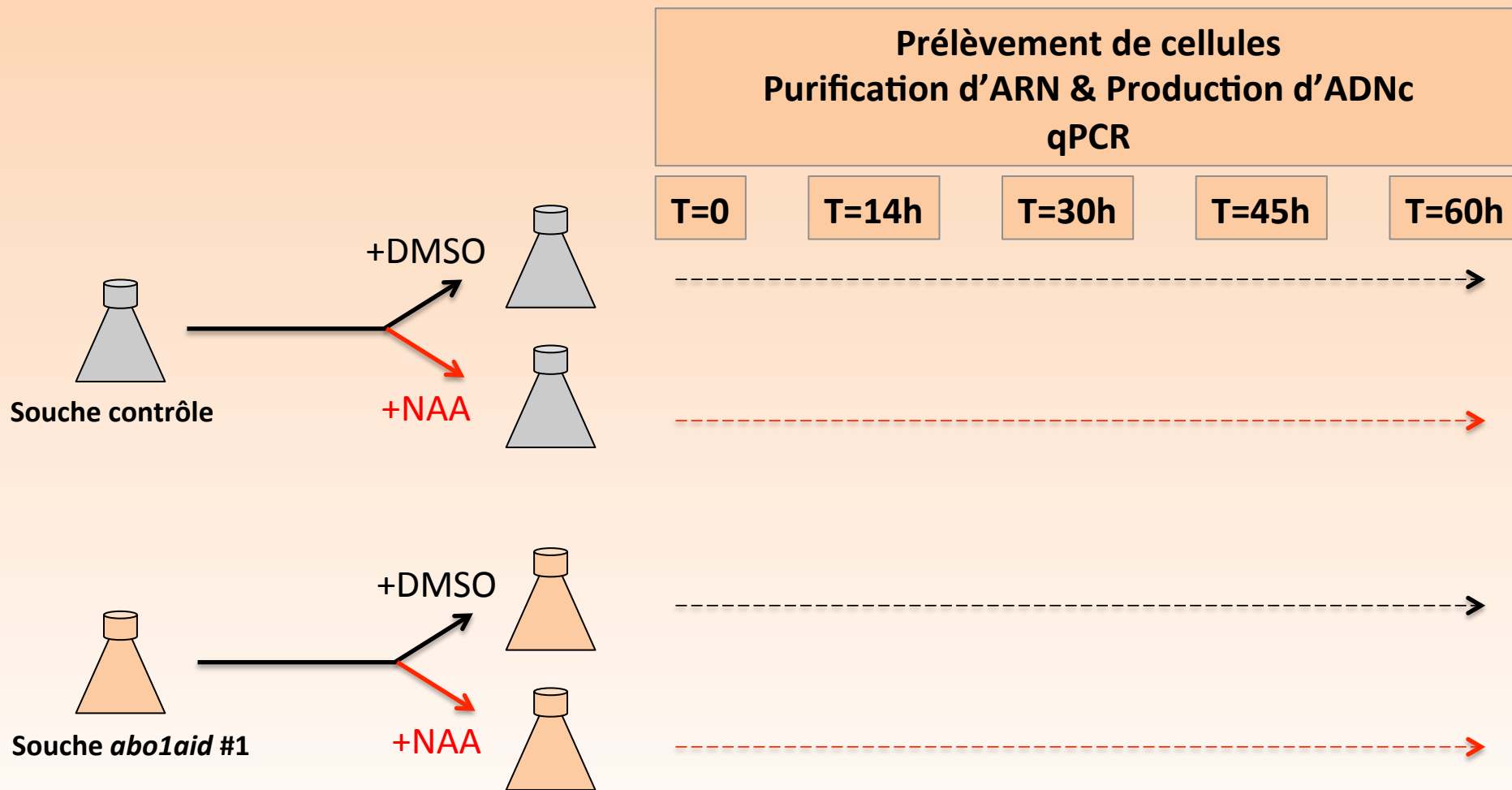
Control of auxin early response gene in plants



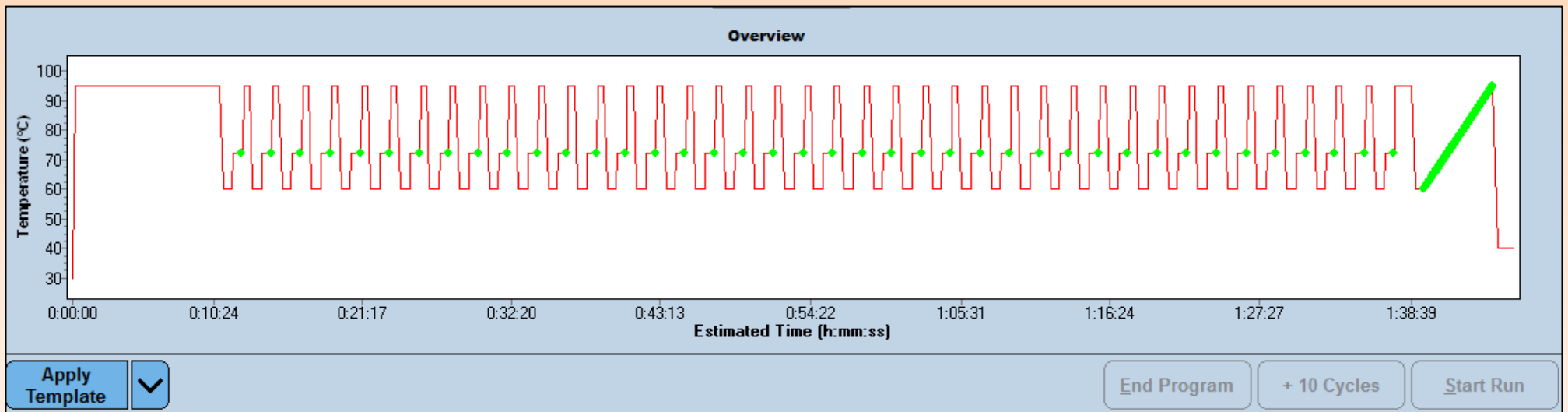
Auxin Induced Degron (AID) system



Le mutant *abo1aid* a t-il les mêmes phénotypes qu'*abo1Δ*?



Analyse des résultats d'une plaque de qPCR



Analyse des résultats d'une plaque de qPCR

LightCycler® 480 Software release 1.5.0

Instrument: No active instrument

Window: 160513-t60 FC_BGB

Step 1: Select Workflow

Abs Quant Rel Quant Scanning Color
 Tm Melt Geno Endpt Geno

Step 2: Select Samples

Subset: All Samples

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Red	Red	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
B	Red	Red	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
C	Red	Red	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
D	Red	Red	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue
E	Yellow	Yellow	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey	Grey
F	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
G	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Red	Red	Red	Red	Red	Red
H	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Dark Green	Dark Green	Dark Green	Dark Green	Dark Green	Dark Green

Combined Sample and Target Type

- Red Target PosCalibrator
- Blue Target Unknown
- Yellow Ref PosCalibrator
- Grey Ref Unknown

1 - Identification des puits

Souche contrôle + DMSO / gènes testés

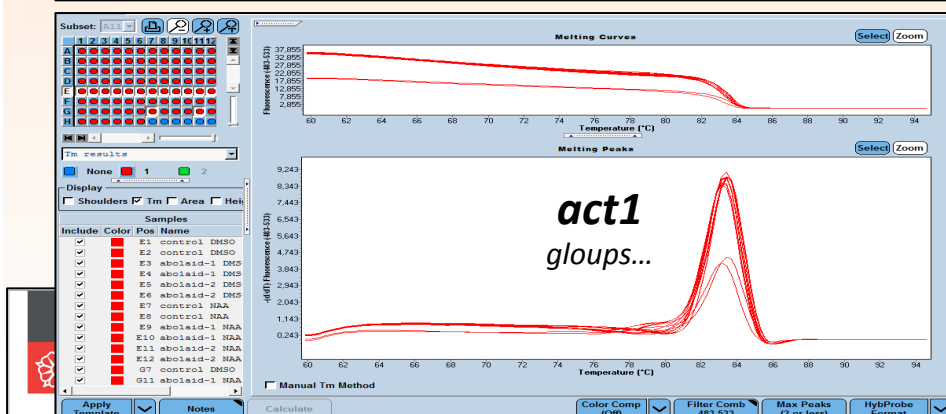
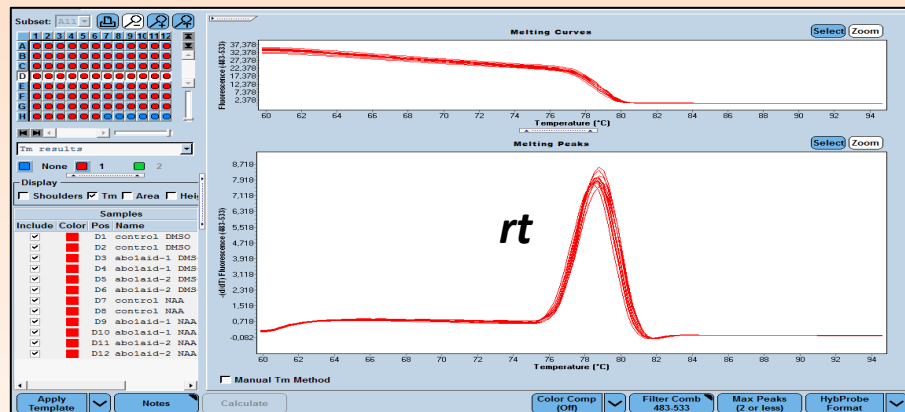
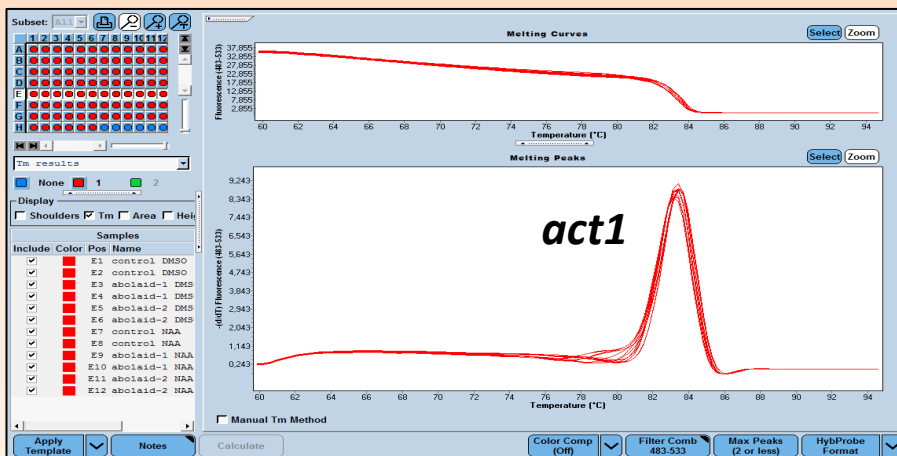
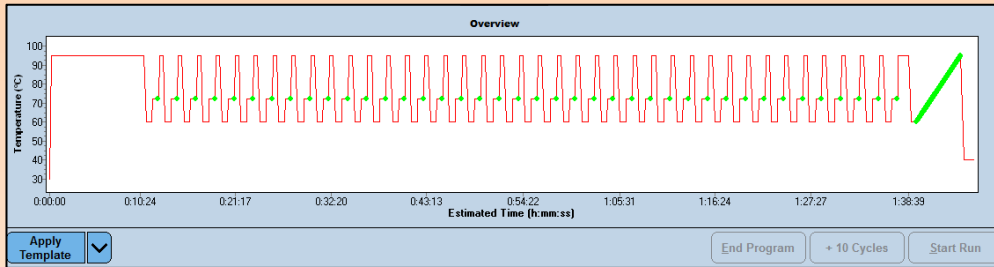
Autres souches / gènes testés

Souche contrôle + DMSO / actine1 (gène de ménage)

Autres souches / actine1

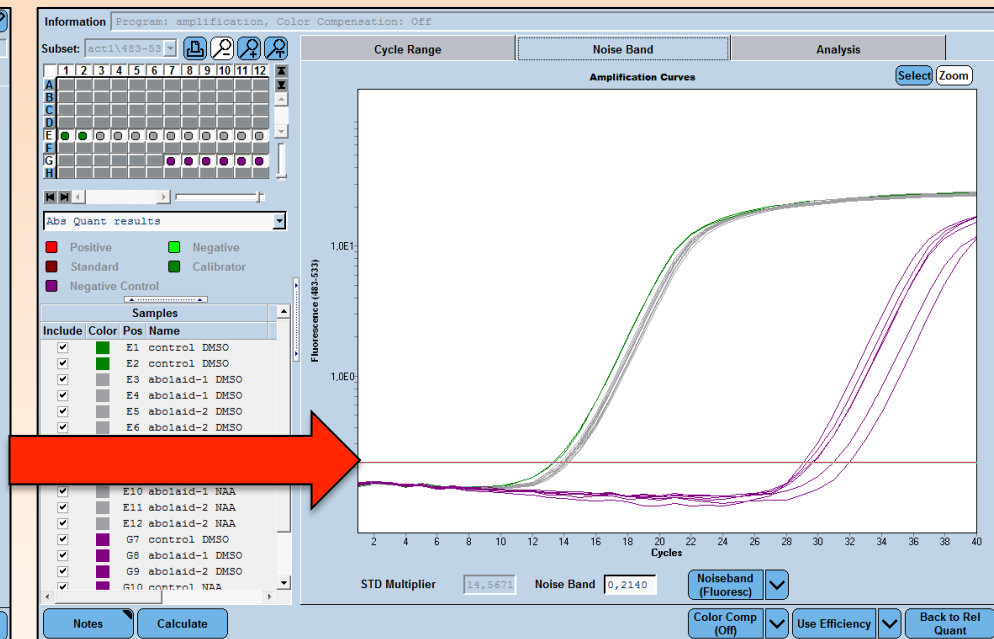
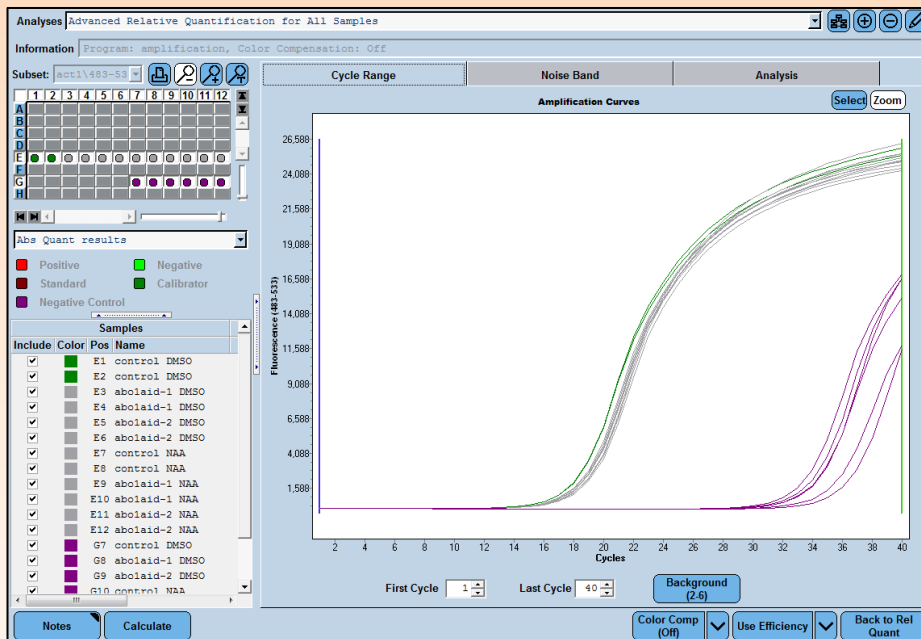
Analyse des résultats d'une plaque de qPCR

2 – Vérification des courbes de fusion (melting curves)



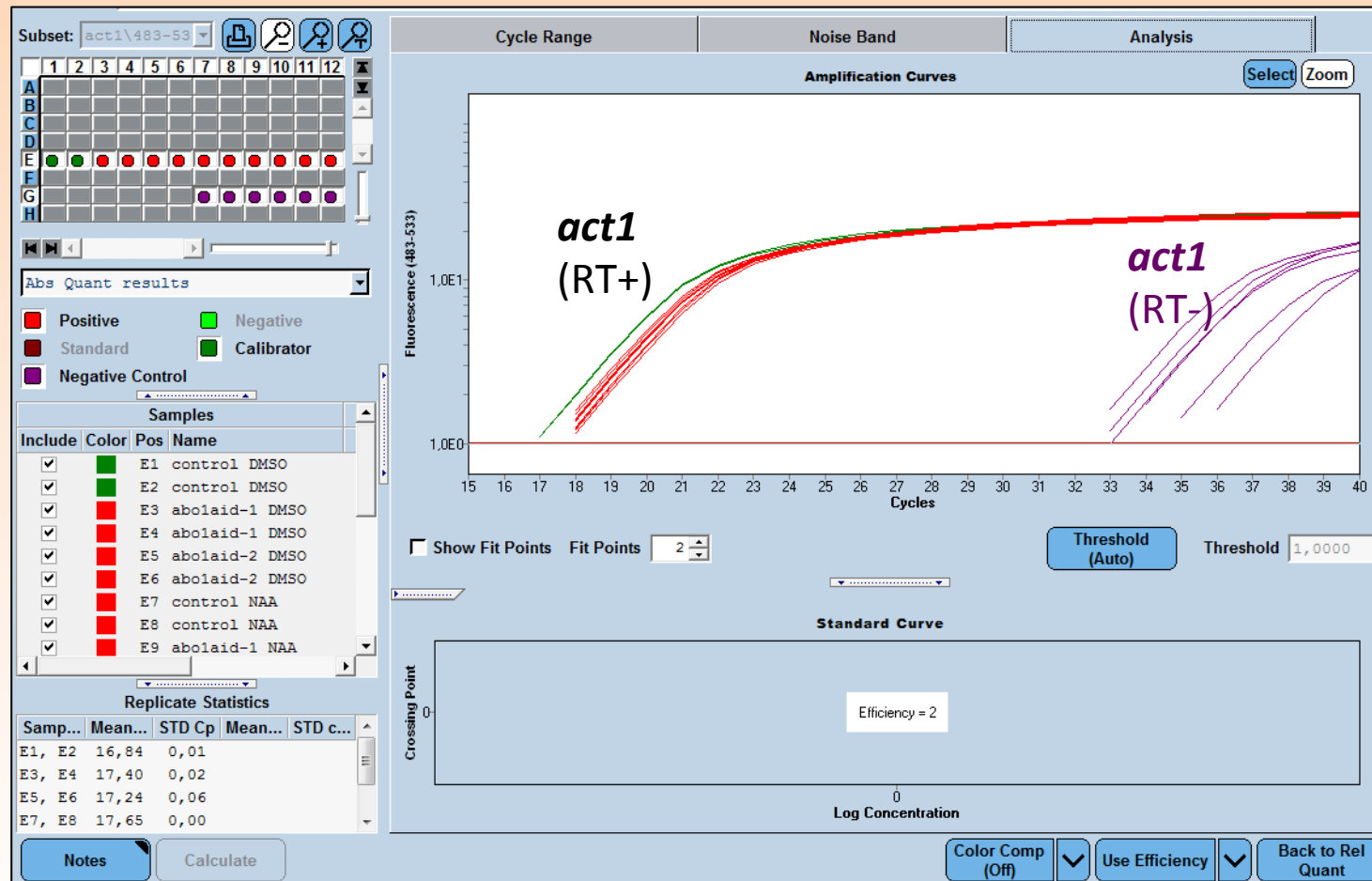
Analyse des résultats d'une plaque de qPCR

3 – Définir le seuil de détection de l'amplification pour chaque gène (threshold)



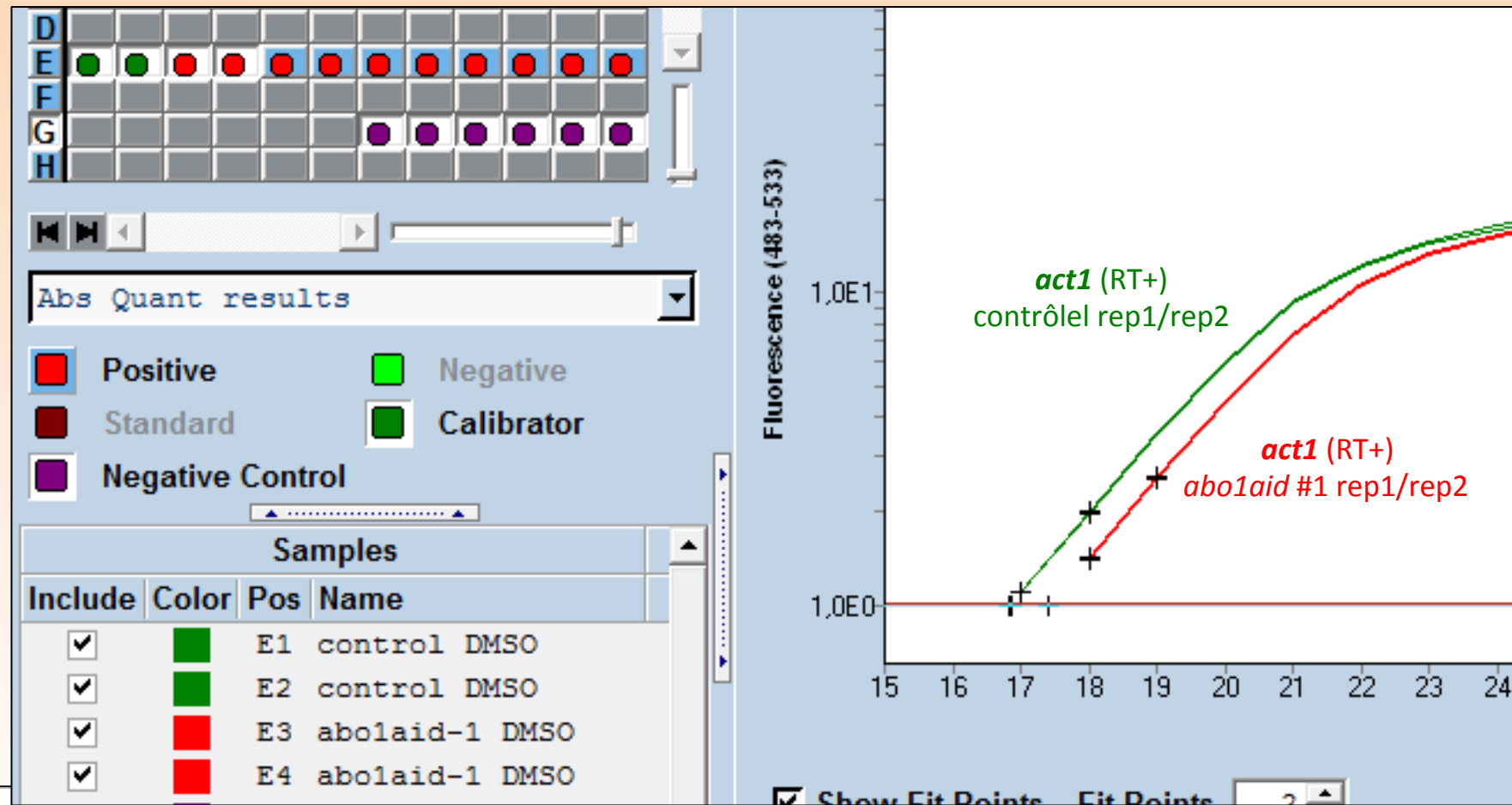
Analyse des résultats d'une plaque de qPCR

4 – Déterminer les Ct (threshold cycle) pour chaque amplification

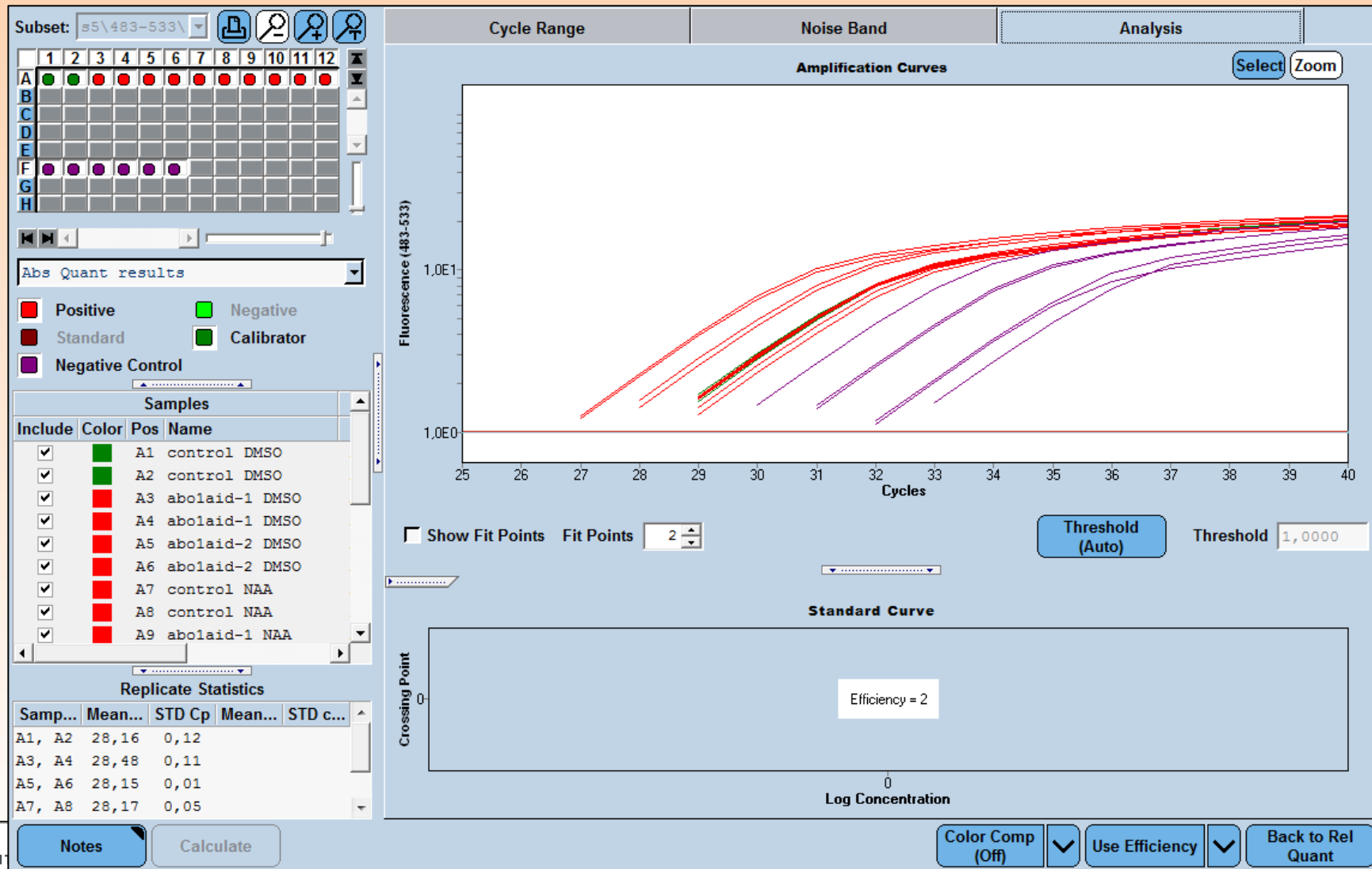


Analyse des résultats d'une plaque de qPCR

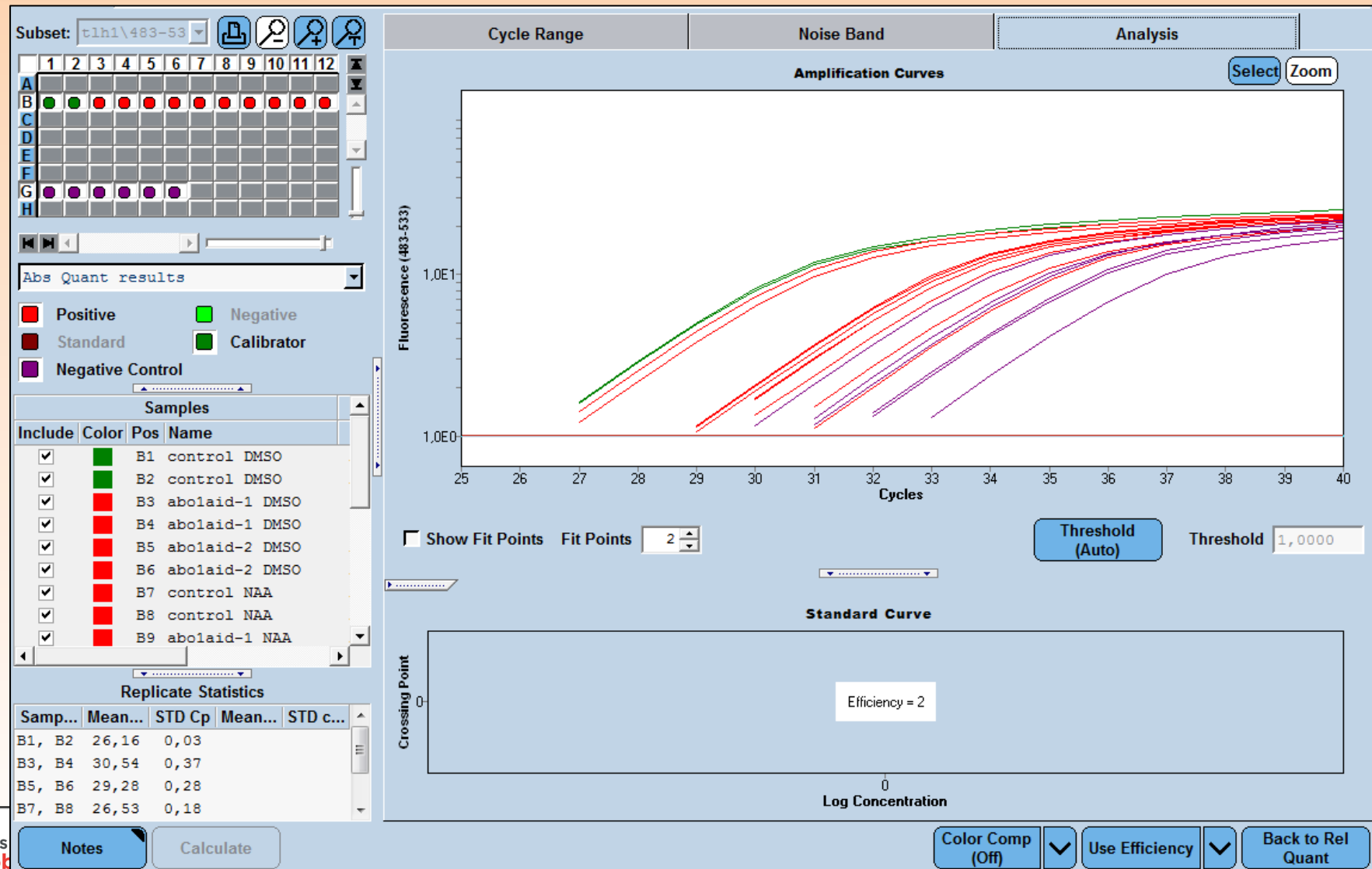
5 – Vérifier la reproductibilité des amplification entre duplicats techniques



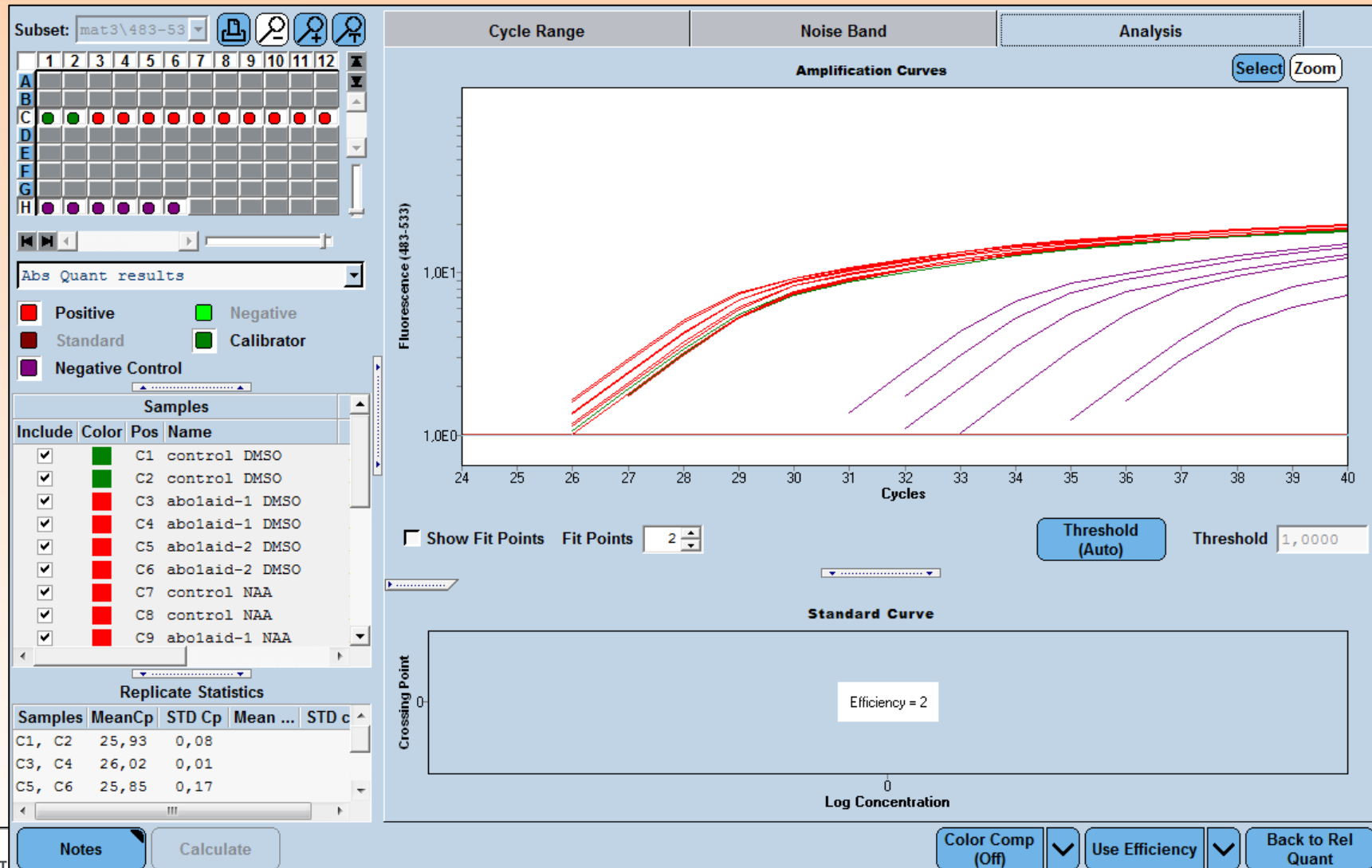
Analyse des résultats d'une plaque de qPCR



Analyse des résultats d'une plaque de qPCR



Analyse des résultats d'une plaque de qPCR



Analyse des résultats d'une plaque de qPCR

