

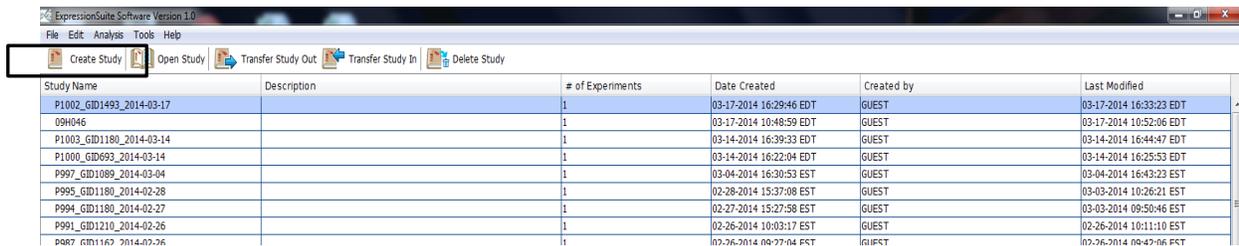
Comment analyser les résultats de qPCR avec Expression Suite

Expression Suite est un logiciel d'analyse de qPCR disponible gratuitement sur le site web de Life Technologies (pour PC seulement) à l'adresse suivante :

<http://www.lifetechnologies.com/ca/en/home/global/forms/expressionsuite-software-registration.html>

Expression Suite utilise la méthode comparative Ct ($\Delta\Delta C_t$) pour quantifier rapidement et avec précision l'expression relative de gènes sur un grand nombre d'échantillons. Le logiciel permet d'analyser un projet préparé sur une ou plusieurs plaques, avec plusieurs contrôles endogènes ; de donner les valeurs de RQ et écart-type ; d'ajuster les niveaux d'efficacité des essais et plusieurs autres fonctionnalités statistiques et graphiques. Vous pouvez également exporter vos données sur Excel.

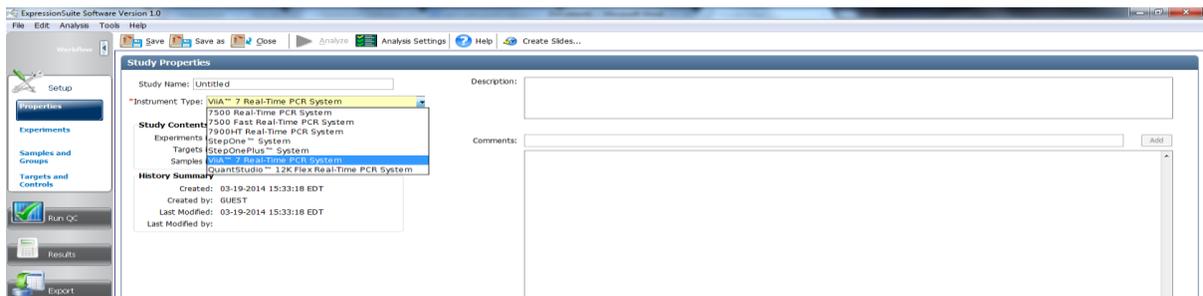
1. Sur le menu principal de Expression Suite, cliquez sur **Create Study**.



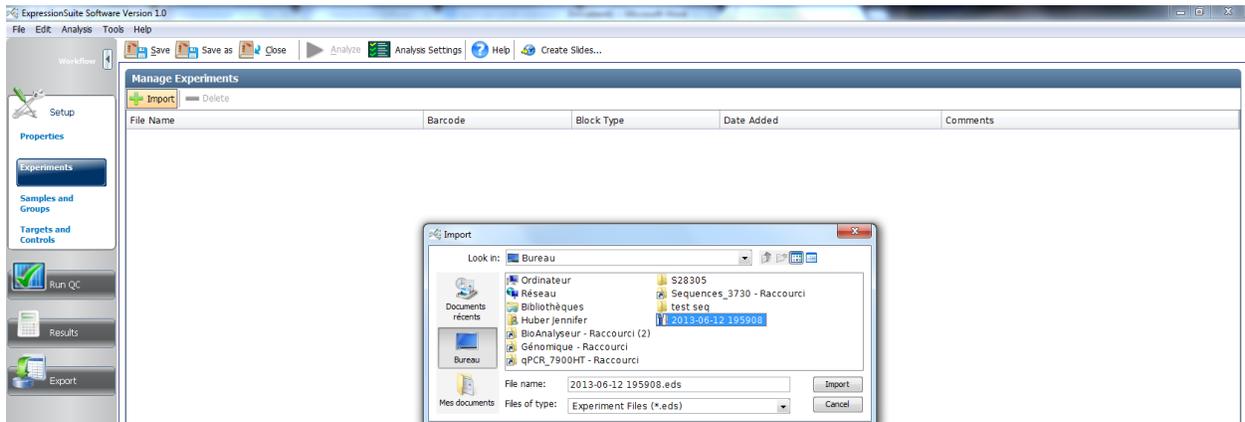
The screenshot shows the main window of Expression Suite Software Version 1.0. The 'Create Study' button is highlighted in the top toolbar. Below the toolbar is a table listing existing studies with columns for Study Name, Description, # of Experiments, Date Created, Created by, and Last Modified.

Study Name	Description	# of Experiments	Date Created	Created by	Last Modified
P1002_GID1493_2014-03-17		1	03-17-2014 16:29:46 EDT	GUEST	03-17-2014 16:33:23 EDT
09H046		1	03-17-2014 10:48:59 EDT	GUEST	03-17-2014 10:52:06 EDT
P1003_GID1180_2014-03-14		1	03-14-2014 16:39:33 EDT	GUEST	03-14-2014 16:44:47 EDT
P1000_GID693_2014-03-14		1	03-14-2014 16:22:04 EDT	GUEST	03-14-2014 16:25:53 EDT
P997_GID1089_2014-03-04		1	03-04-2014 16:30:53 EST	GUEST	03-04-2014 16:43:23 EST
P995_GID1180_2014-02-28		1	02-28-2014 15:37:08 EST	GUEST	03-03-2014 10:26:21 EST
P994_GID1180_2014-02-27		1	02-27-2014 15:27:58 EST	GUEST	02-26-2014 09:50:46 EST
P991_GID1210_2014-02-26		1	02-26-2014 10:03:17 EST	GUEST	02-26-2014 10:11:10 EST
0087_GIM1167_2014-02-26		1	02-26-2014 09:27:04 EST	GUEST	02-26-2014 09:47:06 EST

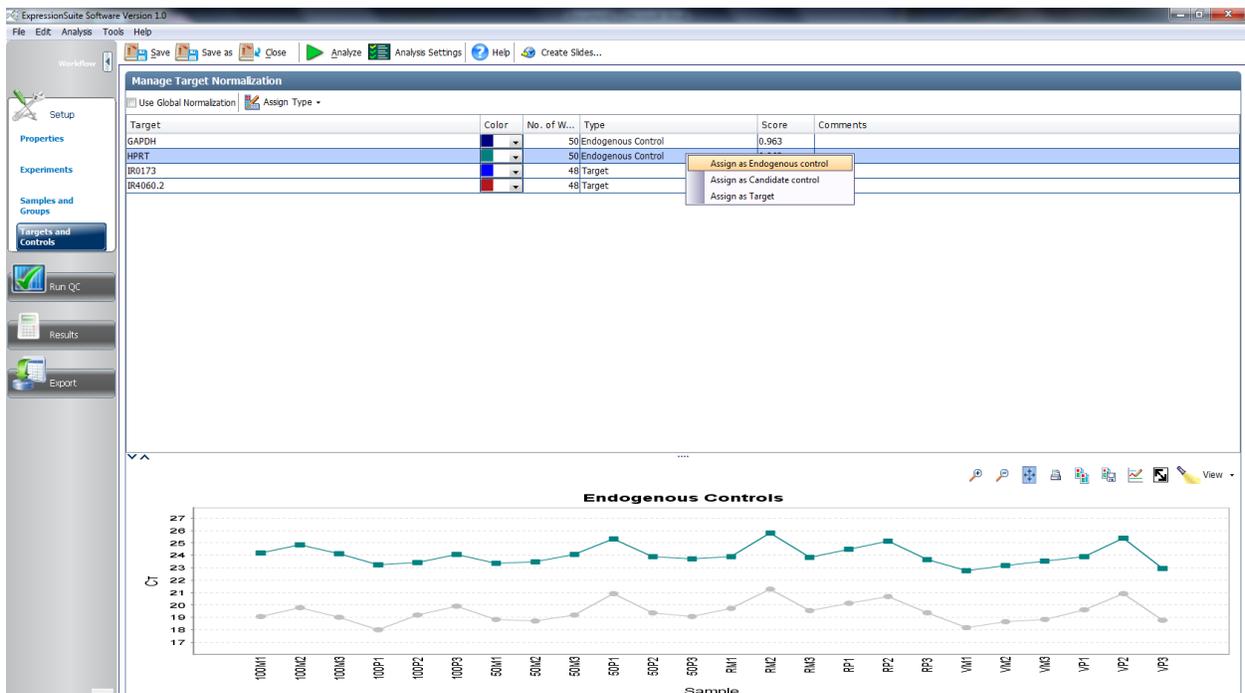
2. Nommez votre projet. Cliquez sur **Instrument type** et sélectionnez **Viia 7**.



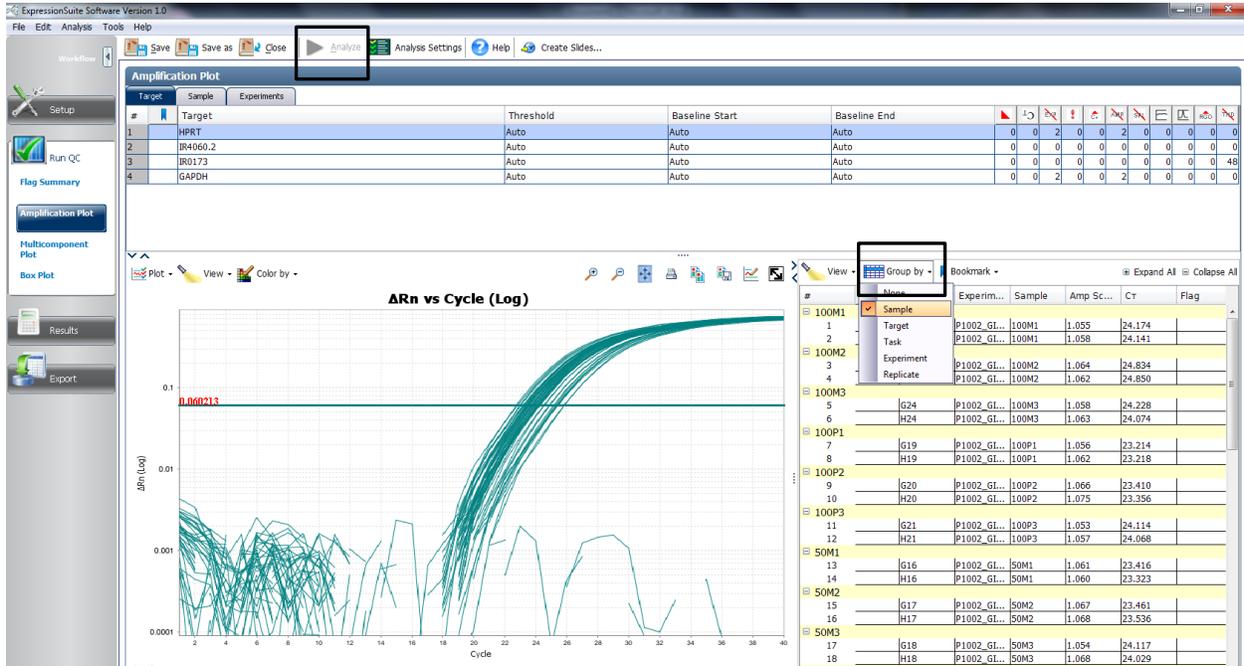
3. Dans le menu de gauche, cliquez sur **Experiments** puis **Import** pour importer un ou plusieurs projets.



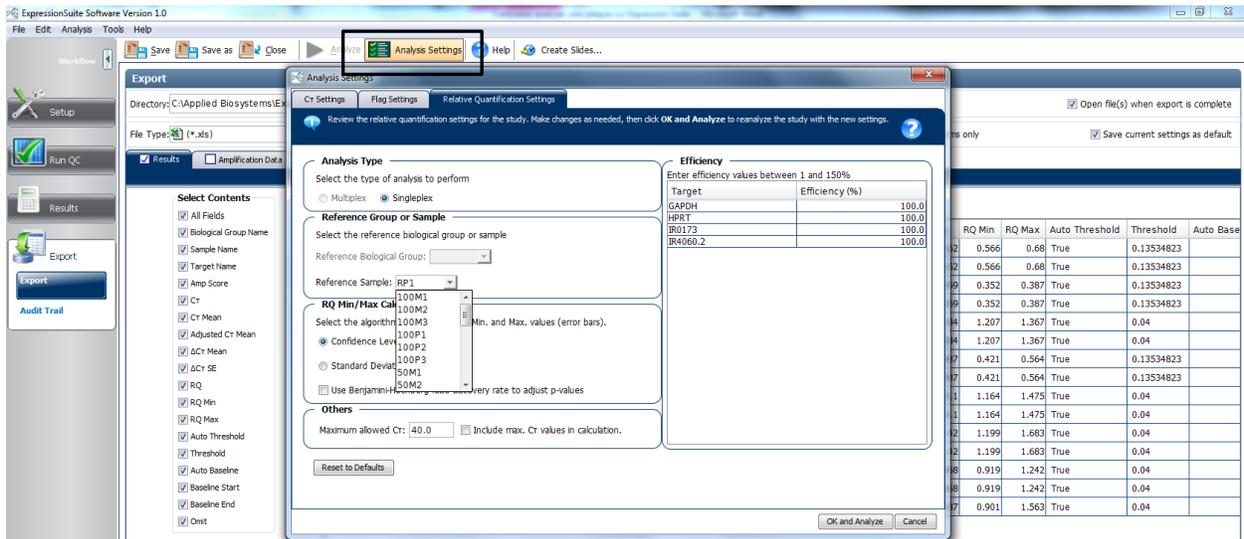
4. Dans le menu de gauche, cliquez sur **Samples and Groups** si vous avez des répliques biologiques à assigner.
5. Dans le menu de gauche, cliquez sur **Targets and Controls** pour assigner vos contrôles endogènes et vos gènes (Target) en cliquant avec le bouton de droite.



- Dans le menu de gauche, cliquez sur **Run QC** et **Amplification Plot** puis cliquez sur **Analyse**. Cliquez ensuite sur **Group by** et sélectionnez **Sample**. Vous pourrez alors vérifier vos duplicatas/triplicatas techniques, qui ne devraient pas excéder un Ct de plus de 0.3 entre chaque duplicata.



- Dans le menu de gauche, cliquez sur **Export** et **Export** puis sur **Analysis Settings**. Dans l'onglet **Relative Quantification Settings**, vous pourrez déterminer votre échantillon de référence ainsi que modifier certains paramètres statistiques. Vous pouvez aussi changer le % d'efficacité de chacun de vos essais. Il est recommandé pour un essai d'avoir une pente entre 3.0 et 3.6, ce qui correspond à une efficacité entre 90 et 110% respectivement. Cliquez sur **Ok and Analyze**.



8. Cliquez sur **Save**. Choisissez le dossier dans lequel vous voulez exporter votre fichier Excel en cliquant sur **Browse**. Vous pouvez modifier quelles valeurs vous voulez inclure (Sample Name, Target Name, RQ, RQ min, ect...) puis cliquez sur **Start Export**. Votre fichier Excel s'ouvrira automatiquement.

Directory: C:\Applied Biosystems\ExpressionSuite\User Files

File Type: (*.xls)

Select one file or separate files: Separate files

Bookmarked items only

Save current settings as default

Results Amplification Data Flag Summary

Previewing first 15 rows of data.

Biological Group Name	Sample Name	Target Name	Amp Score	Ct	Ct Mean	Adjusted Ct Mean	ΔCt Mean	ΔCt SE	RQ	RQ Min	RQ Max	Auto Threshold	Threshold	Auto Base
	100M2	IR4060.2	1.246	21.465	21.492	21.492	-0.827	0.048	0.62	0.566	0.68	True	0.13534823	
	100M2	IR4060.2	1.245	21.519	21.492	21.492	-0.827	0.048	0.62	0.566	0.68	True	0.13534823	
	100M1	IR4060.2	1.251	21.528	21.527	21.527	-0.078	0.024	0.369	0.352	0.387	True	0.13534823	
	100M1	IR4060.2	1.245	21.526	21.527	21.527	-0.078	0.024	0.369	0.352	0.387	True	0.13534823	
	50M2	IR0173	1.014	20.633	20.615	20.615	-0.484	0.032	1.284	1.207	1.367	True	0.04	
	50M2	IR0173	1.016	20.597	20.615	20.615	-0.484	0.032	1.284	1.207	1.367	True	0.04	
	100M3	IR4060.2	1.245	21.152	21.111	21.111	-0.479	0.076	0.487	0.421	0.564	True	0.13534823	
	100M3	IR4060.2	1.246	21.071	21.111	21.111	-0.479	0.076	0.487	0.421	0.564	True	0.13534823	
	50M3	IR0173	1.007	21.082	21.11	21.11	-0.513	0.062	1.311	1.164	1.475	True	0.04	
	50M3	IR0173	1.008	21.138	21.11	21.11	-0.513	0.062	1.311	1.164	1.475	True	0.04	
	50M1	IR0173	1.014	20.400	20.481	20.481	-0.629	0.088	1.42	1.199	1.683	True	0.04	
	50M1	IR0173	1.015	20.562	20.481	20.481	-0.629	0.088	1.42	1.199	1.683	True	0.04	
	50P3	IR0173	1.006	21.141	21.168	21.168	-0.218	0.078	1.068	0.919	1.242	True	0.04	
	50P3	IR0173	1.000	21.195	21.168	21.168	-0.218	0.078	1.068	0.919	1.242	True	0.04	
	50P1	IR0173	1.012	22.876	22.744	22.744	-0.37	0.143	1.187	0.901	1.563	True	0.04	