

SÉQUENCEUR DNA À PLAQUES APPLIED BIOSYSTEMS

FICHE N° 1895



PRÉSERVER
SAUVEGARDER
VALORISER

Période de fabrication : 1975-2000

Fabricant : AB Applied Biosystems

Domaines : Santé

Sous-domaines : Transplantation

Organisme : Centre Hospitalier Universitaire de Nantes - UFR de médecine

Ville : Nantes

Modèle : ABI 373 DNA

Matériaux :

Description

Le séquenceur DNA ABI 373 DNA est un analyseur automatique d'ADN à plaques de gel. Il se compose d'un boîtier qui abrite le matériel nécessaire pour la migration et la détection des fragments ADN et d'un ordinateur pour le pilotage et l'analyse des signaux.

A l'intérieur du boîtier principal on trouve:

- un jeu de 2 plaques de verre renfermant le gel de polyacrylamide,
- un peigne 64 dents pour délimiter les puits dans lesquels on dépose les échantillons d'ADN (2-3 μ l), le gel de polyacrylamide dans lequel les fragments d'ADN vont migrer par électrophorèse,
- un générateur de courant à haut voltage et faible intensité pour l'alimentation électrique de l'électrophorèse,
- un système laser qui scanne par balayage transversal et détecte les nucléotides fluorescents,
- une caméra CCD pour l'enregistrement du signal,

La partie informatique récupère les différentes valeurs de fluorescence enregistrées par la caméra et interprète les acquisitions.

Principe: le brin d'ADN à séquencer est recopié en plusieurs millions d'exemplaires à l'aide d'une enzyme, la Taq Polymérase en présence d'un mélange des quatre didéoxynucléotides marqués chacun avec un fluorochrome différent. Les copies ont des longueurs variables recouvrant toutes celles du brin initial - elles se superposent pour reconstituer la séquence entière du brin initial. Les brins d'ADN sont ensuite séparés selon leur taille par une migration électrophorétique dans un gel poreux. Les signaux fluorescents sont détectés à l'aide d'un système optique à source laser qui balaie le bas du gel d'électrophorèse. Les signaux amplifiés sont interprétés par un programme informatique qui reconstitue la séquence originale du fragment d'ADN analysé.

Manipulation: Le gel d'acrylamide est coulé entre les deux plaques de verre séparées de 0,4mm, il polymérise et forme un réseau poreux :

- Le peigne à 64 dents est enfoncé de quelques millimètres dans le gel, il forme ainsi 64 micro-puits indépendants dans lesquels on dépose les échantillons d'ADN,
- Les réservoirs supérieurs et inférieurs sont remplis avec du tampon Tris-Glycine pH 8 (électrolyte),
- Le courant électrique entraîne les fragments d'ADN de l'anode (pôle-) vers la cathode (pôle+),
- Le gel de migration va permettre de séparer les échantillons en fonction de leur longueur
- En passant devant le scanner, les fragments fluorescent,
- Le temps d'électrophorèse dure environ 8 à 10 heures,
- A la fin de la séquence, le gel est démoulé pour être éliminé, les plaques sont lavées (elles sont réutilisées de nombreuses fois).

Utilisation

L'appareil était dédié, dans le cadre d'études menées dans le domaine de la xénotransplantation d'organes, à l'observation des cellules T et l'analyse de leur modification génomique suite à la réaction immunitaire spécifique due à ce type de transplantation.





SEQUENCEUR (unité 437)

- placer la cuve du bas
- placer le gel
- fermer le "soutien" noir et baisser les loquets
- 373 XL collection (dans launcher ou dans data collection)
- File New
- genescan run
- run module → temps de migration
- plate check
- mettre la cuve du haut
- brancher les fils rouge et noir
- remplir les cuves avec le tampon
- enlever le spacer du haut l'urée l'acrylamide
- mettre le peigne
- open new genescan sample file save as fermer
- ouvrir la feuille de route dans le "tableau" (cliquer sur sample sheet)
- prerun
- déposer
- à la fin du dépôt: cancel terminate
- run

ANALYSE

pour augmenter la coloration:

gel adjuste gel contraste

baisser le triangle du haut selon la couleur à accentuer
cliquer sur G Y (carré en haut de l'écran)

pour le tracking:

cliquer sur le triangle du haut et sur la pomme → apparition du tracking
si un triangle reste bleu, le déplacer pour qu'il soit blanc sinon il ne sera pas analysé

gel extract lanes

cliquer sample file → tout noircit

sample install new matrix open OK

setting analyse parametre → 75 110

windows analysis control

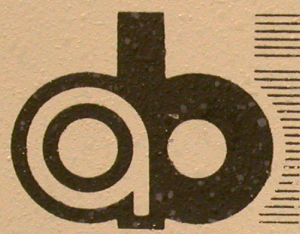
cliquer sur la colonne B analyse

windows result control

ech of panel:2 clear all quick tile:on

cliquer sur les échantillons 1 et 2

display



**Applied
Biosystems**
373A DNA Sequencer

Pour nous citer :

Base de la Mission nationale de sauvegarde et de valorisation du patrimoine scientifique et technique contemporain, PATSTEC, Séquenceur DNA à plaques Applied Biosystems (AB Applied Biosystems), <https://www.patstec.fr/ressources/objets/detail?id=1816>, consulté le 2024-10-30