

Calcul de l'efficacité

Soit Q la quantité de matériel (ADN spécifique).

On suppose que la fluorescence F est directement proportionnelle à la quantité d'ADN présent, soit $F = \alpha \cdot Q$, avec α constant.

Soit Q_0 la quantité de matériel au cycle 0 (initialement), Q_1 la quantité de matériel au cycle 1, ... Q_n la quantité de matériel au cycle n

Généralement on dit que

$$Q_{n+1} = Q_n \times 2$$

en supposant que 100% des brins matrices sont dupliqués. Or ce n'est pas toujours le cas, d'où la notion « d'efficacité » d'amplification, noté E . Selon les cas, E est compris entre 0 et 1 (0% à 100% d'efficacité) ou entre 1 et 2 (nombre par lequel est multiplié la quantité en passant d'un cycle à l'autre, donc 1 équivaut à 0% et 2 à 100% dans la notation précédente).

Si on introduit la notation E en tant qu'efficacité, avec $1 \leq E \leq 2$

On a :

$$Q_1 = Q_0 \times E$$

$$Q_2 = Q_1 \times E$$

$$\Rightarrow Q_2 = Q_0 \times E^2$$

Et donc en allant au cycle n , on a :

$$Q_n = Q_0 \times E^n$$

Soit Q_0 et Q_0' deux concentrations initiales différentes, d'après la théorie de la PCR quantitative, le cycle C_p (crossing point) ou C_t selon les dénominations, correspond au cycle où la fluorescence est détectable par rapport au bruit de fond, et pour une même expérience de PCR, la fluorescence est la même pour tous les échantillons à leurs C_p respectifs.

Soit C_p et C_p' les C_p correspondants aux quantités initiales Q_0 et Q_0' , comme les fluorescences sont égales on peut écrire :

$$F = F'$$

$$Q_{C_p} = Q'_{C_p}$$

$$\Rightarrow Q_0 \times E^{C_p} = Q'_0 \times E^{C'_p}$$

$$\Rightarrow \log(Q_0) + C_p \cdot \log(E) = \log(Q'_0) + C'_p \cdot \log(E)$$

$$\Rightarrow \log(E) \cdot (C_p - C'_p) = \log(Q'_0) - \log(Q_0)$$

$$\Rightarrow \log(E) = \frac{\log(Q'_0) - \log(Q_0)}{(C_p - C'_p)} = -\frac{\log(Q'_0) - \log(Q_0)}{(C'_p - C_p)}$$

$$\Rightarrow E = 10^{\left(-\frac{\log(Q'_0) - \log(Q_0)}{(C'_p - C_p)} \right)}$$

Or dans le coefficient directeur (la pente) d'une droite $y=f(x)$ est $(y'-y)/(x'-x)$, donc si on représente pour une gamme de dilution en série le C_p en fonction du logarithme de la concentration $C_p=f(\log(Q_0))$, la pente est égale à $\frac{C'_p - C_p}{\log(Q'_0) - \log(Q_0)}$

$$\Rightarrow E = 10^{\frac{-1}{pente}}$$