

Le guide MIQE: Informations minimales pour la publication d'articles liés à la RT-PCR Quantitative

Points de contrôle pour auteurs, relecteurs et éditeurs.^a

POINTS DE CONTRÔLE	IMPORTANCE
PLAN D'EXPÉRIENCE	
Définition des groupes expérimentaux et groupe(s) témoin(s)	E
Effectif de chaque groupe expérimental	E
Lieu d'expérimentation : s'agit-il du laboratoire de l'investigateur, des équipements propres à l'organisme auteur de la recherche ?	D
Notification de la contribution des auteurs	D
ÉCHANTILLONS	
Description	E
Volume/masse de l'échantillon utilisé	D
Microdissection ou macrodissection	E
Procédure de traitement	E
Congélation – si applicable, comment et à quelle vitesse	E
Fixation – si applicable, comment et à quelle vitesse	E
Conservation des échantillons – les conditions et la durée (spécialement pour les échantillons FFPE ^b)	E
EXTRACTION DES ACIDES NUCLÉIQUES	
Procédure et/ou instruments utilisés	E
Nom du kit utilisé et détail d'éventuelles modifications dans le protocole	E
Source des réactifs additionnels utilisés	D
Détail des traitements DNase ou RNase	E
Vérification de l'absence de contamination (ADN ou ARN)	E
Quantification des acides nucléiques	E
Instrument et méthode	E
Pureté de l'acide nucléique extrait (DO260/280)	D
Rendement de l'extraction	D
Mesure de l'intégrité de l'ARN (méthode et instrument)	E
RIN ou Cq des transcrits 3' et 5'	E
Profil d'électrophorèse	D
Test d'inhibition	E
RÉTROTRANSCRIPTION	
Conditions exhaustives de la réaction	E
Quantité d'ARN utilisée et volume final	E
Oligonucléotides utilisés et concentrations	E
Transcriptase inverse : nature et concentration	E
Temps et température	E
Fournisseur du kit et des réactifs	D
Cq avec et sans rétrotranscription	D ^c
Conditions de stockage de l'ADNc	D
INFORMATIONS RELATIVES À L'AMPLICON	
Dans le cas d'une qPCR multiplex : efficacité et limite de détection de chaque cible	E
Référence de la séquence	E
Localisation de l'amplicon	D
Longueur de l'amplicon	E
Test de spécificité <i>in silico</i>	E
Pseudogènes, rétrospéudogènes et autres homologues	D
Alignement de séquences	D
Structures secondaires de l'amplicon	D
Localisation de chaque amorce par rapport aux introns et exons (si applicable)	E
Variants d'épissage ciblés	E

^a Toutes les informations essentielles (E) doivent figurer dans le manuscrit. Les informations désirables (D) doivent être incluses si elles sont disponibles. Si les amorces viennent de RTPrimer DB, les informations relatives aux oligonucléotides, les protocoles et leur validations sont disponibles sur cette source.

^b FFPE, formalin-fixed, paraffin-embedded (fixation par formaline, encapsulation en paraffine); RIN, RNA integrity number (marqueur de qualité de l'intégrité des ARN); RQI, RNA quality indicator (Indicateur de qualité des ARN); GSP, gene-specific priming (Amorçage gène-spécifique); dNTP, deoxynucléoside triphosphate.

^c La vérification de l'absence d'ADN par un essai sans rétrotranscription est une information essentielle dans le cas d'une primo-extraction d'ARN. Une fois l'échantillon attesté comme dépourvu d'ADN, ce type de contrôle est désirable et non plus essentiel.

POINTS DE CONTRÔLE	IMPORTANCE
OLIGONUCLÉOTIDES	
Séquence des amorces	E
Référence des amorces (RTPrimerDB)	D
Séquence des sondes (si applicable)	D ^d
Localisation et détail de toute modification	E
Fournisseur des oligonucléotides	D
Méthode de purification	D
PROTOCOLE DE QPCR	
Conditions complètes de la réaction	E
Volume réactionnel et quantité d'ADN ou d'ADNc	E
Concentrations des amorces, sondes, magnésium, dNTPs	E
Identité et concentration de la polymérase	E
Tampon/kit utilisé	E
Composition chimique exacte du tampon	D
Additifs (Sybr Green I, DMSO...)	E
Fournisseur des plastiques utilisés	D
Paramètres des cycles d'amplification	E
Mise en œuvre de la réaction (manuelle ou automatisée)	D
Fournisseur de la machine de qPCR	E
VALIDATION DE LA QPCR	
Preuve d'optimisation (gradients)	D
Preuve de la spécificité	E
Pour la chimie Sybr Green, Cq du contrôle négatif	E
Courbes d'étalonnage avec pente et ordonnée à l'origine	E
Efficacité de la qPCR calculée à partir de la pente	E
Intervalle de confiance ou écart type pour l'efficacité	D
R ² de la courbe standard	E
Gamme linéaire dynamique	E
Variation du Cq à la limite inférieure	E
Intervalle de confiance au sein de la gamme	D
Preuve de la limite de détection	E
Dans le cas d'une qPCR multiplex, limite de détection pour chaque essai	E
ANALYSE DES DONNÉES	
Logiciel d'analyse de qPCR (éditeur, version)	E
Méthode de détermination du Cq	E
Valeurs aberrantes: identification et dispositions prises	E
Résultats des contrôles négatifs (sans ADN ni ADNc)	E
Gènes de référence: nombre et pertinence	E
Description de la méthode de normalisation	E
Nombre et concordance de répliques biologiques	D
Nombre et étape de répliques techniques	E
Répétabilité (variation intra essai)	E
Reproductibilité (variation inter essai)	D
Étude de puissance	D
Méthodes statistiques utilisées pour déterminer la significativité ou non des résultats	E
Logiciel utilisé pour les statistiques (éditeur, version)	E
Soumission des résultats bruts au format RDML	D

Primer Design tient à remercier M. Maxime Dooms et Afif Abdel Nour

^d La mention des séquences des amorces est très désirable et fortement encouragée. Toutefois, tous les fournisseurs ne communiquant pas ce type d'information, ce point de contrôle ne saurait être essentiel. L'utilisation de tests « boîte noire » n'est pas recommandée.

The MIQE guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments: Clinical Chemistry 55:4 611–622 (2009): Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M. W., Shipley, G. L., Vandesompele, J., Wittwer, C. T.

Les produits de Primerdesign respectent le guide MIQE

www.primerdesign.co.uk enquiry@primerdesign.co.uk +44 (0)23 8074 8830

 **Primerdesign**[®]

Products for Real-Time PCR