

SÉQUENCEUR DNA MULTICAPILLAIRE

FICHE N° 1926



PRÉSERVER
SAUVEGARDER
VALORISER

Période de fabrication : 1975-2000

Fabricant : Amersham Bioscience

Domaines : Biologie, Santé

Sous-domaines : Immunologie, Transplantation

Organisme : Centre Hospitalier Universitaire de Nantes - UFR de médecine

Ville : Nantes

Modèle : MegaBACE 1000

Matériaux :

Description

Le séquenceur ADN MegaBACE 1000 est un analyseur automatique d'ADN multicapillaire. 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 à 96 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 (qui est une technique de séparation des protéines basées sur la faculté de migration des molécules chargées, placées dans un champ électrique),
- 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.

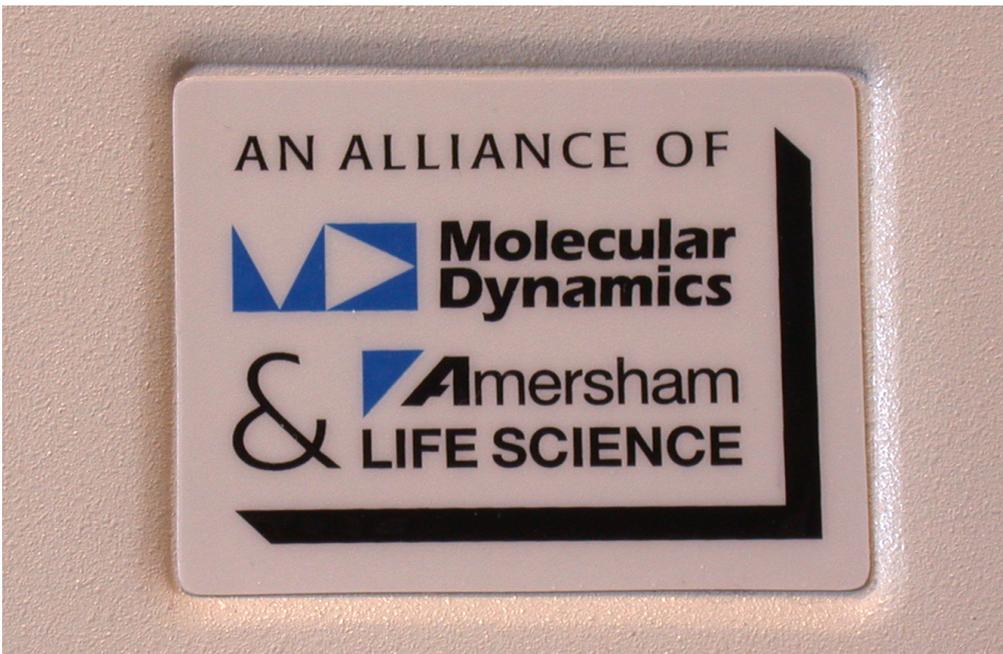
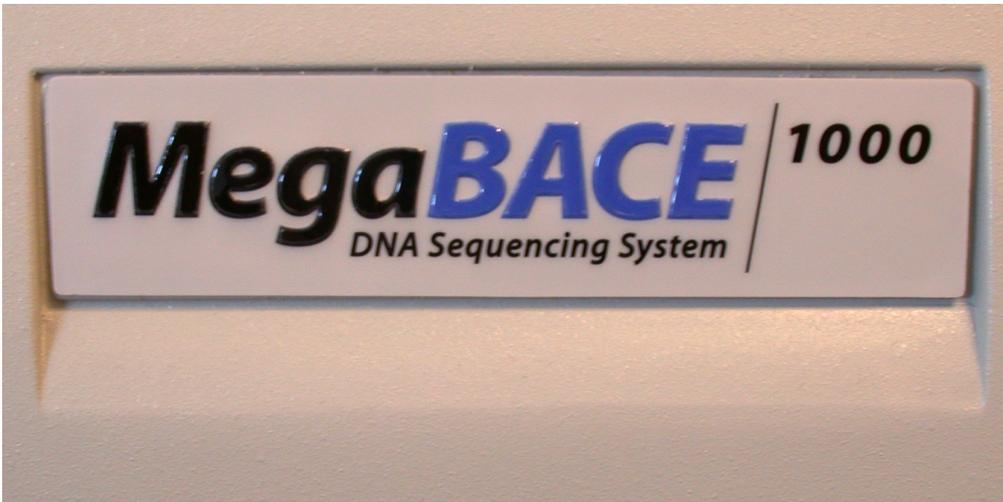
Manipulation: Le gel d'acrylamide est coulé entre les deux plaques de verre séparées de 0,4mm, il polymérise et forme un réseau poreux :

- Le peigne à 96 dents est enfoncé de quelques millimètres dans le gel, il forme ainsi 96 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 deviennent fluorescents,
- 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

C'est une plate-forme capillaire à haut débit utilisée pour le séquençage de l'ADN et le génotypage. Ce type d'appareil appartient à la dernière génération (plus rapide, intégration de paramètres nouveaux). Il permet de séquencer 96 échantillons simultanément et le temps d'électrophorèse est réduit à une heure et demi.





Pour nous citer :

Base de la Mission nationale de sauvegarde et de valorisation du patrimoine scientifique et technique contemporain, PATSTEC, Séquenceur DNA multicapillaire (Amersham Bioscience), <https://www.patstec.fr/ressources/objets/detail?id=1847>, consulté le 2024-10-29