SÉQUENCEUR DNA À PLAQUES ABI PRISM

FICHE N° 2008

Période de fabrication : 1975-2000
Fabricant : Inconnu
Domaines : Biologie
Sous-domaines : Génie génétique
Organisme : Centre Hospitalier Universitaire de Nantes - UFR de médecine
Ville : Nantes
Modèle : ABI Prism 377 DNA
Matériaux :

Description

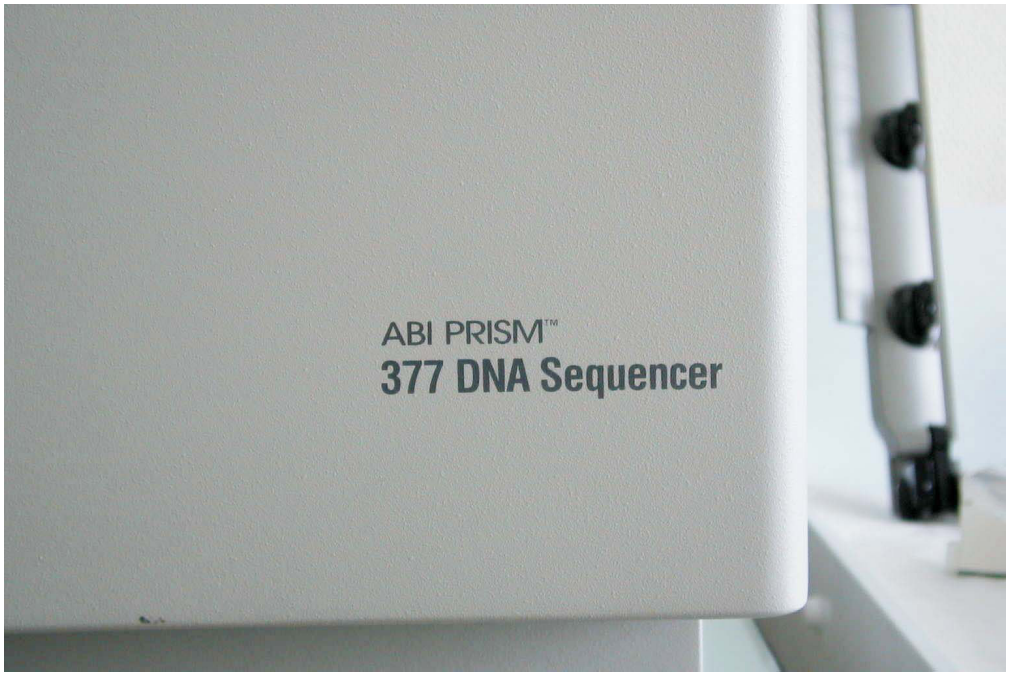
Le séquenceur DNA à plaques ABI Prism 377 est un analyseur automatique d'ADN multicapillaire. Il se compose d'un boîtier qui abrite le matériel nécessaire pour la migration et la détection des fragments ADN et d'un ordinateur pour le pilotage et l'analyse des signaux.
A l'intérieur du boîtier principal, 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 (2-3µl), 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.
Le 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 et 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 6 à 8 heures,
- A la fin de la séquence, le gel est démoulé pour être éliminé et les plaques sont lavées (elles sont réutilisées de nombreuses fois).

Utilisation

L'appareil est dédié à la recherche en laboratoire. Il est utilisé, notamment, à l'analyse immunologique appliquée à la technologie TcLandscape: il permet d'évaluer la longueur des fragments d'ADN codants pour une région du récepteur de lymphocytes.

Applied Biosystems
ABI PRISM
377 DNA Sequencer

ABI PRISM
377 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 ABI PRISM (Inconnu), https://www.patstec.fr/ressources/objets/detail?id=1929, consulté le 2024-10-29