

Nous sommes heureux de vous informer que la plateforme vient de se doter d'un système de PCR digitale en émulsion sur puces microfluidiques. Il s'agit du système Naica fabriqué par la société Stilla Technologies ( <https://www.stillatechnologies.com> ). L'instrument sera disponible sur la plateforme à partir du 11 juin 2018, et son utilisation sera ouverte à toutes et tous, régie par les règles en vigueur sur la plateforme.

Pour celles et ceux qui veulent en savoir plus, voici quelques informations supplémentaires :

Complémentaire à la qPCR, la dPCR permet de dépasser les limites de cette dernière, à savoir : quantification absolue impossible si l'on ne possède pas d'acide nucléique de référence, détection de SNP difficile en cas de déséquilibre allélique < 5 %, résolution de CNV limitée à 2 copies contre 3 copies, sensibilité aux inhibiteurs contenus dans les échantillons environnementaux. Voici quelques exemples d'applications :

- Quantification absolue [1,2,3], en particulier sur des échantillons environnementaux contenant de très faibles quantités d'acides nucléiques et pour lesquels on ne dispose pas d'ADN ou d'ARN de référence.
- Préparation de banques NGS [1,7] : la dPCR permet de quantifier de façon fiable les banques destinées au séquençage haut débit, voire même de contrôler la taille des fragments contenus dans ces banques, permettant ainsi d'optimiser la procédure de préparation.
- Génotypage [4,5]:
  - o Détection d'allèles rares / individus rares : le partitionnement de l'échantillon en réacteurs de quelques nanolitres permet d'isoler des molécules uniques et de les amplifier sans compétition, permettant ainsi la détection d'individus ou d'allèles rares (1/20000) dans une population et de les faire ainsi 'sortir du bruit de fond'. Ceci permet d'atteindre une sensibilité inégalable en e-barcoding ou dans la détection des mutations somatiques.

## PCR digitale (dPCR) en émulsion

Written by Administrator

Monday, 28 May 2018 14:40 - Last Updated Monday, 28 May 2018 14:46

---

o Résolution des CNV [6]: en qPCR classique, pour distinguer la présence de 4 copies versus 5 copies, il faut 456 réplifications du même échantillon ; en dPCR, l'échantillon fractionné en 20k partitions résout plus facilement le même CNV.

### Références:

- 1) White RA et al (2009). Digital PCR provides sensitive and absolute calibration for high throughput sequencing. *BMC Genomics* 10:116.
- 2) Tadmor AD (2011). Probing individual environmental bacteria for viruses by using microfluidic digital PCR. *Science* 333: 58 – 62.
- 3) Majumdar N et al (2015). Digital PCR Modeling for Maximal Sensitivity, Dynamic Range and Measurement Precision. *PloSONE* 10(3): e0118833.
- 4) Deniz Pekin et al (2011). Quantitative and sensitive detection of rare mutations using droplet-based microfluidics. *Lab Chip* 11, 2156
- 5) Coren A. Milbury et al (2014). Determining lower limits of detection of digital PCR assays for cancer-related gene mutations. *Biomolecular Detection and Quantification* 1:8–22.
- 6) Suzanne Weaver et al (2010). Taking qPCR to a higher level: Analysis of CNV reveals the power of high throughput qPCR to enhance quantitative resolution. *Methods* 50: 271–276.
- 7) Dirk S Paul et al (2014). Assessment of RainDrop BS-seq as a method for large-scale, targeted bisulfite sequencing. *Epigenetics* 9:5, 678–684.

## PCR digitale (dPCR) en émulsion

Written by Administrator

Monday, 28 May 2018 14:40 - Last Updated Monday, 28 May 2018 14:46

---

Pour plus d'informations, voir aussi : <http://digital-pcr.gene-quantification.info/> .