Analyseur génétique 3100 ABI PRISM®

Guide de démarrage rapide pour l'analyse de fragment



© Copyright 2001, Applied Biosystems

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

FOR LIMITED LICENSE INFORMATION, PLEASE SEE THE ABI PRISM® 3100 GENETIC ANALYZER USER'S MANUAL.

The ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer includes patented technology licensed from Hitachi, Ltd. as part of a strategic partnership between Applied Biosystems and Hitachi, Ltd., as well as patented technology of Applied Biosystems.

ABI PRISM and its design, Applied Biosystems, BioLIMS, GeneScan, Genotyper, and MicroAmp are registered trademarks of Applera Corporation or its subsidiaries in the U.S. and certain other countries.

ABI, BigDye, Factura, Hi-Di, POP, POP-4, and POP-6 are trademarks of Applera Corporation or its subsidiaries in the U.S. and certain other countries. AmpliTaq is a registered trademark of Roche Molecular Systems, Inc.

Microsoft, Windows, and Windows NT are registered trademarks of the Microsoft Corporation in the United States and other countries.

Oracle is a registered trademark of the Oracle Corporation.

pGEM is a registered trademark of Promega Corporation.

All other trademarks are the sole property of their respective owners.

Applied Biosystems vast distribution and service network, composed of highly trained support and applications personnel, reaches into 150 countries on six continents. For international office locations, please call our local office or refer to our web site at www.appliedbiosystems.com.

Applera Corporation is committed to providing the world's leading technology and information for life scientists. Applera Corporation consists of the Applied Biosystems and Celera Genomics businesses.

Sommaire

1	Introduction
	Présentation
	A propos de ce manuel
	Pour plus d'informations
	Support technique1-3
	Sécurité
2	Exécution d'une analyse de fragment
	Présentation
	Avant de commencer
	Préparation de l'échantillon
	Démarrage du logiciel 3100 Data Collection
	Réglage des préférences sur le logiciel
	Utilisation des ensembles plaques
	Vérification et remplissage des liquides
	Positionnement de la plaque sur le passeur d'échantillons
	Création d'un enregistrement de plaque
	Liaison d'une plaque
	Démarrage et surveillance de la série
	Arrêt d'une série et récupération des données
	Affichage, modification ou création d'un module d'électrophorèse
	Affichage et modification d'un module d'analyse
3	Affichage et analyse des données
	Présentation
	Affichage des données brutes d'une série terminée dans le logiciel de collecte des données 3-2
	Affichage des données analysées
	Analyse ou réanalyse des données
4	Calibrations spatiale et spectrale
	Présentation
	Exécution d'une calibration spatiale
	Exécution d'une calibration spectrale

5 Entretien de l'instrument

	Présentation	5-1	
	Listes des travaux de maintenance	5-2	
	Elimination des bulles d'air du bloc polymère supérieur	5-4	
	Vérification de l'espace disque disponible	5-5	
	Nettoyage et inspection des seringues	5-6	
	Retrait des blocs polymère	5-9	
	Nettoyage des blocs polymère	. 5-10	
	Montage du polymère frais sur l'instrument	. 5-11	
	Avant d'installer une barrette capillaire précédemment utilisée	. 5-12	
	Installation et retrait de la barrette capillaire	. 5-13	
	Stockage d'une barrette capillaire	. 5-15	
	Arrêt de l'instrument	. 5-16	
\boldsymbol{A}	Préparation du formamide		
	Désionisation et stockage du formamide	A-1	

Index

Introduction

Présentation

Dans ce chapitre Ce chapitre contient les sections suivantes :

Section	Voir page
A propos de ce manuel	1-2
Pour plus d'informations	1-2
Support technique	1-3
Sécurité	1-8

A propos de ce manuel

Objet Le but de ce manuel est de fournir des instructions élémentaires pour permettre :

- d'effectuer une analyse de fragment
- d'analyser les résultats
- de calibrer et d'effectuer la maintenance périodique de l'Analyseur génétique 3100 ABI PRISM®

Pour plus d'informations

informations complémentaires

Où trouver des Autres manuels et guides relatifs à l'Analyseur génétique 3100 :

Pour lire	Consulter le	Référence
des informations ou consignes de sécurité sur la préparation en laboratoire de l'Analyseur génétique 3100	Guide de sécurité et de préparation du site de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM	4324533
des informations détaillées sur l'Analyseur génétique 3100	Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM	4315834
des informations détaillées sur l'analyse et l'affichage des données de fragment à l'aide du logiciel d'analyse ABI PRISM® GeneScan®	Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse GeneScan v. 3.7 ABI РRISM	4308923
une procédure abrégée illustrant une analyse de sequençage typique, l'affichage et l'analyse des données d'exploitation et l'exécution des opérations de maintenance courantes	Guide de démarrage rapide du séquençage sur l'Analyseur génétique 3100 ABI PRISM	4315833

Support technique

Comment contacter le support technique

Le support technique Applied Biosystems peut être consulté par téléphone ou télécopie, par courrier électronique ou sur l'Internet. Nos clients peuvent commander des documents utilisateur, des fiches signalétiques, des certificats d'analyse Applied Biosystems et d'autres documents apparentés 24 heures sur 24. Les utilisateurs peuvent en outre télécharger des documents en format PDF à partir du site Web Applied Biosystems (lire la section « Pour obtenir des documents sur demande » après les informations téléphoniques ci-dessous).

Contacter le support technique par courrier électronique

Contacter le support technique par courrier électronique pour obtenir de l'aide sur les produits suivants:

Type de produit	Adresse email
Analyse génétique (séquençage d'ADN)	galab@appliedbiosystems.com
Systèmes de détection séquentielle et ACP (PCR)	pcrlab@appliedbiosystems.com
Séquençage de protéines, Synthèse d'ADN et de peptides	corelab@appliedbiosystems.com
Biochromatographie, systèmes de synthèse peptidique, PNA et ADN PerSeptive, spectromètres de masse CytoFluor®, FMAT™, Voyager™ et Mariner™	tsupport@appliedbiosystems.com
Applied Biosystems/MDS Sciex	support@sciex.com
Chimioluminescence (Tropix)	tropix@appliedbiosystems.com

téléphonique du support technique

Heures d'accès Le support technique est accessible au Canada et aux Etats-Unis aux heures suivantes:

Produit	Heures
Chimioluminescence	de 8 h 30 à 17 h 30 (Heure de l'Est)
Support Framingham	de 08 h 00 à 18 h 00 (Heure de l'Est)
Tous les autres produits	de 05 h 30 à 17 h 00 (Heure du Pacifique)

Contacter le support technique par téléphone ou fax

En Amérique du Nord

Pour contacter le support technique de Applied Biosystems, utiliser les numéros de téléphone ou de télécopie fournis ci-dessous. (Pour un appel de service liés à d'autres besoins techniques ou en cas d'urgence, composer le 1-800-831-6844 et appuyer sur 1.)

Produit ou Type de produit	Par téléphone Composer	Par télécopie Composer
Analyseur d'ADN 3700 ABI PRISM®	1-800-831-6844 , et appuyer sur 8	1-650-638-5981
Synthèse d'ADN	1-800-831-6844 , et appuyer sur 21	1-650-638-5981

Produit ou Type de produit	Par téléphone Composer	Par télécopie Composer
Séquençage d'ADN fluorescent	1-800-831-6844, et appuyer sur 22	1-650-638-5981
Analyse de fragments fluorescents (Incluant les applications de GeneScan®)	1-800-831-6844 , et appuyer sur 23	1-650-638-5981
Cyclages thermiques intégrés (Instruments ABI PRISM® 877 et Catalyst 800)	1-800-831-6844 , et appuyer sur 24	1-650-638-5981
Analyseur génétique 3100 ABI PRISM®	1-800-831-6844 , et appuyer sur 26	1-650-638-5981
BioInformatique (incluant les applications BioLIMS®, BioMerge® et SQL GT®)	1-800-831-6844 , et appuyer sur 25	1-505-982-7690
Synthèse peptidique (systèmes 433 et 43X)	1-800-831-6844 , et appuyer sur 31	1-650-638-5981
Sequençage des protéines (Systèmes de séquençage de protéines Procise®)	1-800-831-6844 , et appuyer sur 32	1-650-638-5981
Détection séquentielle et ACP (PCR)	1-800-762-4001, appuyer sur 1 pour ACP, 2 pour le 7700 ou le 5700, 6 pour le 6700 ou composer le 1-800-831-6844, et appuyer sur 5	1-240-453-4613
Biospectrométrie MALDI-TOF Voyager™ et stations de spectrométrie de masse ESI-TOF Mariner™	1-800-899-5858, et appuyer sur 13	1-508-383-7855
Biochromatographie (stations BioCAD® et appareils chromatographiques de perfusion Poros®)	1-800-899-5858, et appuyer sur 14	1-508-383-7855
Systèmes de synthèse d'acide nucléique Expedite™	1-800-899-5858 , et appuyer sur 15	1-508-383-7855
Synthèse peptidique (synthétiseurs peptidiques Pioneer™ et 9050 Plus)	1-800-899-5858 , et appuyer sur 15	1-508-383-7855
Synthèse et PNA personnalisé	1-800-899-5858 , et appuyer sur 15	1-508-383-7855
Système FMAT™ 8100 HTS et lecteur de plaque par fluorescence CytoFluor® 4000	1-800-899-5858 , et appuyer sur 16	1-508-383-7855
Chimioluminescence (Tropix)	1-800-542-2369 (uni- quement aux Etats-Unis), ou 1-781-271-0045	1-781-275-8581
Applied Biosystems/MDS Sciex	1-800-952-4716	1-508-383-7899

En dehors de l'Amérique du Nord

Région	Par téléphone Composer	Par télécopie Composer	
Afrique et Moyen-Orient			
Afrique (anglophone) et Asie occidentale (Fairlands, Afrique du Sud)	27 11 478 0411	27 11 478 0349	
Afrique du Sud (Johannesburg)	27 11 478 0411	27 11 478 0349	
Moyen-Orient et Afrique du Nord (Monza, Italie)	39 (0)39 8389 481	39 (0)39 8389 493	
Extrême-Ori	ient, Chine, Océanie		
Australie (Scoresby, Victoria)	61 3 9730 8600	61 3 9730 8799	
Chine (Pékin)	86 10 64106608	86 10 64106617	
Hong-Kong	852 2756 6928	852 2756 6968	
Corée (Séoul)	82 2 593 6470/6471	82 2 593 6472	
Malaisie (Petaling Jaya)	60 3 758 8268	60 3 754 9043	
Singapour	65 896 2168	65 896 2147	
Taïwan (Taïpei Hsien)	886 2 22358 2838	886 2 2358 2839	
Thaïlande (Bangkok)	66 2 719 6405	66 2 319 9788	
	Europe		
Autriche (Vienne)	43 (0)1 867 35 75 0	43 (0)1 867 35 75 11	
Belgique	32 (0)2 712 5555	32 (0)2 712 5516	
République tchèque et Slovaquie (Prague)	420 2 61 222 164	420 2 61 222 168	
Danemark (Naerum)	45 45 58 60 00	45 45 58 60 01	
Finlande (Espoo)	358 (0)9 251 24 250	358 (0)9 251 24 243	
France (Paris)	33 (0)1 69 59 85 85	33 (0)1 69 59 85 00	
Allemagne (Weiterstadt)	49 (0) 6150 101 0	49 (0) 6150 101 101	
Hongrie (Budapest)	36 (0)1 270 8398	36 (0)1 270 8288	
Italie (Milan)	39 (0)39 83891	39 (0)39 838 9492	
Norvège (Oslo)	47 23 12 06 05	47 23 12 05 75	
Pologne, Lituanie, Lettonie et Estonie (Varsovie)	48 (22) 866 40 10	48 (22) 866 40 20	
Portugal (Lisbonne)	351 (0)22 605 33 14	351 (0)22 605 33 15	
Russie (Moscou)	7 095 935 8888	7 095 564 8787	
Europe des Balkans (Zagreb, Croatie)	385 1 34 91 927	385 1 34 91 840	
Espagne (Tres Cantos)	34 (0)91 806 1210	34 (0)91 806 1206	
Suède (Stockholm)	46 (0)8 619 4400	46 (0)8 619 4401	
Suisse (Rotkreuz)	41 (0)41 799 7777	41 (0)41 790 0676	
Pays-Bas (Nieuwerkerk a/d IJssel)	31 (0)180 331400	31 (0)180 331409	
Royaume-Uni (Warrington, Cheshire)	44 (0)1925 825650	44 (0)1925 282502	
Tous les autres pays non cités (Warrington, UK)	44 (0)1925 282481	44 (0)1925 282509	
	Japon		
Japon (Hacchobori, Chuo-Ku, Tokyo)	81 3 5566 6230	81 3 5566 6507	
Amérique latine			
Del.A. Obregon, Mexique	305-670-4350	305-670-4349	

technique sur l'Internet

Accéder au support Nous encourageons vivement nos clients à visiter notre site Web pour consulter le forum aux questions et en savoir plus sur nos produits. Les utilisateurs peuvent également commander nos documents techniques ou un index des documents disponibles afin de les recevoir par télécopie ou par courrier électronique depuis notre site. L'adresse du site Web Applied Biosystems est

http://www.appliedbiosystems.com/techsupp

Pour envoyer des questions techniques depuis l'Amérique du Nord ou l'Europe :

Etape	Action	
1	Accéder au site Web du support technique Applied Biosystems.	
2	Sous l'en-tête Troubleshooting (Dépannage), cliquer sur Support Request Forms (Formulaires de demande de service), et sélectionner la zone de support correspondant au type de produit voulu.	
3	Entrer les informations demandées et la question dans le formulaire affiché, et cliquer sur Ask Us RIGHT NOW (Posez votre question maintenant) (bouton bleu et texte jaune).	
4	Entrer les informations requises dans le formulaire suivant (si cela n'a pas déjà été fait), et cliquer sur Ask Us RIGHT NOW .	
	L'un de nos experts répondra à la question par voie électronique dans les 24 à 48 heures.	

Obtenir des Un accès gratuit 24 h/24 aux documents techniques Applied Biosystems, notamment documents sur aux fiches signalétiques, est accessible par télécopie ou par courrier électronique ou demande à partir du site Web.

Pour commander les documents	Procédure
par numéro d'index	a. Accéder au site Web du support technique Applied Biosystems à http://www.appliedbiosystems.com/techsupp
	b. Cliquer sur le lien Index pour le type de document voulu, puis identifier le document et noter le numéro d'index.
	c. Utiliser le numéro d'index pour demander les documents en fonction des procédures ci-dessous.
par téléphone pour une réponse	a. Au Canada et aux Etats-Unis, appeler le 1-800-487-6809, ou en dehors du Canada et des Etats-Unis, appeler le 1-858-712-0317.
télécopiée	b. Suivre les instructions vocales pour commander les documents voulus.
	Remarque La limite est de cinq documents par demande.

Pour commander les documents	Procédure
sur l'Internet pour une réponse	Accéder au site Web du support technique Applied Biosystems à http://www.appliedbiosystems.com/techsupp
télécopiée ou par courrier	 Sous Resource Libraries (Bibliothèques de ressources), cliquer sur le type de document voulu.
électronique	 c. Entrer ou sélectionner les informations demandées sur le formulaire affiché, et cliquer sur Search (Rechercher).
	d. Dans les résultats de recherche affichés, sélectionner la case à cocher associée au mode de livraison voulu pour chaque document identifié lors de la recherche, et cliquer sur Deliver Selected Documents Now (Envoyer les documents sélectionnés maintenant) (ou cliquer sur l'icône PDF pour télécharger le document immédiatement).
	 Remplir le formulaire de renseignements (si cela n'a pas déjà été fait), et cliquer sur Deliver Selected Documents Now pour envoyer la commande.
	Remarque La limite est de cinq documents par demande à délivrer par fax, et aucune limite sur les documents envoyés par courrier électronique.

Sécurité

Mises en garde à l'attention des utilisateurs

Cinq types de mise en garde apparaissent dans la documentation destinée aux utilisateurs des instruments Applied Biosystems. Chaque mot implique un degré de mise en garde ou l'une des actions décrites ci-dessous.

Remarque Signale des informations utiles.

IMPORTANT Indique des informations nécessaires au bon fonctionnement de l'instrument.

ATTENTION Indique une situation potentiellement dangereuse susceptible d'entraîner des blessures légères ou mineures si elle n'est pas évitée. Ce message peut aussi servir de mise en garde contre les pratiques dangereuses.

A AVERTISSEMENT Indique une situation potentiellement dangereuse susceptible d'entraîner des blessures graves voire la mort si elle n'est pas évitée.

A DANGER Indique une situation dangereuse imminente qui entraînera des blessures graves voire la mort si elle n'est pas évitée. Cette mise en garde doit être limitée aux situations les plus extrêmes.

Mise en garde sur les dangers chimiques

A AVERTISSEMENT DANGER CHIMIQUE. Certains produits chimiques utilisés avec les instruments et les protocoles Applied Biosystems sont potentiellement dangereux ; ils peuvent entraîner des blessures, des maladies, voire la mort.

- Lire et comprendre les fiches signalétiques (MSDS) sur la sécurité des produits chimiques fournies par le fabricant avant de stocker, manipuler ou utiliser les matériaux dangereux ou les produits chimiques.
- Limiter les contacts et éviter les inhalations des produits chimiques. Porter des équipements de protection appropriés en maniant les produits chimiques (par ex. lunettes de sûreté, gants ou vêtements de protection). Consulter la fiche signalétique pour les autres consignes de sécurité.
- Ne pas laisser les récipients des produits chimiques ouverts. Ils ne doivent être utilisés qu'avec une ventilation adéquate.
- Vérifier régulièrement l'absence de fuites ou d'écoulements des produits chimiques. En cas de fuite ou d'un écoulement du produit, respecter les directives de nettoyage du fabricant recommandées sur la fiche signalétique.
- Respecter toutes les réglementations et lois locales et nationales en vigueur quant à l'entreposage des produits chimiques, à leur manipulation et à leur élimination.

Mise en garde sur l'élimination des déchets chimiques

A AVERTISSEMENT DECHETS CHIMIQUES DANGEREUX. Les déchets produits par les instruments Applied Biosystems sont potentiellement dangereux; ils peuvent entraîner des blessures, des maladies, voire la mort.

- Lire et comprendre les fiches signalétiques (MSDS) sur la sécurité des produits chimiques dans le récipient de stockage des déchets avant d'entreposer, de manipuler ou d'éliminer les déchets chimiques.
- Manipuler les déchets chimiques dans une hotte fermée.
- Limiter les contacts ou éviter les inhalations des déchets chimiques. Porter des équipements de protection appropriés en maniant les produits chimiques (par ex. lunettes de sûreté, gants ou vêtements de protection).

- Une fois le récipient à déchets vidé, il doit être refermé hermétiquement avec le couvercle fourni.
- Eliminer le contenu du bac ou de la bouteille du récipient à déchets conformément aux bonnes pratiques du laboratoire et aux réglementations de la santé et de l'environnement locales et nationales en vigueur.

Guide de sécurité et de préparation du site

Le Guide de sécurité et de préparation du site est un document distinct, livré à chaque client qui a fait l'achat d'un instrument Applied Biosystems. Se reporter au guide destiné à l'instrument pour tous les détails sur la préparation du site, la sécurité de l'instrument, la sécurité chimique et les types de déchets.

A propos des fiches signalétiques (MSDS)

Certains des produits chimiques utilisés avec cet instrument peuvent être identifiés comme produits dangereux par leur fabricant. En présence de tels dangers, des mises en garde apparaissent bien en évidence sur les étiquettes de tous les produits chimiques.

Les fabricants de produits chimiques fournissent une fiche signalétique (MSDS) sur la sécurité du produit avant et/ou avec les livraisons de produits chimiques dangereux à leurs nouveaux clients, et avec le premier envoi d'un produit chimique dangereux lorsque la fiche signalétique est mise à jour. Les fiches signalétiques fournissent les consignes de sécurité destinées au stockage, à la manipulation, au transport et à la mise au rebut des produits chimiques dans des conditions sécurisées.

Nous recommandons fortement à nos clients de mettre à jour leurs archives lorsqu'ils reçoivent les nouvelles fiches signalétiques des produits chimiques dangereux.

A AVERTISSEMENT DANGER CHIMIQUE. L'opérateur doit prendre connaissance des fiches signalétiques avant d'utiliser des réactifs ou des solvants.

Pour commander des fiches signalétiques

Nos clients peuvent commander des exemplaires supplémentaires gratuits des fiches signalétiques de sécurité sur les produits chimiques fabriqués ou distribués par Applied Biosystems à partir des renseignements suivants.

Pour commander des fiches signalétiques	Procédure	
sur l'Internet	a. Aller sur notre site Web www.appliedbiosystems.co b. Cliquer sur MSDSs (Fiches	
	Si l'utilisateur a	Procédure
	le numéro de la fiche signalétique ou le numéro d'index du document sur demande	Entrer l'un de ces numéros dans le champ approprié sur cette page.
	le numéro de référence du produit	Sélectionner Click Here (Cliquer ici), puis entrer le
	Mot(s) clé(s)	numéro de référence ou les mots clés dans le champ sur cette page.
		télécharger le document en forma Acrobat® Reader™), ou demande ou courrier électronique.

Pour commander des fiches signalétiques	Procédure	
par service téléphonique automatisé	Voir la section « Pour obtenir des documents sur demande » sous la section « Support technique ».	
par téléphone aux Etats-Unis	Composer le 1-800-327-3002 , puis le 1 .	
par téléphone du Canada	Pour passer des commandes en	Composer le 1-800-668-6913 et
	anglais	appuyer sur 1, sur 2, puis de nouveau sur 1
	français	appuyer sur 2, sur 2, puis de nouveau sur 1
par téléphone dans les autres pays	Se reporter à la région spécifique sous « Contacter le support technique par téléphone ou fax » sous « Support technique ».	

Appeler le fabricant du produit chimique si celui-ci n'est pas fabriqué ou distribué par Applied Biosystems.

sécurité de l'instrument .

Etiquettes de Des étiquettes de sûreté sont fixées sur l'instrument. Chaque étiquette comprend trois parties:

- Une zone de mise en garde, impliquant un niveau particulier d'observation ou d'action (par ex., ATTENTION ou AVERTISSEMENT). Si l'étiquette regroupe plusieurs risques, le texte de mise en garde signale le danger le plus important.
- Une fenêtre de message, expliquant le danger et l'intervention requise de l'utilisateur.
- Un symbole d'alerte à la sécurité, indiquant la présence d'un risque potentiel pour la sécurité corporelle. Se reporter au Guide de sécurité et de préparation du site de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM pour une explication de tous les symboles d'alerte à la sécurité en plusieurs langues.

l'élimination des déchets

A propos de La responsabilité incombe à l'opérateur, en tant que producteur de produits potentiellement dangereux, de prendre les mesures suivantes :

- caractériser (par une analyse si nécessaire) les déchets générés par les applications, les réactifs et les substrats particuliers utilisés dans le laboratoire.
- veiller à protéger la santé et la sécurité de tous les personnels du laboratoire.
- vérifier que les déchets de l'instrument sont convenablement stockés, transférés, transportés et éliminés en respectant toutes les réglementations locales et nationales en vigueur.

Remarque Les matériaux représentant un danger biologique ou radioactif exigent parfois une manipulation spéciale, et des limitations peuvent s'appliquer à leur élimination.

Avant d'utiliser S'assurer que toutes les personnes impliquées dans le fonctionnement de l'instrument l'instrument ont :

- reçu une formation sur les pratiques de sécurité générales en laboratoire
- reçu une formation sur les pratiques de sécurité spécifiques à l'instrument
- lu et compris toutes les fiches signalétiques apparentées

ATTENTION Cet instrument ne doit pas être utilisé d'une manière qui ne serait pas spécifiée par Applied Biosystems. Même si l'instrument a été concu pour la protection de son utilisateur, cette protection risque d'être entravée si l'instrument n'est pas utilisé correctement.

sécurisée de l'ordinateur

Utilisation efficace et Une bonne utilisation de l'ordinateur empêche les effets liés au stress tels que la fatigue, les douleurs et les tensions.

> Pour réduire ces effets au minimum au niveau du dos, des jambes, des yeux et des extrémités de la partie supérieure du corps (cou, épaule, bras, poignets, mains et doigts), la station de travail doit être agencée de façon à promouvoir des postures de travail neutres ou détendues. Cela signifie également que le travail doit s'effectuer dans un environnement où le chauffage, la climatisation, la ventilation et l'éclairage sont correctement réglés. Lire les directives suivantes.

A ATTENTION DANGERS LIES A L'APPAREIL SQUELETTO-MUSCULAIRE ET A LA GESTUELLE ARTICULAIRE. Ces dangers sont provoqués par les facteurs de risque potentiels suivants qui incluent sans s'y limiter, la gestuelle articulaire répétée, les positions maladroites, les efforts trop poussés, le maintien de postures statiques contraignantes, la pression de contact et d'autres facteurs liés à l'environnement des stations de travail.

- Utiliser une position assise procurant une combinaison optimale de confort, d'accessibilité au clavier et d'absence de pressions et de stress facteurs de fatique.
 - La masse du poids du corps doit être supportée au niveau des fesses et non pas des cuisses.
 - Les pieds doivent être à plat sur le sol, et le poids des jambes doit être supporté par le sol, et non par les cuisses.
 - Prévoir un soutien lombaire pour assurer une courbe correcte de la colonne vertébrale.
- Placer le clavier sur une surface fournissant :
 - la hauteur appropriée pour le positionnement horizontal des avant-bras et vertical des bras.
 - le soutien des avant-bras et des mains pour éviter la fatique musculaire au niveau des bras.
- Positionner l'écran de visualisation à une hauteur permettant la position normale de la tête et du corps. Cette hauteur varie en fonction des proportions physiques de l'utilisateur.
- Ajuster les facteurs de vision pour optimiser le confort et l'efficacité en :
 - ajustant les variables d'écran, telles que la luminosité, le contraste et la couleur en fonction des préférences personnelles et de l'éclairage ambiant.
 - positionnant l'écran pour minimiser les reflets provenant des sources lumineuses ambiantes.

- positionnant l'écran à une distance tenant compte des variables de l'utilisateur telles que l'hypermétropie, la myopie, l'astigmatisme et les effets des lentilles correctives.
- Utiliser quelques directives utiles en estimant la distance séparant l'utilisateur de l'écran:
 - La distance entre les yeux et l'écran d'affichage doit correspondre approximativement à celle qui sépare les yeux du clavier.
 - La distance de lecture la plus confortable pour la plupart des sujets est à 50 cm.
 - La surface de la station de travail doit avoir une profondeur minimum de 90 cm pour permettre le réglage de la distance.
 - Ajuster l'angle de l'écran pour minimiser les reflets et l'éblouissement, et éviter les surfaces trop réflectives pour la station de travail.
- Utiliser un porte-copie bien conçu, capable d'être ajusté dans le sens horizontal et vertical, qui permet de placer les documents de référence à une distance de visualisation équidistante de l'écran et du clavier.
- Garder les fils et les câbles hors de portée des utilisateurs et des va-et-vients.
- Choisir une station de travail avec une surface suffisamment large pour effectuer d'autres travaux et avec un espace suffisant entre le siège et la station de travail.

Mises en garde contre les risques d'électrocution

A AVERTISSEMENT DANGER D'ELECTROCUTION. L'utilisation de l'appareil en alimentation haute tension pose un risque d'électrocution grave susceptible d'entraîner des blessures corporelles voire la mort. Pour éviter les risques d'électrocution, mettre l'instrument hors tension, débrancher le cordon d'alimentation et patienter 1 minute avant d'intervenir sur l'appareil.

A AVERTISSEMENT DANGER D'ELECTROCUTION. Pour éviter les risques d'électrocution, ne pas enlever les capots dont l'ouverture nécessite l'utilisation d'outils. Ils ne protègent aucune pièce réparable par l'utilisateur. Confier l'entretien et les réparations Applied Biosystems à un personnel d'entretien qualifié.

sur les lasers

Mise en garde AVERTISSEMENT DANGER DE BRULURE PAR LASER. Un laser surchauffé peut provoquer des brûlures graves s'il entre en contact avec la peau. NE PAS faire fonctionner le laser s'il ne peut pas être refroidi par son ventilateur. Toujours porter des lunettes de sécurité laser.

Exécution d'une analyse de fragment

Présentation

Dans ce chapitre Ce chapitre contient les sections suivantes :

Section	Voir page
Avant de commencer	2-2
Préparation de l'échantillon	2-3
Démarrage du logiciel 3100 Data Collection	2-4
Réglage des préférences sur le logiciel	2-6
Utilisation des ensembles plaques	2-8
Vérification et remplissage des liquides	2-10
Positionnement de la plaque sur le passeur d'échantillons	2-13
Création d'un enregistrement de plaque	2-14
Liaison d'une plaque	2-20
Démarrage et surveillance de la série	2-23
Arrêt d'une série et récupération des données	2-24
Affichage, modification ou création d'un module d'électrophorèse	2-25
Affichage et modification d'un module d'analyse	2-27

Avant de commencer

Hypothèses de Les procédures décrites dans ce chapitre tiennent compte des hypothèses suivantes :

- départ → L'ordinateur et l'instrument ont été correctement configurés.
 - L'instrument a été étalonné : les calibrations spatiales et spectrales ont été effectuées avec succès. Consulter le chapitre 4 de ce guide s'il y a lieu.
 - L'espace est suffisant sur le disque dur de l'ordinateur pour stocker les données qui seront générées. Consulter le chapitre 5 de ce guide s'il y a lieu.

Préparation de l'échantillon

Jeu de fluorophores

Le logiciel de collecte des données ABI PRISM® 3100 Data Collection version 1.0.1 prend en charge le jeu de fluorophores DS-30 et les kits "linkage mapping set" ABI PRISM® LD20, MD10 et HD5.

Les fluorophores du jeu DS-30 sont 6-FAM (bleu), HEX (vert), NED (jaune) et ROX (rouge).

regroupement

Indices de Les différents fluorophores sont détectés avec des efficacités différentes. L'indice de regroupement, soit la quantité ajoutée de produit marqué par un fluorophore par rapport aux autres produits du groupe, doit être ajusté pour assurer une détection appropriée de tous les loci.

> Indices de regroupement pour les kits d'amplification microsatellites « linkage mapping set » ABI PRISM

> Pour les kits LD20, MD10 et HD5, un indice de 1:1:1 (produits marqués au 6-FAM:HEX:NED) donne un équilibre acceptable sur la plupart des loci. Pour chaque panel des kits, grouper 1 µl de chaque produit ACP (PCR) dans un tube pour microcentrifugeuse. Si nécessaire, amener le volume total à 10-20 µl avec de l'eau désionisée.

Placer un aliquot de 10 µl de produit ACP (PCR) dilué dans des plaques optiques MicroAmp à 96 ou 384 puits.

Volumes de chargement suggérés

A AVERTISSEMENT DANGER CHIMIQUE. Le formamide est dangereux s'il est absorbé par la peau ; il peut également provoquer une irritation des yeux, de la peau et de l'appareil respiratoire. Il risque d'endommager le système nerveux central et les systèmes de reproduction féminin et masculin, et pose un risque possible de malformation congénitale. Prière de lire la fiche signalétique applicable et de suivre les consignes de manipulation. Porter des protections oculaires, des gants et des vêtements appropriés.

Préparer le mélange étalon de masse moléculaire:formamide en utilisant :

- 1000 µl de formamide Hi-Di™ (Réf. n° 4311320) ou une qualité similaire de formamide
- 50 µl de GeneScan™-400HD ROX ou 50 µl de GeneScan™-500 ROX

Remarque Nous recommandons d'utiliser du formamide Hi-Di, mais si l'opérateur préfère préparer son propre formamide, la section Appendix A, « Préparation du formamide », contient des informations importantes à ce sujet.

Remarque Ces indices de produits ACP (PCR) groupés et ces étalons de masse moléculaire ne doivent être utilisés que comme point de départ. Optimiser ces indices, s'il y a lieu, en tenant compte des résultats obtenus en laboratoire.

Pour le chargement, mélanger 1 µl de produits ACP (PCR) groupé avec 10 µl du mélange étalon de masse moléculaire:formamide.

échantillons

Dénaturation des Pour dénaturer les échantillons :

Etape	Action	
1	Chauffer les échantillons à 95 °C pendant 3 à 5 mn.	
	Plusieurs possibilités sont acceptables pour recouvrir les échantillons pendant la dénaturation :	
	◆ Pellicules adhésives transparentes MicroAmp® (Réf. nº 4306311)	
	◆ Capuchons MicroAmp® (12 bandes) (Réf. nº 801-0534)	
	◆ Capuchons MicroAmp® (8 bandes) (Réf. nº 801-0535)	
	♦ Bandes de bouchons à septum	
2	Placer immédiatement sur la glace pendant au moins 5 mn avant le chargement.	

Démarrage du logiciel 3100 Data Collection

Avant de commencer Avant de démarrer le logiciel de collecte des données :

Etape	Action
1	L'ordinateur et le moniteur doivent être sous tension.
	IMPORTANT L'ordinateur doit être mis sous tension avant l'instrument.
	Le nom d'utilisateur par défaut est « 3100User » et le mot de passe par défaut est vierge.
2	S'assurer que l'Analyseur génétique 3100 ABI PRISM est sous tension et que le témoin vert est allumé en mode fixe (ne clignote pas).
3	S'assurer que « OrbixWeb Daemon » fonctionne en identifiant son bouton sur la barre des tâches de Windows NT. Start OrbixWeb Daemon
	Si OrbixWeb ne fonctionne pas, aller au niveau du menu Démarrer , pointer vers Applied Biosystems et sélectionner OrbixWeb Daemon .
	Remarque Pour créer un raccourci : (a) Naviguer jusqu'au programme orbixd.exe dans le répertoire suivant : D:\dbtools\iona\orbixweb3.2\bin. (b) Effectuer un clic droit sur le fichier. (c) Cliquer sur Créer un raccourci. Cela permet de créer un raccourci nommé Raccourci vers orbixd.exe. (d) Faire glisser le raccourci vers le bureau.
	IMPORTANT OrbixWeb Daemon doit être lancé avant la mise en route du logiciel de collecte des données 3100.

logiciel de collecte des données

 $D\'{e}marrage\ du$ Pour démarrer le logiciel de collecte des données :

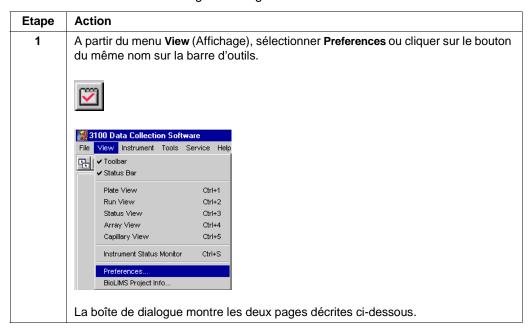
Etape Action 1 A partir du menu Démarrer, pointer vers Applied Biosystems, et sélectionner 3100 Data Collection. Remarque Pour créer un raccourci : (a) Naviguer jusqu'au fichier 3100Collection.bat dans le répertoire suivant : D:\AppliedBio\3100\Bin. (b) Effectuer un clic droit sur le fichier. (c) Cliquer sur Create Shortcut. Cela permet de créer un raccourci nommé Raccourci vers le logiciel 3100 Collection Software. (d) Faire glisser le raccourci vers le bureau. Le logiciel de collecte des données 3100 s'ouvre et la fenêtre suivante apparaît : 3100 Data Collection Softwa 문 # 월 | | | | | | | | | | | | | | | Plate View Run View Status View Array View Capillary View Pending Plate Records Plate Name Application Wells Status Place a plate into Plate Name Application Processed Plate Records Plate Name Application Wells Status New... Edit... Unlink Delete Import...

Réglage des préférences sur le logiciel

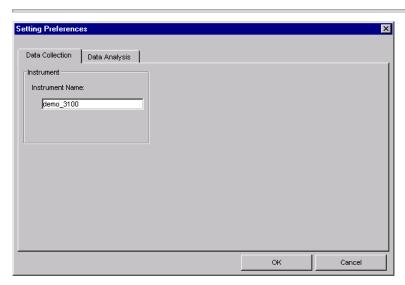
Le préférences du logiciel de collecte des données sont réglées pendant l'installation de l'instrument, mais elles peuvent être modifiées et visualisées dans la boîte de dialogue Setting Preferences (Réglage des préférences).

Boîte de dialogue de réglage des préférences

Pour visualiser la boîte de dialogue Setting Preferences :

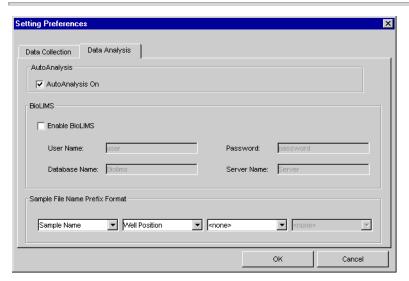


Page de collecte des données



Préférence	Description
Nom de	Ce champ est rempli automatiquement par demo_3100.
l'instrument	L'opérateur peut lui attribuer n'importe quel nom (par ex. le numéro de série de l'instrument).

Page d'analyse des données

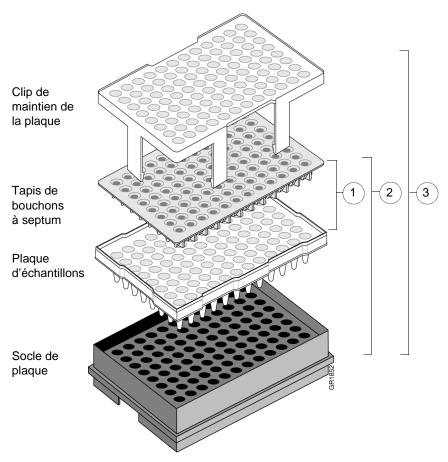


Préférence	Description		
AutoAnalysis On	Sélectionner cette case pour analyser automatiquement les échantillons par le logiciel d'analyse après leur collecte.		
	Remarque La sé les données de l'é	election de cette option n'interdit pas de réanalyser chantillon.	
BioLIMS	Utiliser ces paramètres pour extraire les données vers une base de données BioLIMS plutôt que vers des fichiers échantillon.		
Sample File Name Prefix Format	Spécifier le format à utiliser en préfixe pour les noms des fichiers échantillon en s'aidant des listes déroulantes pour réagencer les identificateurs.		
	Identificateur	Origine	
	Run ID	Identification de la série générée par le logiciel de collecte des données	
	Sample Name	Nom d'échantillon extrait de la saisie du tableur Plate Editor	
	Well Position	Position du puits tirée de la position de l'échantillon sur la plaque (lettre de colonne et numéro de ligne, <i>par ex.</i> C3)	
	Plate Name	Nom de plaque extrait de la saisie de la boîte de dialogue Plate Editor	
	Instrument ID	Identification de l'instrument extraite de la saisie des préférences sur la page Data Collection	
	Array ID	Identification de barrette extraite de la saisie de l'assistant Install Capillary Array.	
	déroulants, tous le du capillaire et à u page Data Analys d'échantillon :	us des quatre identificateurs définis avec les menus es noms sont automatiquement annexés au numéro ine extension de fichier. Par conséquent, dans la is affichée ci-dessus, on obtiendra le nom ell Position_Capillary Number.ab1	

Utilisation des ensembles plaques

ensembles de plaques

Composants des Les composants sont assemblés de la façon suivante :



ensemble plaque

Préparation d'un Pour préparer un ensemble plaque :

Etape	Action	
1	Fixer un tapis de bouchons à septum propre et sec sur la plaque d'échantillons.	
	IMPORTANT Ne jamais utiliser de plaques faussées.	
	IMPORTANT Le tapis de bouchons à septum doit être à plat sur la plaque.	
2	Placer la plaque d'échantillons sur le socle.	
3	Fixer le clip de maintien à la plaque et au socle.	

Pour préparer un ensemble plaque : (suite)

Etape	Action
4	Vérifier que les trous du clip de maintien et du tapis de bouchons à septum sont alignés.
	IMPORTANT Les pointes des barrettes risquent d'être endommagées si le clip de maintien et les trous du tapis de bouchons ne sont pas correctement alignés.
	Les trous du clip de maintien doivent s'aligner avec le tapis de bouchons à septum.

Vérification et remplissage des liquides

polymère

Ajout ou Déterminer si le polymère doit être ajouté ou changé sur l'instrument avant de changement de procéder à la préparation de l'instrument.

Si le polymère sur l'instrument	Procédure
a moins d'une semaine, et dispose d'une quantité suffisante pour terminer les séries d'analyse ^a	Vérifier l'absence de bulles d'air, et procéder à la préparation de l'instrument. Remarque Pour éliminer les bulles d'air, se reporter à
a plus d'une semaine, ou	la page 5-4. Remplir les seringues et le bloc polymère supérieur de
dispose d'une quantité insuffisante pour terminer les séries d'analyse	polymère conformément à l'assistant de changement du polymère. Pour plus de détails, se reporter à la page 5-11.
	Plate View Instrument Tools Service Help Plate Editor Module Editor Plate View Run View Instrument Condition Install Capillary Array Wizard Perform Spatial Calibration Display Spatial Calibration Display Spectral Calibration

a. Il faut >0,5 ml. Un passage d'analyse utilise 50-80 µl de polymère, soit l'équivalent de 60 à 100 séries à partir d'une seringue de 5 ml.

IMPORTANT Toujours remplacer le polymère âgé de plus d'1 semaine.

IMPORTANT Vérifier l'absence de bulles d'air dans le bloc de polymère supérieur avant de poursuivre. Pour éliminer les bulles d'air, se reporter à la page 5-4.

Quand faut-il remplacer le tampon

Remplacer quotidiennement le tampon 1X dans les réservoirs de tampon anodique et de tampon cathodique, ou avant chaque série d'analyses.

IMPORTANT Le non-remplacement du tampon risque de provoquer une perte de résolution et de la qualité des données.

IMPORTANT Pour le remplissage du tampon et le positionnement de la plaque, le passeur d'échantillons doit être placé en position avant, les pointes capillaires étant retirées de la solution tampon. Ne pas laisser le passeur d'échantillons dans cette position pendant plus de 30 mn car les capillaires peuvent sécher.

tampon pour une seule analyse

Préparation d'un Pour préparer 30 ml de tampon 1X :

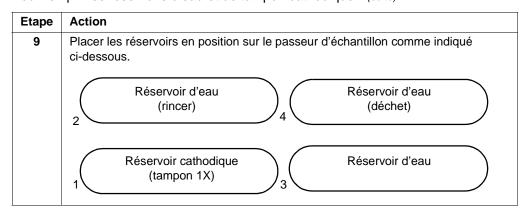
Etape	Action
1	Ajouter 3,0 ml de tampon 10X dans une éprouvette graduée.
2	Ajouter de l'eau désionisée pour amener le volume total à 30 ml.
3	Bien mélanger.

réservoirs d'eau et de tampon cathodique

Remplissage des Pour remplir les réservoirs d'eau et de tampon cathodique :

tape	Action	
1	Refermer les portes de l'instrument.	
2	Appuyer sur le bouton du plateau sur le panneau externe de l'instrument pour amener le passeur d'échantillons en position avant.	
	Bouton de plateau	
3	Attendre l'arrêt du passeur d'échantillons, puis ouvrir les portes de l'instrument.	
4	Retirer les réservoirs d'eau et de tampon cathodique de l'instrument.	
5	Jeter les liquides restants et rincer les réservoirs à l'eau désionisée. Remarque Les déchets sont très dilués, mais il faut respecter les pratiques d'évacuation des déchets appropriées.	
6	Rincer le réservoir cathodique avec le tampon 1X, puis remplir jusqu'au repère ave le tampon 1X (environ 17 ml).	
7	Remplir les réservoirs d'eau jusqu'à la ligne avec de l'eau désionisée de qualité (environ 17 ml).	
8	Placer une bande de bouchons à septum propre sur chaque réservoir, et séche surface externe des réservoirs à l'aide d'un chiffon non-pelucheux.	
	Remarque Nous conseillons d'étiqueter les réservoirs pour éviter de les mélange	
	ATTENTION Le tapis de bouchons à septum doit être ajusté de façon serré et à niveau avec le dessus des réservoirs pour ne pas endommager les pointes capillaires.	
	La bande de bouchons doit reposer à plat s le réservoir Ligne de remplissage	

Pour remplir les réservoirs d'eau et de tampon cathodique : (suite)



réservoir de tampon anodique

Remplissage du Changer le tampon anodique :

- Avant chaque série, ou au moins toutes les 24 heures.
- A chaque remplissage du bloc polymère avec du nouveau polymère

Pour remplir le réservoir de tampon anodique jusqu'au repère avec le tampon 1X :

Etape	Action
1	Enlever le réservoir de tampon anodique en le poussant fermement vers le bas d'un lent mouvement de torsion.
2	Jeter le tampon usagé de façon appropriée.
3	Nettoyer et rincer le réservoir à l'eau désionisée, puis rincer à l'aide du tampon.
4	Remplir le réservoir jusqu'au repère de remplissage avec un tampon 1X frais (environ 8 ml). Ligne de remplissage
5	Placer le réservoir de tampon anodique sur l'instrument.
	Remarque Le ménisque doit s'aligner avec la ligne repère.
6	Si le réservoir se remplit de liquide, répéter cette procédure pour jeter et remplacer le tampon.
	Remarque Le réservoir peut se remplir durant l'élimination des bulles.

Positionnement de la plaque sur le passeur d'échantillons

plaque sur le passeur d'échantillons

Positionnement de la Pour positionner la plaque sur le passeur d'échantillons :

Etape	Action						
1	Placer l'ensemble plaque sur le passeur d'échantillons comme cela est indiqué ci-dessous.						
	Remarque II n'y a qu'une orientation pour la plaque : le côté encoché du socle doit être vers le fond du passeur.						
	2 CR1854						
	IMPORTANT Vérifier que l'ensemble s'ajuste à plat sur le passeur d'échantillons. Si cette mesure n'est pas observée, les pointes capillaires risquent de soulever les plaques du passeur d'échantillons.						
2	Lorsque la plaque est correctement positionnée, l'indicateur de positionnement de plaque sur la page Plate View (Fenêtre de plaque) passe du gris au jaune.						
	Vérifier que ce changement s'est bien produit.						
	A: B: Plaque positionnée en position A						
	Aucune plaque en position B						
3	Refermer les portes de l'instrument.						
	Remarque La fermeture des portes renvoie le passeur d'échantillons dans la dernière position qu'il occupait avant l'ouverture des portes.						

Création d'un enregistrement de plaque

enregistrements de plaque

A propos des Les enregistrements de plaque mémorisent dans les tableaux de base de données de l'instrument des informations sur les plaques et sur les échantillons qu'elles contiennent.

> Remarque Les enregistrements de plaque sont similaires aux feuilles d'échantillonnage ou aux listes d'injections utilisées avec d'autres instruments ABI PRISM.

Création d'un enregistrement de plaque avec l'Editeur de plaque

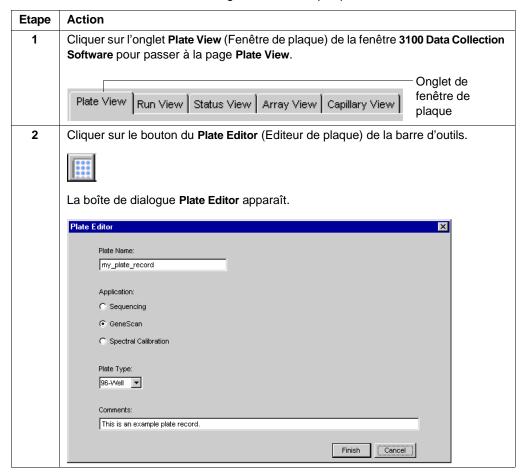
Observer les deux procédures suivantes pour créer un enregistrement de plaque à l'aide de Plate Editor.

Se reporter au Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM (Réf. nº 4315834) pour créer des enregistrements de plaque selon d'autres méthodes, et importer et exporter les enregistrements de plaque.

Saisie des enregistrements de plaque

Remarque On ne peut pas créer d'enregistrement de plaque tant qu'une analyse est en cours.

Pour saisir les informations des enregistrements de plaque :



Pour saisir les informations des enregistrements de plaque : (suite)

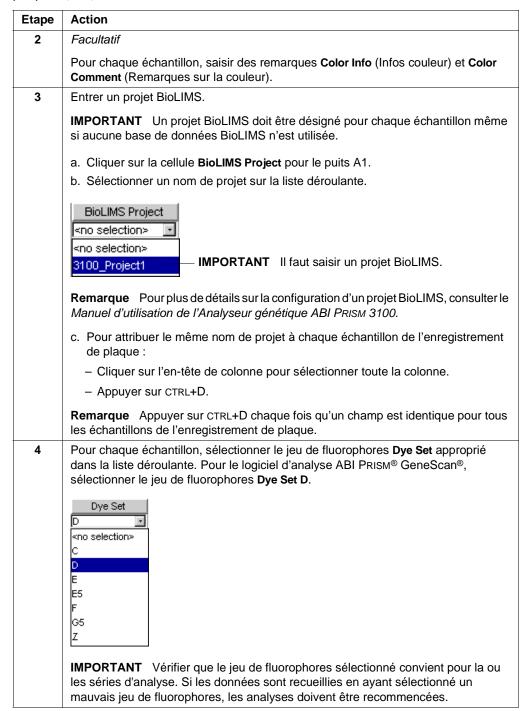
Etape	Action							
3	Dans cette boîte de dialogue, l'opérateur peut :							
	♦ nommer la plaque.							
	désigner l'application. désigner l'application.							
	♦ sélectionner le type de plaque.							
	◆ saisir des commentaires (facultatif).							
		seulement l			, l'opérateur peu ponctuation suiv			
4	Une fois l'opération terminée, cliquer sur Finish . Le tableur Plate Editor s'ouvre.							
	Plate Editor File Edit							
	Plate Name: ny_plate_record							
	Wel	Sample Name	Dyes	Color Info	Color Comment	BIOLIMS Project	Dye Set	Runt
	A1		G					
			Y R 💽					
			Ü					
	B1		В					
			G Y					
			R D					

informations sur plaque: l'échantillon

Saisie des Pour saisir les informations sur l'échantillon et sauvegarder l'enregistrement de

Etape	Action					
1	Dans le tableur Plate Editor , taper les noms de tous les échantillons dans la colonne Sample Name (Nom des échantillons).					
	Remarque En vertu de la convention d'écriture par défaut, le nom de l'échantillon est incorporé une fois frappé dans le nom du fichier échantillon. Par exemple :					
	MySample_A01.fsa					
	Position du puits					
	Nom d'échantillon saisi					
	L'opérateur peut modifier la convention d'écriture des fichiers échantillon dans la boîte de dialogue Preferences . Voir page 2-7 pour plus de détails.					
	IMPORTANT Pour désigner les échantillons, l'opérateur peut utiliser des lettres, des chiffres et seulement les caractères de ponctuation suivants :(){}#.+. Ne pas utiliser d'espaces.					
	IMPORTANT Les noms des fichiers échantillon ne doivent pas compter plus de 59 caractères. Il n'y a pas de vérification d'erreurs automatique pour les noms d'échantillon dépassant cette limite. Les noms de fichier échantillon plus longs ne seront pas ouverts par le logiciel d'analyse.					

Pour saisir les informations sur l'échantillon et sauvegarder l'enregistrement de plaque: (suite)



Pour saisir les informations sur l'échantillon et sauvegarder l'enregistrement de plaque: (suite)

Etape Action

5

Pour chaque échantillon, sélectionner le Run Module (Module d'électrophorèse) approprié dans la liste déroulante.



Le tableau suivant montre les choix de modules d'électrophorèse basés sur le type d'analyse:

Type d'analyse	Module d'électrophorèse
GeneScan	GeneScan36_POP4DefaultModule

Remarque Pour afficher ou modifier un fichier de module d'électrophorèse, se reporter à la page 2-25.

Remarque Si on sélectionne un module différent pour plusieurs échantillons, ceux-ci sont automatiquement regroupés de sorte que les échantillons de même module sont analysés en même temps. L'exécution des séries d'analyse est programmée selon l'ordre alphanumérique du nom de module, et non pas dans l'ordre des enregistrements de plaque ou des noms d'échantillon.

Pour saisir les informations sur l'échantillon et sauvegarder l'enregistrement de plaque: (suite)

Action **Etape** 6 Pour chaque échantillon, sélectionner le Analysis Module (Module d'analyse) approprié dans la liste déroulante. IMPORTANT La préférence AutoAnalysis doit être sélectionnée pour une analyse automatique après la série (voir page 2-7). Analysis Module 1 <no selection> -<no selection> GS350Analysis.gsp GS400CubicAnalysis.gsp GS400HDAnalysis.gsp GS400Ord2Analysis.gsp GS500Analysis.gsp Le tableau suivant indique le module d'analyse à sélectionner en fonction de l'étalon de masse moléculaire utilisé. Si on utilise l'étalon de masse moléculaire... Sélectionner ce module d'analyse... 400HD GS400HDAnalysis.gsp GS350 GS350Analysis.gsp **GS500** GS500Analysis.gsp GS400CubicAnalysis.gspa GS400Ord2Analysis.gspa a. Ces modules sont destinés aux utilisateurs expérimentés exigeant des étalons de masse moléculaire spécifiques. Se reporter au Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse ABI PRISM GeneScan. Remarque Les paramètres définis pour chacun de ces fichiers peuvent être examinés à partir du logiciel d'analyse GeneScan. L'explication de ces paramètres est traitée dans le Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse ABI PRISM GeneScan. 7 Si l'opérateur souhaite analyser de nouveau le même échantillon, sélectionner un deuxième module d'électrophorèse et un deuxième module d'analyse. Un échantillon dans une plaque liée peut être analysé cinq fois au total. Run Module 2 Analysis Module 2 Les échantillons sont ensuite automatiquement regroupés, de sorte que tous les échantillons d'un même module d'électrophorèse sont analysés de façon séquentielle.

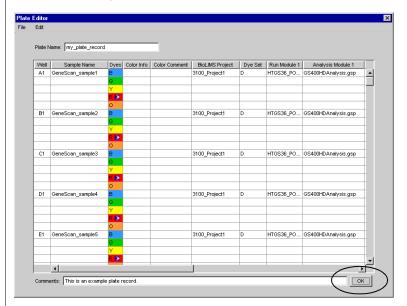
Pour saisir les informations sur l'échantillon et sauvegarder l'enregistrement de

plaque: (suite)

8 Vérifier que l'enregistrement de plaque est correct, et cliquer sur OK.

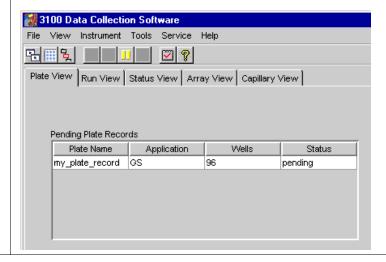
Etape

Action



Remarque Patienter pendant que le nouvel enregistrement de plaque est consigné dans la base de données et ajouté au tableau Pending Plate Records (Enregistrements des plaques provisoires) comme indiqué ci-dessous.

Remarque Pour qu'un enregistrement de plaque utilise un nom déjà utilisé, l'ancien enregistrement doit d'abord être supprimé de la base de données.



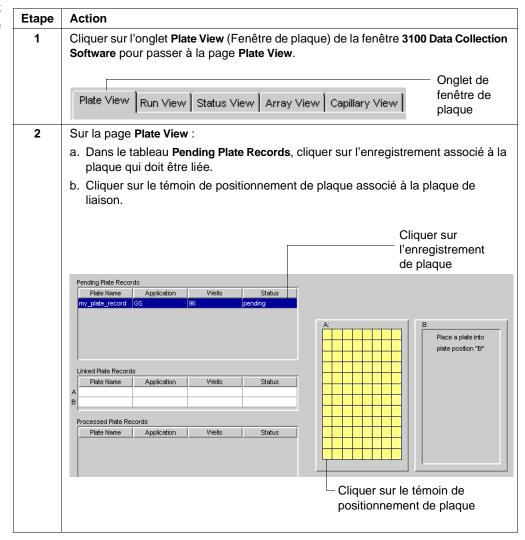
Liaison d'une plaque

Cette procédure explique comment lier une plaque sur le passeur d'échantillons à l'enregistrement de plaque qui vient d'être créé. Cette opération doit intervenir avant d'analyser la plaque.

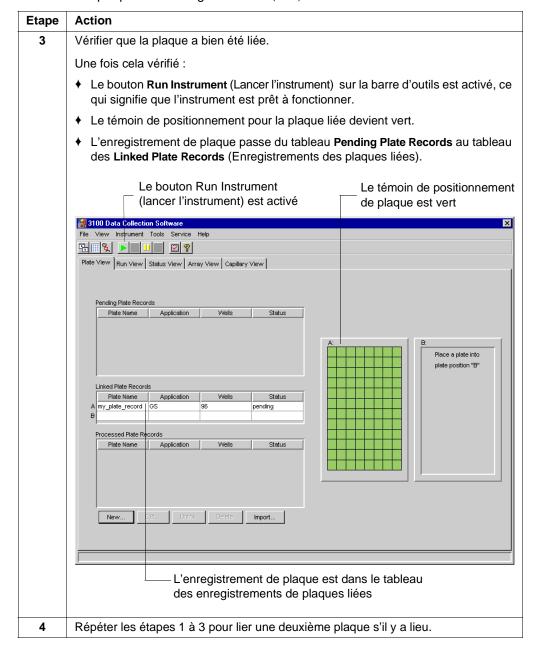
IMPORTANT Une plaque peut être liée même si aucun module d'électrophorèse n'a été sélectionné pour ses échantillons. Dans ce cas, aucun message d'erreur n'apparaît et aucune série d'analyse ne sera programmée pour les échantillons de la plaque.

Liaison d'une plaque à un enregistrement de plaque

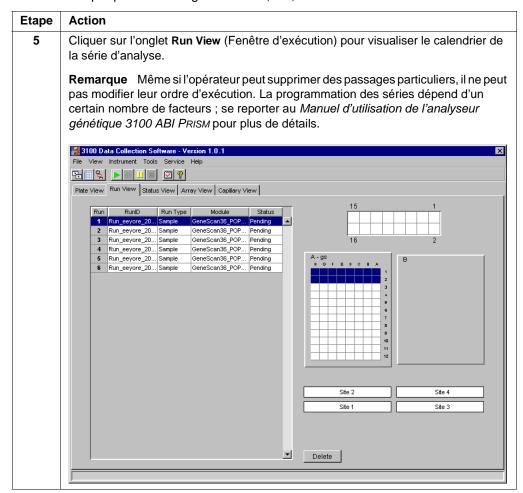
Pour lier une plaque à un enregistrement :



Pour lier une plaque à un enregistrement : (suite)



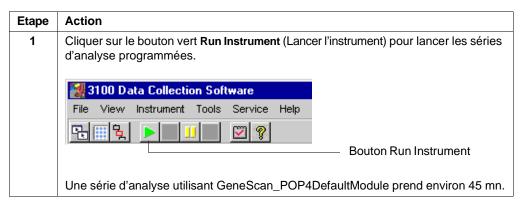
Pour lier une plaque à un enregistrement : (suite)



Démarrage et surveillance de la série

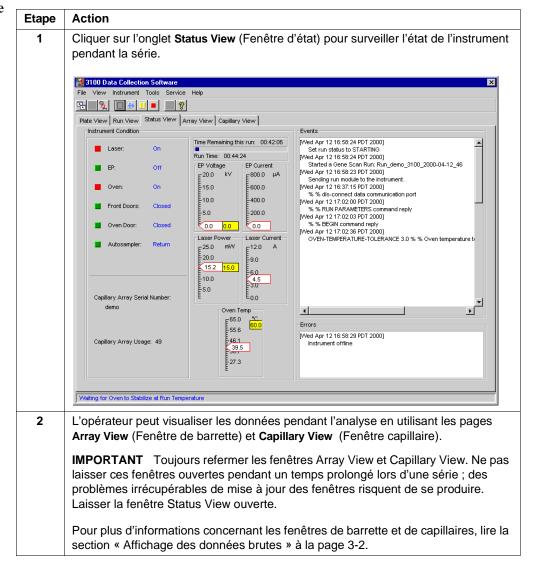
Démarrage d'une série

Pour lancer une série :



Surveillance d'une série

Pour surveiller une série :



Arrêt d'une série et récupération des données

Passage à une série Quand une analyse est en cours, les boutons de passage à la série suivante, de suivante et arrêt pause et d'arrêt de série sont visibles sur la barre d'outils.

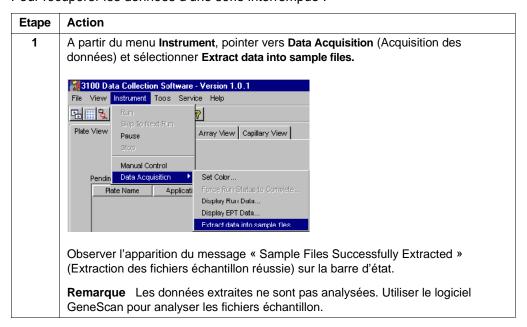


Bouton de passage à la série suivante

Pour arrêter la série en cours et	Cliquer sur
poursuivre les autres séries programmées	le bouton de passage à la série suivante.
arrêter les autres séries programmées	a. le bouton d'arrêt.
	b. Now dans la boîte de dialogue Question.
	Question Stop now or after current run? Now After run Cancel

Si l'autoextraction L'extracteur automatique doit avoir extrait automatiquement les données de la série interrompue. Dans la négative, utiliser l'option Extract data into sample files (Extraire les données dans les fichiers échantillon) de la façon suivante.

Pour récupérer les données d'une série interrompue :

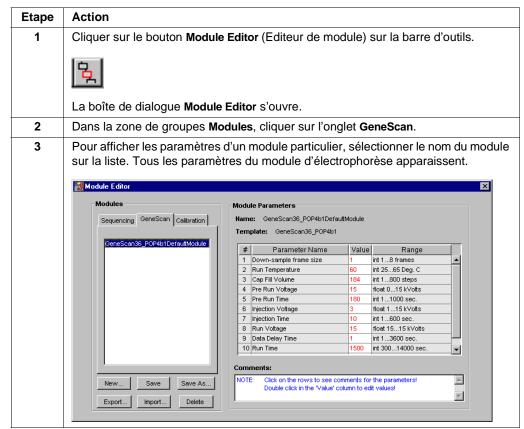


Affichage, modification ou création d'un module d'électrophorèse

Le module d'électrophorèse définit comment l'échantillon est analysé pendant l'exécution de la série (par. ex., la durée de la série, sa température et le temps d'injection).

Affichage d'un module d'électrophorèse

Pour visualiser un module d'électrophorèse :



Modification ou création d'un module d'électrophorèse

Pour modifier un module d'électrophorèse existant ou en créer un nouveau :

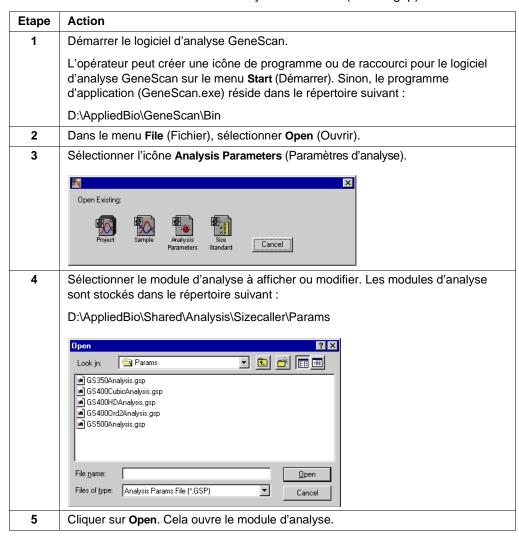
Etape	Action		
1	Cliquer sur le bouton Module Editor sur la barre d'outils.		
	<mark>물</mark>		
	La boîte de dialogue Module Editor s'ouvre.		
2	Sélectionner le module d'électropho	rèse à utiliser comme modèle.	
3	Modifier les valeurs de réglage à mo	odifier.	
	 IMPORTANT Seuls les nombres entiers sont acceptés. IMPORTANT Veiller à ce que toutes les valeurs soient rouges : les valeurs en noir ne sont pas enregistrées. 		
4	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		
	Pour	Procédure	
	enregistrer les changements apportés au module	Cliquer sur Save (Enregistrer). Remarque La fonction d'enregistrement Save ne s'applique pas aux modules d'électrophorèse par défaut.	
	créer un nouveau module d'électrophorèse	 a. Cliquer sur Save As (Enregistrer sous). b. Entrer un nom descriptif unique et cliquer sur OK. 	
		Enter Name of New Module: my_new_module OK Cancel	
5	Une fois l'opération terminée, cliquer sur le bouton de fermeture (X) pour quitter l'Editeur de module.		

Affichage et modification d'un module d'analyse

Introduction Le module d'analyse définit comment les données brutes sont analysées automatiquement à la fin de la série (par. ex., paramètres de l'étalon de masse moléculaire et de la plage d'analyse).

Affichage et modification des modules d'analyse

Pour afficher ou modifier le module d'analyse GeneScan (fichier .gsp) :



Pour afficher ou modifier le module d'analyse GeneScan (fichier .gsp) : (suite)

Etape Action 6 On peut apporter des changements au module d'analyse s'il y a lieu. Pour plus de détails sur ces paramètres, se reporter au Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse ABI PRISM GeneScan. 🖥 GS400HDAnalysis.gsp X Analysis Range Size Call Range • Full Range Full Range C This Range (Data Points) C This Range (Base Pairs) Start: 0 Min: 0 Stop: 12000 Max: 1000 Data Processing Size Calling Method C 2nd Order Least Squares Smooth Options C 3rd Order Least Squares C None C Cubic Spline Interpolation € Light Local Southern Method C Heavy C Global Southern Method Peak Detection Baselining <u>Peak Amplitude Thresholds</u> BaseLine Window Size B: 50 Y: 50 G: 50 R: 50 Auto Analysis Only Size Standard: Min. Peak Half Width: 2 GS 400HD.szs Polynomial Degree Peak Window Size 19 Slope Threshold for 0.0 Peak Start Slope Threshold for 0.0 Peak End 7 Si l'opérateur apporte des changements au module d'analyse et souhaite... Procédure... a. Dans le menu File, sélectionner Save As. enregistrer les modifications dans un nouveau module b. Entrer un nom unique et cliquer sur **OK**. d'analyse **IMPORTANT** Les modules d'analyse doivent être stockés dans le répertoire suivant: D:\AppliedBio\Shared\Analysis\ Sizecaller\Params enregistrer les changements Dans le menu File, sélectionner Save. dans le module d'analyse courant ignorer les changements Cliquer sur le bouton de fermeture pour refermer la fenêtre.

Affichage et analyse des données

Présentation

Dans ce chapitre Ce chapitre contient les sections suivantes :

Section	Voir page
Affichage des données brutes d'une série terminée dans le logiciel de collecte des données	
Affichage des données analysées	3-5
Analyse ou réanalyse des données	

Remarque On suppose pour la lecture de ce chapitre que les données d'exploitation ont été extraites et transférées dans les fichiers échantillon. Si l'Analyseur génétique 3100 ABI PRISM est utilisé en association au système de base de données BioLIMS®, se reporter au Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse ABI PRISM GeneScan (Réf. nº 4308923) pour plus de détails sur l'accès de la base de données à l'aide du programme d'analyse.

Affichage des données brutes d'une série terminée dans le logiciel de collecte des données

Introduction Les données brutes sont divisées en blocs de données de fluorescence traitée par la matrice multicomposante (corrigés pour le chevauchement spectral). Il y a deux façons d'afficher les données brutes dans le logiciel de collecte des données 3100 :

- sur la page Array View (Fenêtre de barrette), comme on observerait les résultats d'un fichier gel d'un instrument ABI PRISM à gel sur plaque par exemple.
- sur la page Capillary View (Fenêtre des capillaires), un capillaire à la fois

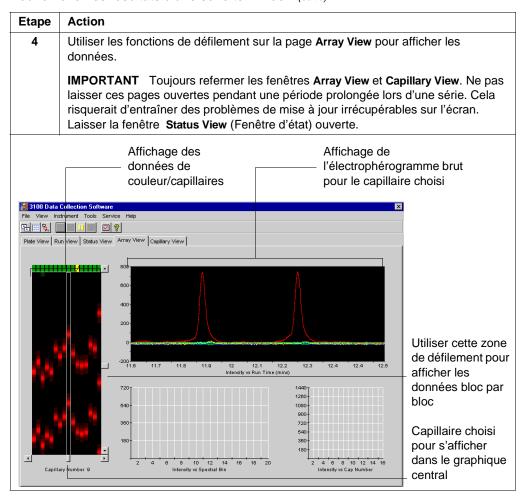
IMPORTANT Toujours refermer les fenêtres Array View et Capillary View. Ne pas laisser ces pages ouvertes pendant une période prolongée lors d'une série. Cela risquerait d'entraîner des problèmes de mise à jour irrécupérables sur l'écran. Laisser la fenêtre Status View (Fenêtre d'état) ouverte.

données brutes

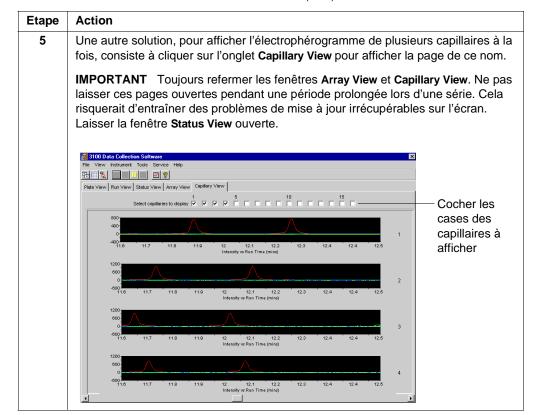
Affichage des Pour afficher les résultats d'une série terminée :

Etape	Action	
1	Dans le logiciel de collecte des données 3100, cliquer sur l'onglet Array View pour afficher la page de ce nom.	
2	A partir du menu Instrument , pointer vers Data Acquisition (Acquisition des données) et sélectionner Display Run Data (Afficher les résultats de la série).	
	Cette action ouvre la boîte de dialogue Select the run to display (Choisir la série à afficher).	
	Select the run to display X Run_demo_3100_2000-04-06_23 ▼ OK Cancel	
3	Dans la liste déroulante, sélectionner la série à afficher et cliquer sur OK .	
3	Remarque Toutes les séries terminées peuvent être visualisées à partir de la base de données de l'instrument.	
	Remarque II faut attendre quelques instants pour récupérer les résultats.	

Pour afficher les résultats d'une série terminée : (suite)



Pour afficher les résultats d'une série terminée : (suite)



Affichage des données analysées

Introduction Une fois les données de série extraites vers les fichiers échantillon, le logiciel d'analyse ABI PRISM GeneScan® permet d'afficher les données, brutes et analysées, de l'électrophérogramme.

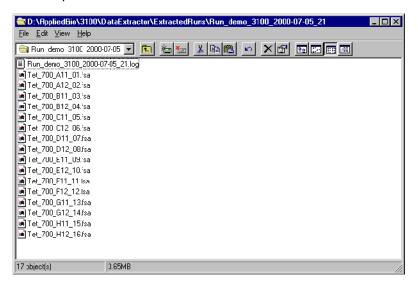
> Se reporter au Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse ABI PRISM GeneScan pour plus de détails sur l'affichage et sur l'analyse des données GeneScan.

Emplacement des fichiers échantillon

Quand la série est terminée, les fichiers échantillon analysés sont extraits dans un dossier d'exploitation, ainsi que le journal de la série, dans le répertoire suivant :

D:\AppliedBio\3100\DataExtractor\ExtractedRuns

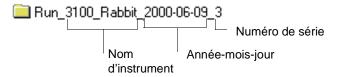
Un exemple de dossier de série et de son contenu est illustré ci-dessous.



Dossier de série Nom par défaut

Le nom par défaut du dossier de série est : Run_<Instrument name>_<date>_<runID>.

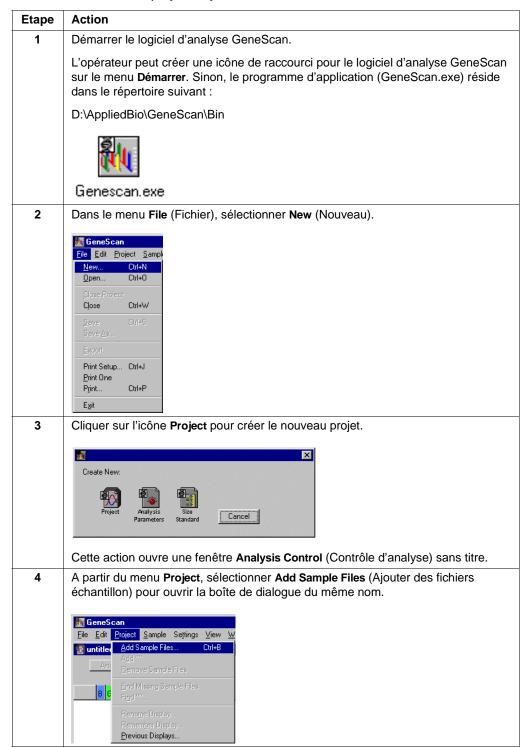
Un exemple de nom de dossier de série est illustré ci-dessous.



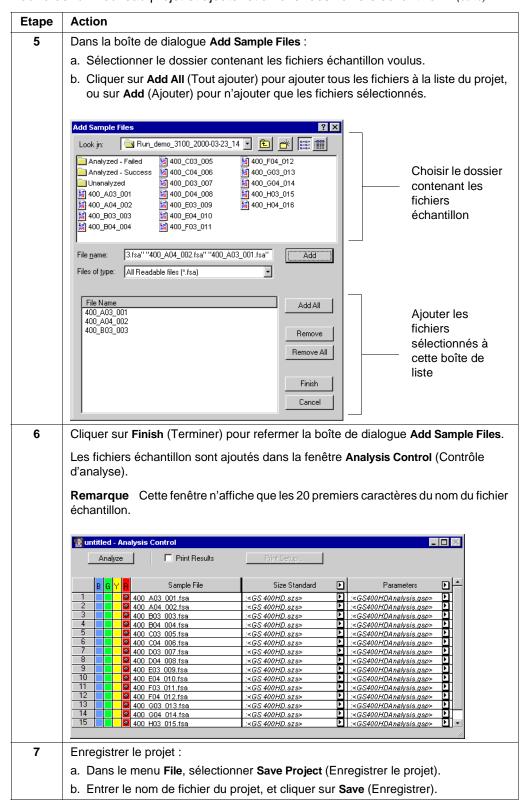
Affichage des fichiers échantillon particuliers

Remarque Toutes les fonctions du logiciel sont décrites dans le Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse ABI PRISM GeneScan.

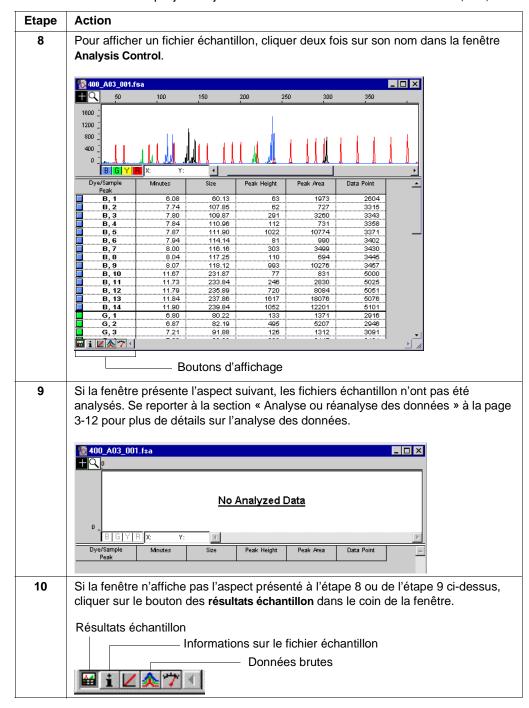
Pour créer un nouveau projet et ajouter et afficher des fichiers échantillon :



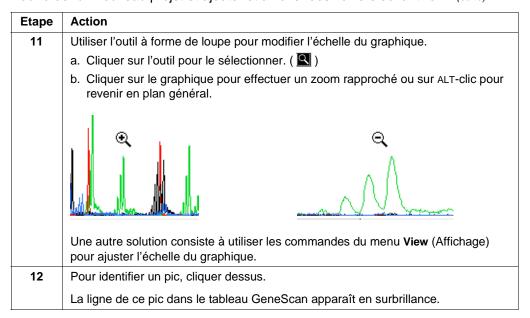
Pour créer un nouveau projet et ajouter et afficher des fichiers échantillon : (suite)



Pour créer un nouveau projet et ajouter et afficher des fichiers échantillon : (suite)



Pour créer un nouveau projet et ajouter et afficher des fichiers échantillon : (suite)



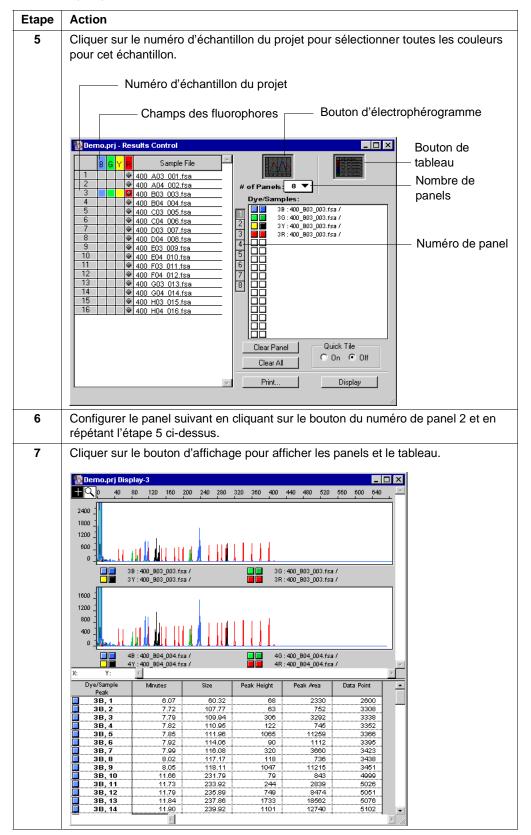
Affichage de plusieurs fichiers

La procédure suivante explique l'utilisation de la fenêtre de contrôle des résultats. Le Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse ABI PRISM GeneScan fournit une description complète de la fenêtre de contrôle des résultats.

Pour afficher plusieurs ensembles de données avec la fenêtre de contrôle des résultats:

Etape	Action	
1	Démarrer le logiciel d'analyse GeneScan si cela n'est pas déjà fait.	
2	Créer un projet conformément aux étapes 2 à 6, en commençant par la page 3-6. Ou ouvrir un projet existant en sélectionnant Open (Ouvrir) dans le menu File (Fichier).	
3	Dans le menu Windows (Fenêtres), sélectionner Results Control (Contrôle des résultats).	
4	Dans le menu # of Panels (Nombre de panels), sélectionner 8.	

Pour afficher plusieurs ensembles de données avec la fenêtre de contrôle des résultats : (suite)



Pour afficher plusieurs ensembles de données avec la fenêtre de contrôle des résultats : (suite)

Etape	Action	
8	Pour imprimer l'affichage, choisir Print dans le menu File.	
9	Utiliser les boutons Clear Panel (Effacer le panel) ou Clear All (Tout effacer) sur la fenêtre Results Control (Contrôle des résultats) pour effacer le contenu des panels.	

Analyse ou réanalyse des données

Introduction

Remarque Pour plus de détails sur l'analyse des données à l'aide du logiciel d'analyse GeneScan, se reporter au Manuel d'utilisation du logiciel d'analyse ABI PRISM GeneScan.

Quand faut-il analyser les données avec le logiciel GeneScan

Le fichier échantillon ne contiendra pas de données analysées si l'opérateur ne désigne pas de module d'analyse dans l'enregistrement de plaque.

Si le fichier échantillon ne contient pas de données analysées, il doit être analysé selon la procédure suivante.

Quand faut-il réanalyser les données avec le logiciel GeneScan

L'opérateur doit réanalyser les fichiers échantillon à l'aide du logiciel GeneScan lorsqu'il:

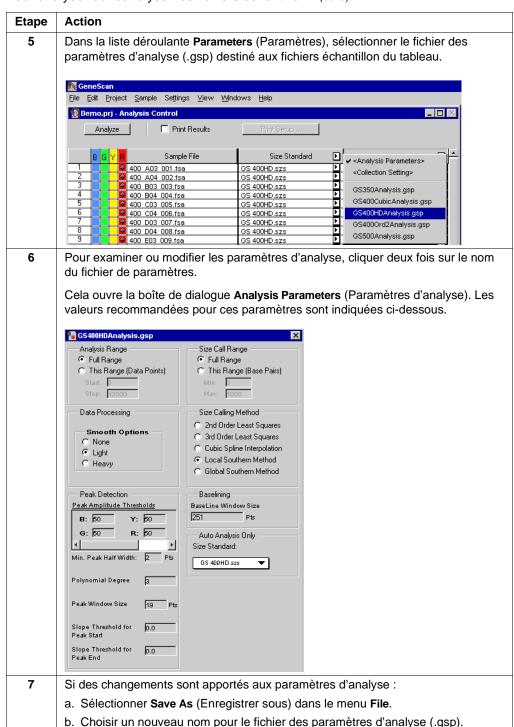
- choisit le mauvais fichier de module d'analyse dans l'enregistrement de plaque
- souhaite constater l'effet des modifications des paramètres d'analyse sur ses données

Analyse ou réanalyse des fichiers échantillon

Pour analyser ou réanalyser les fichiers échantillon :

Etape	Action	
1	Démarrer le logiciel d'analyse GeneScan si cela n'est pas déjà fait.	
2	Créer un projet conformément aux étapes 2 à 6, en commençant à la page 3-6. Ou ouvrir un projet existant en sélectionnant Open (Ouvrir) dans le menu File (Fichier).	
3	Dans la liste déroulante Size Standard (Etalon de masse moléculaire), sélectionner le fichier étalon de masse moléculaire (.szs) destiné aux fichiers échantillon du tableau.	
	Mark GeneScan File Edit Project Sample Settings View Wii <collection setting=""></collection>	
	MyProject.prj - Analysis Control GS 350 377.szs GS 350 Al.szs GS 350-250.szs GS 400HD.szs	
	B G Y B Sample File GS 500 377.szs 1 P43 B02 016 381 p27.fsa 2 P43 B03 012 376 p28.fsa ✓ GS 500-250.szs	
4	Effectuer un CTRL-clic sur le champ de fluorophores pour définir la couleur de l'étalon de masse moléculaire.	
	Mondaysis Control Analyze	
	B G Y Sample File 1	
	Le losange dans le champ de couleur rouge indique que l'étalon de masse moléculaire rouge est utilisé pour l'analyse.	

Pour analyser ou réanalyser les fichiers échantillon : (suite)



Pour analyser ou réanalyser les fichiers échantillon : (suite)

Etape	Action	
8	Sélectionner tous les fluorophores en cliquant dans le coin supérieur gauche de la barre des champs de fluorophores.	
	Cliquer ici pour sélectionner tous les fluorophores	
	Image: Control of the Print Results Image: Control of the Print Results Image: Control of the Print Results Image: Control of the Print Results	
	B G Y R Sample File B G Y R Sample File 1 ♦ 400 A03 001.fsa 1 400 A03 001.fsa 2 ♦ 400 A04 002.fsa 2 400 A04 002.fsa	
	Avant de cliquer Après avoir cliqué	
9	Cliquer sur le bouton Analyze (Analyser).	
	Les données analysées sont automatiquement enregistrées dans les fichiers échantillon. Si des données analysées existent déjà dans le fichier échantillon, elles sont écrasées par la nouvelle analyse.	
	Au fur et à mesure que les voies sont analysées, elles sont désélectionnées dans les champs des fluorophores.	

Calibrations spatiale et spectrale

Présentation

Dans ce chapitre Ce chapitre contient les sections suivantes :

Section	Voir page
Exécution d'une calibration spatiale	4-2
Exécution d'une calibration spectrale	

Exécution d'une calibration spatiale

effectuer une 🗼 calibration spatiale

Quand doit-on La calibration spatiale doit être effectué à chaque :

- installation ou remplacement de barrette capillaire
- retrait temporaire de la barrette capillaire du bloc de détection

calibration spatiale

Exécution d'un Pour effectuer une calibration spatiale :

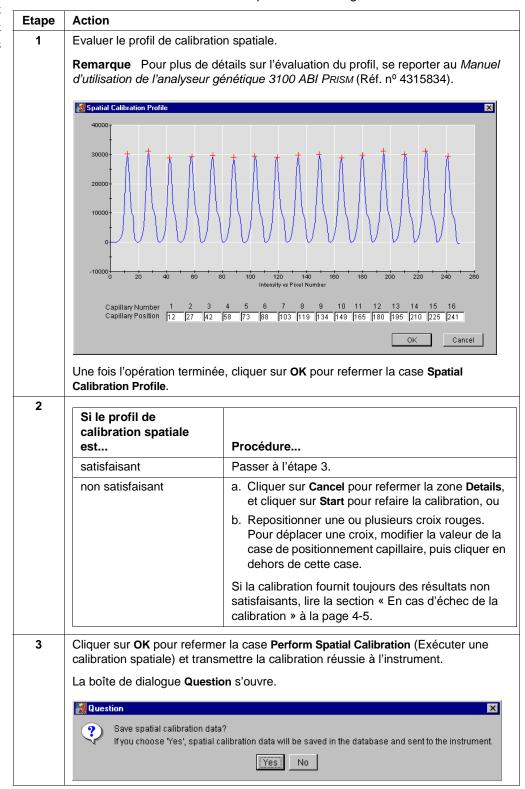
Etape	Action	
1	A partir du menu Tools (Outils), sélectionner Perform Spatial Calibration (Exécuter une calibration spatiale).	
	La boîte de dialogue suivante apparaît :	
	Perform Spatial Calibration	
	Spatial calibration progress	
	Click on the Start button to initiate spatial calibration.	
	☐ Fill capillaries ☐ Details ☐ Start ☐ ○K ☐ Cancel	
2	Sélectionner la case à cocher Fill capillaries (Remplir les capillaires) si :	
	♦ les capillaires n'ont pas de polymère (cà-d. une nouvelle barrette capillaire), ou	
	♦ le polymère des capillaires a été utilisé lors d'une série	
	Note L'opérateur n'a pas besoin de remplir les capillaires lors de chaque calibration spatiale.	
3	Cliquer sur Start (Démarrer). La calibration dure environ :	
	♦ 2 mn sans remplissage des capillaires	
	♦ 8,5 mn avec remplissage des capillaires	

Pour effectuer une calibration spatiale : (suite)

Etape	Action		
4	Si la calibration	Procédure	
	a réussi	la boîte de dialogue suivante apparaît :	
		Perform Spatial Calibration	
		Spatial calibration progress	
		Spatial calibration was successful.	
		☐ Fill capillaries ☐ Details ☐ Start ☐ OK ☐ Cancel ☐	
		 a. Cliquer sur Details (Détails) pour afficher la fenêtre Spatial Calibration Profile (Profil de calibration spatiale). 	
		 b. Passer à la section « Affichage des résultats et enregistrement des données » ci-dessous. 	
	a échoué	Le message d'erreur qui apparaît explique les raisons de l'échec.	
		Perform Spatial Calibration	
		Spatial calibration progress	
		Spatial calibration failed. Bad spacing.	
		Fill capillaries Details Start OK Cancel	
		a. Cliquer sur Details pour afficher la fenêtre Spatial Calibration Profile .	
		b. Effectuer l'une des opérations suivantes :	
		 Cliquer sur Cancel (Annuler), puis sur Start pour refaire la calibration. 	
		 Prendre les mesures correctives décrites à la page 4-5. 	

Affichage des résultats et enregistrement des données

Pour afficher les résultats de calibration spatiale et sauvegarder les données :



Pour afficher les résultats de calibration spatiale et sauvegarder les données : (suite)

Etape	Action	
4	Pour	Procédure
	enregistrer ces données de calibration dans la base de données du logiciel de collecte 3100	Cliquer sur Yes (Oui).
	supprimer ces données et utiliser celles d'une série précédente	a. Cliquer sur No (Non).b. Contourner la carte de calibration spatiale actuelle.

En cas d'échec de En cas d'échec de la calibration, ou si la calibration a réussi mais n'a pas un profil la calibration satisfaisant, l'opérateur peut essayer une ou plusieurs des actions correctives suivantes.

- Refaire la calibration.
- Remplir les capillaires de polymère, puis refaire la calibration.
- Nettoyer la fenêtre de barrette, puis refaire la calibration.
- Repositionner la fenêtre de barrette dans la cellule de détection, puis refaire la calibration.

Exécution d'une calibration spectrale

Introduction L'exécution d'une calibration spectrale comprend trois grands volets :

- Définition des normes
- Lancement de la calibration spectrale
- Vérification de la calibration spectrale

Remarque Cette section explique la calibration spectrale en utilisant le jeu de standards de matrice DS-30. Pour des détails sur la calibration spectrale pour un autre jeu de fluorophores, se reporter au Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM.

La calibration spectrale permet de créer une matrice afin de corriger le chevauchement spectral des émissions de fluorescence des fluorophores. L'application de cette matrice aux données brutes est le processus multicomposant. Pour une explication plus détaillée de la calibration spectrale, se reporter au Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM.

exécuter une calibration spectrale

Ouand faut-il Une calibration spectrale doit être effectué :

- chaque fois qu'un nouveau jeu de fluorophores est utilisé sur l'instrument
- après le réalignement du laser ou de la caméra CCD par l'ingénieur de service
- quand on constate une diminution de la calibration spectrale (pics vers le haut et/ou vers le bas apparaissant dans les autres couleurs sous un pic donné : par exemple, un pic de vert apparaissant systématiquement sous un pic bleu avec le même ratio entre eux).

Préparation des standards de matrice pour les matrices du jeu de fluorophores D

Pour préparer les standards de matrice pour les matrices du jeu de fluorophores D :

Etape	Action			
1	Décongeler et homogénéiser les quatre tubes de standards de matrice DS-30 (Réf. nº 4316100).			
2	Centrifuger brièvement les tubes.			
3	Préparer le jeu de standards de matrice DS-30 pour le jeu de fluorophores D en combinant dans un tube de microcentrifugeuse de 1,5-ml les éléments suivants :			
	Réactif	Volume (μl)		
	6FAM	1,25		
	HEX	1,25		
	NED	1,25		
	ROX	1,25		
	Formamide Hi-Di™ (Réf. nº 4311320)	195		
	Volume final	200		

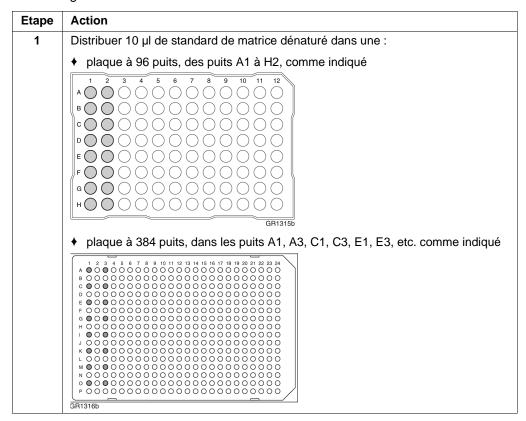
central et les systèmes de reproduction féminin et masculin, et pose un risque possible de malformation congénitale. Prière de lire la fiche signalétique applicable et de suivre les consignes de manipulation. Porter des protections oculaires, des gants et des vêtements appropriés.

Pour préparer les standards de matrice pour les matrices du jeu de fluorophores D : (suite)

Etape	Action	
4	Homogénéiser au vortex.	
5	Centrifuger le mélange.	
6	Chauffer le tube de standard à 95 °C pendant 3 à 5 mn pour dénaturer l'ADN.	
7	Placer immédiatement les tubes sur la glace pendant 2 mn.	

Chargement des standards

Pour charger les standards :



Pour charger les standards : (suite)

Etape	Action				
2	Centrifuger la plaque de façon à positionner chaque standard au fond de son puits. Les échantillons doivent :				
	avoir cet aspect	ne pas avoir cet aspect	ne pas avoir cet aspect		
	L'échantillon est positionné correctement au fonds du puits.	L'échantillon repose sur la paroi latérale car la plaque n'a pas été centrifugée.	Une bulle d'air se trouve au fond du puits car la plaque n'a pas été : • centrifugée avec une force suffisante, ou • centrifugée assez longtemps		

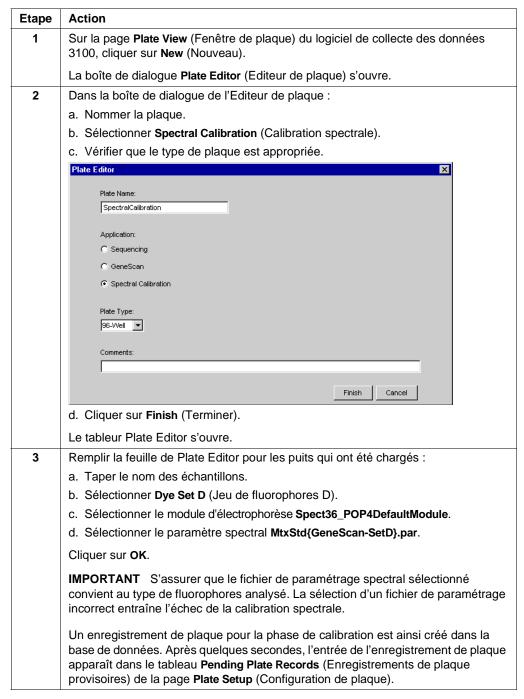
plaque et de l'instrument

Préparation de la Suivre les instructions des pages 2-8 à 2-13 pour :

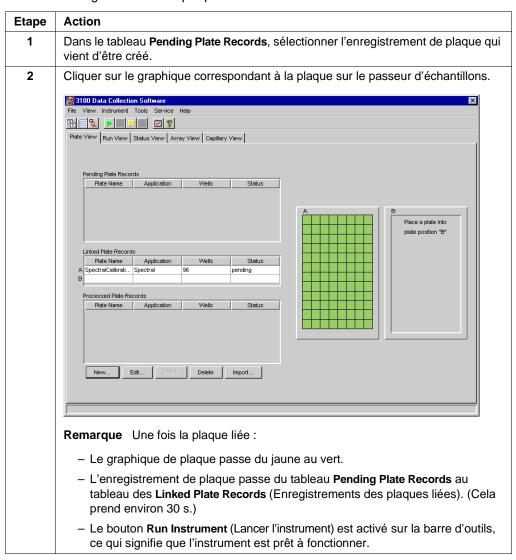
- assembler les plaques.
- vérifier et remplir les liquides sur l'instrument.
- placer la plaque sur le passeur d'échantillons.

enregistrement de plaque

Création d'un Pour créer un enregistrement de plaque destiné aux standards de matrice dénaturés



Liaison de la plaque Pour lier l'enregistrement à la plaque :



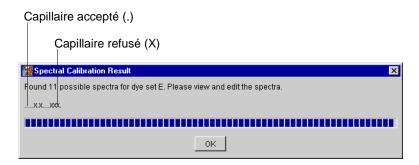
calibration

Lancement de la Pour lancer la calibration :

Etape	Action	
1	Pour examiner le calendrier d'exécution avant le début de la série, cliquer sur l'onglet Run View (Fenêtre des séries).	
2	Cliquer sur le bouton Run instrument sur la barre d'outils pour lancer l'analyse.	
	La calibration spectrale prend environ 30 mn.	

Zone des résultats de la calibration spectrale

A la fin du passage, alors que les données sont analysées, la zone Spectral Calibration Result (Résultats de la calibration spectrale) s'ouvre pour indiquer les capillaires acceptés et les capillaires refusés.



Pour accepter la série de calibration terminée :

Ī	Etape	Action	
	1	Dans la zone Spectral Calibration Result (Résultat de calibration spectrale), cliquer sur OK .	

IMPORTANT Examiner et évaluer le profil de calibration spectrale de chaque capillaire, même si la zone des résultats de la calibration spectrale indiquait qu'ils étaient acceptés. Se reporter au Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique 3100 ABI PRISM.

En cas d'échec du capillaire

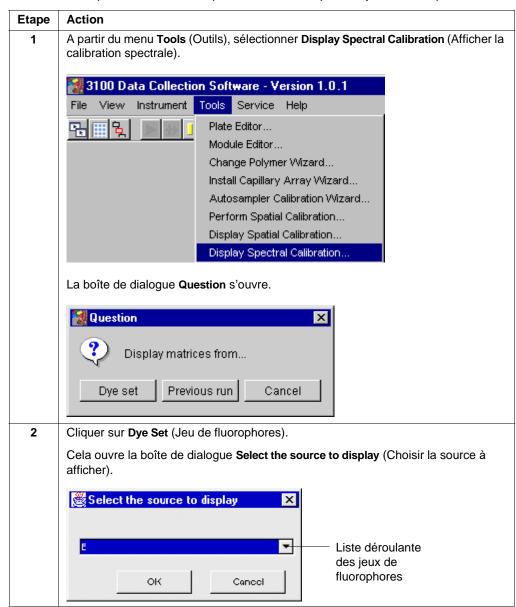
En cas d'échec, le profil spectral du capillaire accepté le plus proche sur sa gauche est automatiquement attribué au capillaire. S'il n'y a pas de capillaire accepté sur sa gauche, le système lui attribue le profil du capillaire accepté le plus proche sur sa droite. Ces capillaires sont marqués en jaune au lieu d'en vert dans la fenêtre de barrette (par ex. à la page 3-3).

IMPORTANT Pour les applications où les pics vers le haut et vers le bas entraînent des erreurs critiques, nous recommandons de refaire la calibration spectrale et un d'utiliser une analyse spectrale unique par capillaire.

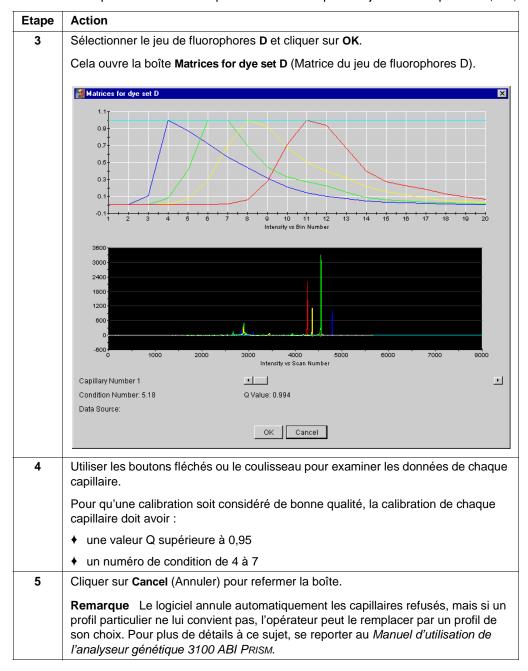
Examen d'un profil de calibration spectrale pour le jeu de fluorophores D

Après avoir effectué la calibration spectrale, il est de bonne pratique de vérifier la qualité des données spectrales pour chaque capillaire.

Pour afficher le profil de calibration spectrale mémorisé pour un jeu de fluorophores :



Pour afficher le profil de calibration spectrale mémorisé pour un jeu de fluorophores : (suite)



Entretien de l'instrument

Présentation

Dans ce chapitre Ce chapitre décrit les mesures à prendre pour l'entretien de l'Analyseur génétique 3100 ABI PRISM.

Section	Voir page
Listes des travaux de maintenance	5-2
Elimination des bulles d'air du bloc polymère supérieur	5-4
Vérification de l'espace disque disponible	5-5
Nettoyage et inspection des seringues	5-6
Retrait des blocs polymère	5-9
Nettoyage des blocs polymère	5-10
Montage du polymère frais sur l'instrument	5-11
Avant d'installer une barrette capillaire précédemment utilisée	5-12
Installation et retrait de la barrette capillaire	5-13
Stockage d'une barrette capillaire	5-15
Arrêt de l'instrument	5-16

Listes des travaux de maintenance

Présentation Cette section indique la liste des travaux d'entretien courants exigés pour le bon fonctionnement de l'analyseur génétique 3100. Les tâches sont agencées sur la liste en fonction de la fréquence de leur exécution.

Tâches journalières Effectuer ces tâches au moins une fois par jour.

Tâche de maintenance	Fréquence	Voir
Vérifier si les bandes de bouchons de réservoir sont bien en place et à plat.	Avant chaque série	_
Vérifier si les ensembles plaques sont correctement montés.	Avant chaque série	page 2-8
IMPORTANT Les trous dans le clip de maintien de la plaque doivent s'aligner avec ceux des tapis de bouchons à septum pour ne pas endommager les pointes capillaires.		
Vérifier si les ensembles plaques sont correctement positionnés sur la platine. Les plaques doivent s'ajuster de façon serrée sur la platine.	Avant chaque série	_
IMPORTANT Ne jamais utiliser de plaques faussées.		
Remplir les réservoirs d'eau et de tampon 1X sur l'instrument.	Quotidien ou avant chaque série	page 2-10
Vérifier l'absence de bulles dans les canaux des blocs polymère ou dans le bloc polymère et les éliminer le cas échéant.	Quotidien ou avant chaque série	page 5-4
Vérifier le collecteur côté chargement pour s'assurer que les pointes capillaires ne sont ni écrasées ni endommagées.	Quotidien ou avant chaque série	_
Vérifier le niveau de polymère dans la seringue de réserve de polymère pour s'assurer qu'elle contient au moins 1 ml.	Quotidien ou avant chaque série	_
Vérifier le bloc polymère pour s'assurer qu'il s'ajuste solidement sur l'instrument.	Quotidien	_
Nettoyer les surfaces de l'instrument.	Quotidien	_
Vérifier la présence de polymère dans la région du bloc polymère et nettoyer si nécessaire.	Quotidien	_
Vérifier l'absence de fuites autour des seringues et de l'écrou à vis.	Quotidien	_
Vérifier l'espace disponible sur le disque dur. Supprimer les enregistrements de plaque de la base de données de l'instrument et archiver les fichiers échantillon.	Quotidien	page 5-5

hebdomadaires -

Tâches Effectuer ces tâches au moins une fois par semaine.

Tâche de maintenance	Fréquence	Voir
Nettoyer les seringues.	Hebdomadaire ou au besoin	page 5-6
Nettoyer les réservoirs d'eau et de tampon à l'eau chaude.	Hebdomadaire	_
Nettoyer les blocs polymère inférieur et supérieur.	Hebdomadaire	page 5-10
Remplacer le polymère dans les seringues, dans le bloc polymère supérieur et dans la barrette capillaire.	Hebdomadaire ou au besoin	page 5-11
Vérifier les conditions de stockage des barrettes utilisées.	Hebdomadaire	_

Tâches effectuées Effectuer ces tâches au besoin. au besoin

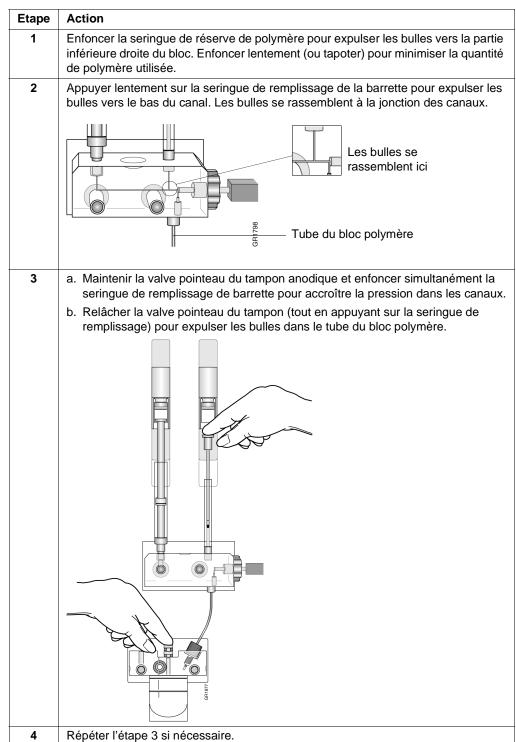
Tâche de maintenance	Fréquence	Voir
Nettoyer les plateaux perforés.	Au besoin	_
Changer de barrette.	Au besoin	page 5-13
Enlever le polymère des pointes capillaires. Utiliser un chiffon non-pelucheux imbibé d'eau désionisée.	Au besoin	_
Etalonner le passeur d'échantillons.	Très rarement	Manuel d'utilisation

Elimination des bulles d'air du bloc polymère supérieur

Elimination des bulles d'air

Pour plus de details sur l'assistant de changement de polymére, se reporter au Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique ABI PRISM.

Pour éliminer les bulles d'air du bloc polymère supérieur à l'aide de l'assistant de changement de polymère :



Vérification de l'espace disque disponible

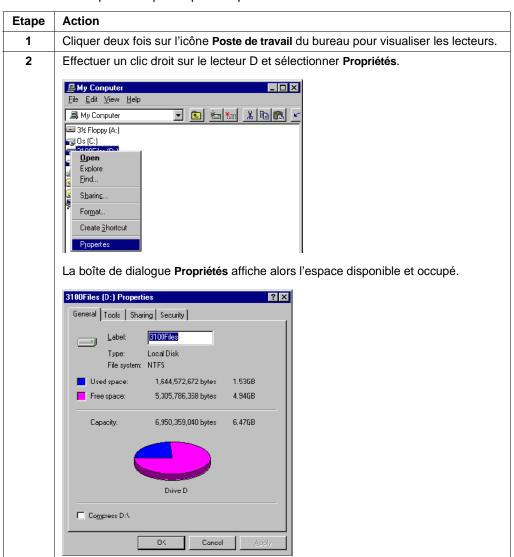
Introduction Vérifier chaque semaine l'espace disque disponible pour s'assurer qu'il permettra de stocker les données à créer.

Les procédures suivantes indiquent comment vérifier l'espace disque :

- sur le disque dur (normalement D) pour les fichiers échantillon extraits
- dans la base de données de l'instrument (normalement l'unité E) pour les données brutes

Vérification de l'espace du disque dur

Pour vérifier l'espace disque disponible pour les fichiers échantillon :



Pour vérifier l'espace disque disponible pour les fichiers échantillon : (suite)

Etape	Action		
3	Evaluer la quantité d'espace libre nécessaire à l'aide des informations ci-dessous.		
	Type de fichier	Espace approximatif requis par fichier (Ko) ^a	
	Fichier échantillon analysé pour l'analyse de fragment	300	
	Fichier échantillon non analysé	100	
	a. Les valeurs fournies sont purement estimatives. La taille réd d'électrophorèse sélectionné.	elle du fichier dépend du module	
4	Si l'espace n'est pas suffisant :		
	a. Archiver les fichiers échantillon vers un autre volum	e.	
	b. Supprimer les fichiers originaux du lecteur.		

l'espace de base de données

Vérification de Remarque La base de données de l'instrument passe automatiquement de 2 à 9 Go, selon la quantité de données à stocker.

Pour vérifier l'espace de base de données :

Etape	Action
1	Exécuter l'utilitaire Diskspace.
	Pour plus de détails, se reporter au <i>Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique</i> 3100 ABI PRISM (Réf. nº 4315834).
2	Si l'espace utilisé est supérieur à 8 Go, supprimer une partie ou la totalité des enregistrements et des blocs de données.
	Pour plus de détails, se reporter au <i>Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique</i> 3100 ABI PRISM.

Nettoyage et inspection des seringues

nettoyer les seringues

Quand faut-il Nettoyer à fond les seringues :

- chaque fois qu'elles sont retirées de l'instrument, ou au moins une fois par semaine
- à chaque changement du polymère, notamment lorsqu'on passe à un nouveau type ou lot de polymère

Retrait des seringues Pour retirer les seringues de l'instrument :

Etape	Action
1	Saisir la seringue de réserve de polymère au dessus du raccord ou à la base, et tourner la seringue dans le sens anti-horaire.
	Ne pas desserrer ce raccord en retirant la seringue
	IMPORTANT Faites attention de ne pas enlever le raccord. Plusieurs anneaux et clapets anti-retours risquent de se démonter si le raccord est enlevé.
2	Saisir la seringue de remplissage de barrette et tourner la seringue dans le sens anti-horaire.
3	Jeter le polymère restant selon les dispositions correctes.
4	Passer à la section « Nettoyage des seringues » ci-dessous.

seringues

Nettoyage des Pour nettoyer une seringue :

Etape	Action	
1	Nettoyer la seringue à fond en rinçant l'intérieur et l'extérieur du cylindre de la seringue et sa pointe à l'eau chaude.	
	Pour plus de details sur le nettoyage des seringues, se reporter au Manuel d'utilisation de l'analyseur génétique ABI PRISM.	
	ATTENTION Ne pas utiliser d'eau très chaude. Cela risquerait de déformer la pointe de seringue en téflon.	
	IMPORTANT S'assurer que les seringues ne contiennent plus de polymère séché.	
2	Rincer le cylindre et la pointe de la seringue à l'eau désionisée.	
3	Sécher à l'air comprimé.	
4	Remonter la seringue avant de l'inspecter conformément à la page 5-8.	

seringue

Inspection d'une IMPORTANT Après avoir nettoyé la seringue, toujours vérifier la présence des joints toriques pour éviter les fuites pendant l'analyse.

Pour inspecter la seringue :

Etape	Action
1	Inspecter la présence des deux joints toriques dans la seringue (Réf. nº 221102) : une derrière la bague et l'autre autour. Joints toriques
	GR0413
2	Vérifier que la bague est solidement placée dans l'extrémité de la seringue.

Retrait des blocs polymère

polymère supérieur

Retrait du bloc Pour retirer le bloc polymère supérieur :

Etape	Action	
1	Retirer les seringues comme cela est décrit en page 5-7.	
2	Débrancher la barrette capillaire du bloc polymère :	
	a. Appuyer sur le bouton du plateau.	
	b. Ouvrir l'instrument, le four et les portes du bloc de détection.	
	c. Desserrer l'écrou de la barrette capillaire.	
	d. Extraire en partie le bloc polymère.	
	e. Retirer la cellule du bloc de détection.	
	f. Retirer le manchon de la barrette capillaire du bloc polymère.	
	g. Si la barrette capillaire doit être réutilisée, elle doit être rangée conformément aux instructions en page 5-15.	
3	Débrancher le bloc polymère inférieur en dévissant le raccord tubulaire sur la face inférieure droite du bloc polymère supérieur.	
4	Saisir le bloc polymère supérieur à deux mains et l'extraire directement en tirant vers soi.	
5	Le bloc polymère supérieur chevauche deux tiges d'acier et s'extrait facilement en coulissant dès qu'un ressort dépasse un certain point de contrôle.	

polymère inférieur

Retrait du bloc Pour retirer le bloc polymère inférieur :

Etape	Action	
1	Retirer le réservoir anodique et mettre le tampon au rebut de la façon appropriée.	
2	Saisir le bloc polymère inférieur et l'extraire directement vers soi.	
3	Débrancher le raccord tubulaire du bloc polymère.	

Nettoyage des blocs polymère

nettoyer les blocs polymère

Quand faut-il Nettoyer les blocs polymère inférieur et supérieur :

- avant de changer le polymère sur l'instrument
- lorsque le polymère est resté sur l'instrument plus d'une semaine

Remarque Le polymère âgé de plus d'une semaine provoque une augmentation de courant transitoire pendant l'électrophorèse due à la décomposition uréique.

Nettoyage des blocs polymère

IMPORTANT Ne pas exposer les blocs polymère aux solvants organiques.

Pour laver les blocs polymère inférieur et supérieur :

Etape	Action
1	Retirer les blocs polymère de l'instrument conformément aux instructions en page 5-9.
2	Utiliser de l'eau courante ou une bouteille à gicleur pour bien rincer le bloc polymère supérieur à l'eau chaude.
3	Inspecter visuellement les canaux pour détecter les traces de résidu blanc (polymère séché). Continuer le lavage des canaux jusqu'à l'élimination totale des résidus.
4	Rincer le bloc et ses canaux à l'eau désionisée.
5	Expulser l'eau résiduelle du bloc polymère et de ses raccords pour s'assurer que le polymère courant n'est pas dilué. Forcer le passage de l'air dans les canaux en utilisant de l'air comprimé en bombe, jusqu'à ce que les canaux soient secs.

réservoir anodique et de la tubulure de polymère

Nettoyage du Pour laver le réservoir anodique et la tubulure de polymère :

Etape	Action	
1	Utiliser une bouteille à gicleur pour chasser l'eau désionisée dans la tubulure du bloc polymère.	
2	Laver le réservoir anodique à l'eau chaude et le rincer à l'eau désionisée.	
3	Sécher les deux composants à l'air comprimé.	

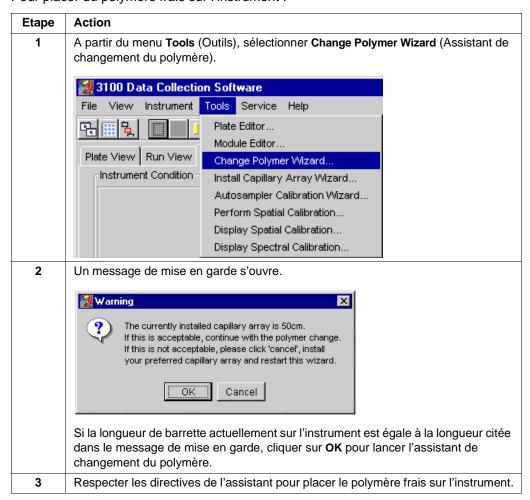
Montage du polymère frais sur l'instrument

Quand faut-il Nous recommandons de changer le polymère chaque semaine. Le polymère a une changer le polymère durée de vie d'environ 7 jours à 25 °C.

Ajout ou changement du polymère

A ATTENTION DANGER CHIMIQUE. Le polymère POP risque de provoquer l'irration des yeux, de la peau et de l'appareil respiratoire. Prière de lire la fiche signalétique applicable et de suivre les consignes de manipulation. Porter des protections oculaires, des gants et des vêtements appropriés. Réservé à la recherche et au développement.

Pour placer du polymère frais sur l'instrument :



Avant d'installer une barrette capillaire précédemment utilisée

Introduction Avant de réinstaller une barrette capillaire, il est recommandé de :

- nettoyer la face avant de la cellule de détection
- vérifier que la barre cathodique est sèche

Nettoyage de la Cette procédure est inutile pour les nouvelles barrettes, sauf si la cellule de détection cellule de détection a été touchée accidentellement.

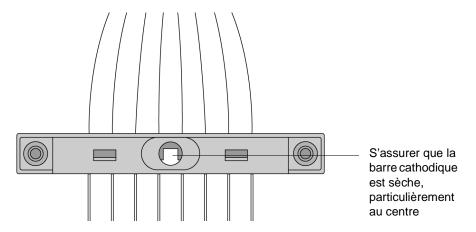
Pour nettoyer la cellule de détection :

Etape	Action	
1	Placer une goutte de méthanol sur la face avant de la cellule de détection.	
	Face avant de la cellule de détection	
	AVERTISSEMENT DANGER CHIMIQUE. Le méthanol est un gaz et un liquide inflammable. Son exposition risque de provoquer l'irritation des yeux, de la peau et de l'appareil respiratoire, la dépression du système nerveux central et la cecité. Prière de lire la fiche signalétique applicable et de suivre les consignes de manipulation. Porter des protections oculaires, des gants et des vêtements appropriés.	
2	Sécher la cellule en utilisant de l'air pressurisé propre.	

barre cathodique

Vérification de la S'assurer que la barre cathodique est sèche au moment de replacer la barrette usagée sur l'instrument. Une barre mouillée risque de provoquer la formation d'étincelles.

> A AVERTISSEMENT DANGER D'INCENDIE/ELECTROCUTION. Ne pas laisser de liquide dans la barre cathodique. Cela pose un risque d'électrocution voire d'incendie si la barre n'est pas correctement entretenue.



Installation et retrait de la barrette capillaire

changer la barrette capillaire

Quand faut-il Remplacer la barrette capillaire après environ 100 passages.

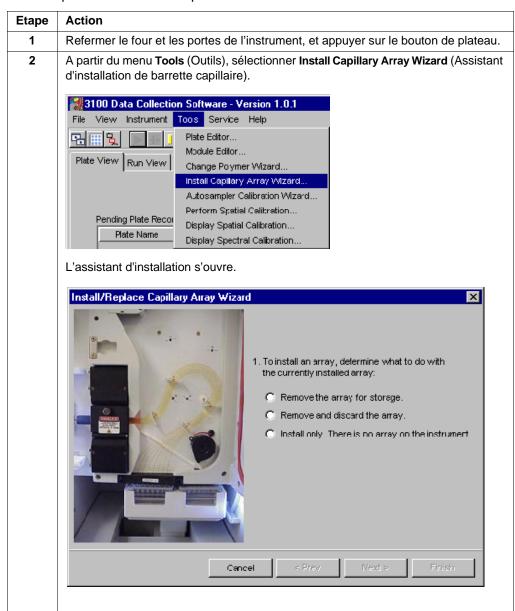
Les problèmes suivants suggèrent qu'une nouvelle barrette capillaire est nécessaire :

- mauvaise précision de taille ou désignation d'allèle
- mauvaise résolution et/ou intensité de signal diminuée

Installation ou retrait de la barrette capillaire à l'aide de l'assistant

ATTENTION DANGER CHIMIQUE. Le polymère POP risque de provoquer l'irration des yeux, de la peau et de l'appareil respiratoire. Prière de lire la fiche signalétique applicable et de suivre les consignes de manipulation. Porter des protections oculaires, des gants et des vêtements appropriés. Réservé à la recherche et au développement.

Pour remplacer une barrette capillaire ou l'installer sur un instrument :



Pour remplacer une barrette capillaire ou l'installer sur un instrument : (suite)

Etape	Action	
3	Respecter les directives de l'assistant pour remplacer ou installer la barrette.	
4	Passer à la section « Remplacement du tampon » ci-dessous.	

du tampon

Remplacement Remplacer le tampon après avoir installé une nouvelle barrette capillaire. Remplacer ensuite les réservoirs d'eau et de tampon après 12 h de fonctionnement.

> Pour plus de détails, se reporter à la section « Vérification et remplissage des liquides » à la page 2-10.

Stockage d'une barrette capillaire

ranger hors de l'instrument

Quand faut-il la Ranger la barrette capillaire hors de l'instrument quand elle reste inutilisée pendant plus d'une semaine.

> Avant de stocker la barrette capillaire pendant une période prolongée, nous recommandons de remplir les capillaires de polymère frais.

Stockage de la barrette capillaire hors de l'instrument

IMPORTANT Ne pas laisser les capillaires de la barrette sécher s'ils doivent être réutilisés. Entreposer la barrette capillaire en plaçant les deux extrémités dans le tampon 1X.

Pour stocker la barrette capillaire hors de l'instrument :

Etape	Action	
1	Remplir la barrette capillaire de polymère frais en utilisant l'assistant de changement du polymère.	
2	Enlever la protection de la seringue.	
3	Enlever les deux seringues du bloc polymère supérieur et mettre au rebut le polymère restant de la façon appropriée.	
4	Laver les seringues.	
5	Enlever la barrette capillaire de l'instrument en utilisant l'assistant d'installation et de changement de la barrette capillaire.	
	Pour plus de détails, se reporter à la section « Installation et retrait de la barrette capillaire » à la page 5-13.	
6	Replacer le couvercle sur la cellule de détection.	
7	Remplir un réservoir de tampon 1X et recouvrir à l'aide d'une bande de bouchons à septum. Introduire les pointes capillaires dans le tampon.	
8	Remplir un tube conique de 1,5 ml d'eau désionisée et insérer le côté détection de la barrette capillaire.	
9	Envelopper le tube d'une pellicule pour laboratoire (Parafilm par exemple) pour empêcher l'évaporation.	
10	Ranger la barrette capillaire à la verticale.	
11	Vérifier le niveau du tampon 1X dans le réservoir et le tube chaque semaine.	

Arrêt de l'instrument

effectuer chaque procédure d'arrêt

Quand faut-il Effectuer la procédure d'arrêt appropriée comme suit :

Si l'instrument est laissé sans surveillance	Effectuer une procédure d'arrêt
pendant une semaine au plus avec un réservoir tampon plein	à court terme IMPORTANT Il est déterminant pour le succès de la procédure d'arrêt á court terme que la pointe de la barrette capillaire reste dans le tampon.
pendant plus d'une semaine	à long terme

à court terme

Exécution d'un arrêt Pour effectuer un arrêt à court terme :

Etape	Action
1	Remplir les capillaires de polymère frais en utilisant des commandes de contrôle manuelles.
2	Appuyer sur le bouton de plateau pour amener le passeur d'échantillons vers l'avant.
3	Remplir le réservoir de tampon 1X, juste en dessous du sommet du réservoir.
4	Fixer une bande de bouchons à septum sur le réservoir et le placer sur la position 1 du passeur d'échantillons.
5	Appuyer sur le bouton de plateau avec les portes d'instrument ouvertes.
6	Refermer les portes de l'instrument. Le passeur d'échantillons se met en position 1, laissant les pointes capillaires dans le réservoir tampon.
7	Arrêter l'ordinateur et mettre l'instrument hors tension.

à long terme

Exécution d'un arrêt Pour effectuer un arrêt à long terme :

Etape	Action	
1	Observer la procédure en page 5-15 pour enlever et ranger la barrette capillaire hors de l'instrument.	
2	Enlever de l'instrument :	
	◆ Les seringues du bloc polymère supérieur. Pour plus de détails, lire la page 5-7.	
	♦ Bloc polymère supérieur. Pour plus de détails, lire la page 5-9.	
	♦ Bloc polymère inférieur. Pour plus de détails, lire la page 5-9.	
3	Enlever du passeur d'échantillons :	
	♦ les ensembles plaques	
	♦ les réservoirs	
4	Essuyer le passeur d'échantillons et les plateaux perforés avec un tissu non-pelucheux imbibé d'eau.	
5	Refermer les portes de l'instrument.	
6	Arrêter l'ordinateur et mettre l'instrument hors tension.	
7	Laver les seringues, les blocs polymère et les réservoirs à l'eau chaude. Rincer à l'eau désionisée.	

Préparation du formamide



Désionisation et stockage du formamide

formamide : Agent dénaturant

A propos du Le formamide permet de dénaturer les échantillons d'ADN avant qu'ils ne soient placés sur l'Analyseur génétique 3100 ABI PRISM®.

IMPORTANT Un formamide de haute qualité est essentiel pour des données reproductibles.

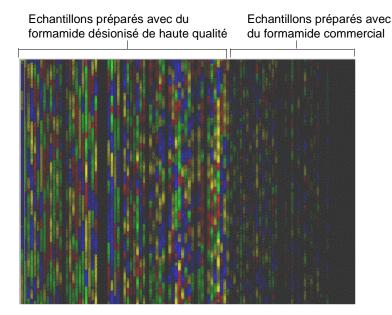
Problèmes liés au formamide commercial

Le formamide acheté auprès de fournisseurs commerciaux est souvent contaminé par des quantités d'eau variables et des ions organiques et inorganiques indésirables. De plus, le formamide est souvent fourni en bouteilles de verre qui exposent le formamide à l'air une fois ouvertes et lui laissent absorber l'eau.

L'eau réagit lentement avec le formamide pour produire de l'acide formique (acide méthanoïque) et de l'ammoniac. Les produits ioniques de cette réaction entraînent deux problèmes :

- ils entrent sensiblement en concurrence avec les ions d'ADN pour l'injection dans le capillaire, entraînant des signaux affaiblis.
- ils réagissent avec l'ADN, entraînant une dégradation de l'échantillon.

La figure ci-dessous montre l'effet des produits ioniques résultant du formamide sur l'injection électrocinétique.



L'utilisation de formamide désionisé contenant un stabilisateur alcalin prévient ces problèmes.

Matériaux requis Les matériels suivants sont recommandés pour cette procédure :

Matériel	Description
Formamide	Le formamide brut (avant la désionisation) doit :
	♦ présenter une pureté égale ou supérieure à 99,5 %, avec un faible contenu aqueux
	♦ être emballé sous gaz inerte
	♦ présenter une conductivité d'environ 100 μSiemens/cm ou moins
	Remarque Les Siemens, anciennement appelés mho, sont les unités de mesure de la conductance ou de la conductivité spécifique.
Résine échangeuse d'ions	♦ Résine contenant les groupes fonctionnels échangeurs d'ions suivants :
	R-SO ₃ ⁻ (sous la forme H+) (cation)
	R-CH ₂ N+(CH ₃) ₃ , (sous la forme OH-) (anion)
	 Ces groupes sont fixés à une matrice de divinylbenzène styrène avec une liaison transversale de 8 %.
	◆ La capacité liquide minimum est de 1,5 meq/ml avec une taille de tamis sec de 20–50 (résine à lit mélangé de qualité biologie moléculaire, AG501 X8)
	◆ Disponible auprès de Bio-Rad Laboratories (Réf. nº 143-6424) ou équivalent
Contrôleur de conductivité	Un contrôleur de conductivité commercial, ou pH mètre avec une cellule de conductivité externe, est suffisant pour mesurer la conductivité du formamide si l'appareil dispose d'une constante de cellule de 1,0.
Na ₂ EDTA	◆ Dihydrate (M _r 372,2)
	◆ Réactif ACS, pur à 99 % ou supérieur
	♦ Vendu par Sigma (Réf. nº E4884) ou équivalent
Récipient pour le	Utiliser un récipient vissable en polypropylène
stockage du formamide	Remarque Les récipients en verre ne sont pas recommandés en raison du risque de contamination potentielle lié aux minéraux.

Résine échangeuse Le formamide brut est désionisé avec des résines mélangées cationique et anionique d'ions pour éliminer les impuretés comme les ions ammonium et formiate. La désionisation se produit à un taux de transfert de masse lent dans la cinétique d'équilibre de l'échange ionique en raison :

- des modifications physiques dans la résine en présence de formamide
- des différences dans la taille moléculaire et de la selectivité entre les impuretés ioniques et les contre-ions H+ et OH-

Par conséquent, la conductivité du formamide doit être surveillée dans le temps pour déterminer l'étendue de la désionisation par la résine.

Etalonnage du contrôleur de conductivité

Une cellule et un contrôleur de conductivité sont nécessaires pour mesurer l'efficacité du processus de désionisation. Plus le formamide est désionisé, plus sa conductivité est faible.

Dans la gamme de mesure, le contrôleur de conductivité doit être étalonné régulièrement (jusqu'à 10 µSiemens/cm ou moins). Etalonner le contrôleur en utilisant des solutions étalons de chlorure de potassium tracables auprès du NIST. Comme la température affecte la conductivité, les échantillons doivent être amenés à température ambiante avant de mesurer la conductivité.

Préparation de l'EDTA

L'EDTA alcalin (acide éthylènedinitrilotétracétique) est ajouté au formamide désionisé pour le stabiliser et faciliter l'injection électrocinétique de l'ADN. Pour minimiser la quantité d'eau à ajouter au formamide, une solution mère concentrée (200-mM) d'EDTA est ajoutée.

Pour préparer la solution mère de 200-mM d'EDTA :

Etape	Action	
1	Ajouter 7,44 g de Na ₂ EDTA à 70 ml d'eau désionisée et remuer.	
2	Tout en remuant, ajuster lentement au pH 8,0–8,8 en ajoutant au goutte à goutte une solution concentrée d'hydroxyde de sodium. Remarque Cela aide l'EDTA à se dissoudre au fil du temps, car l'EDTA a une solubilité limitée, jusqu'à ce que le pH soit augmenté.	
3	Diluer jusqu'à 100 ml avec de l'eau désionisée.	
4	Entreposer à 4 °C.	

Préparation du formamide

A AVERTISSEMENT DANGER CHIMIQUE. Le formamide est dangereux s'il est absorbé par la peau ; il peut également provoquer une irritation des yeux, de la peau et de l'appareil respiratoire. Il risque d'endommager le système nerveux central et les systèmes de reproduction féminin et masculin, et pose un risque possible de malformation congénitale. Prière de lire la fiche signalétique applicable et de suivre les consignes de manipulation. Porter des protections oculaires, des gants et des vêtements appropriés.

Pour commencer la purification et mesurer la conductivité :

Etape	Action	
1	Etalonner la cellule du contrôleur de conductivité, et la rincer avec de l'eau distillée.	
2	Dans un récipient vissable en polypropylène, laver 10 g de résine échangeuse d'ions Bio-Rad AG501 X8 en la mélangeant avec 10 à 20 ml de formamide pendant 1 mn.	
3	Décanter ou filtrer avec un filtre de téflon ou de nylon grossier, et jeter le formamide.	
4	Répéter deux fois les étapes 2 et 3.	
5	Ajouter 100 ml de formamide à la résine lavée.	
6	Enfermer le mélange en veillant à ce que le récipient soit hermétiquement fermé.	
7	Remuer rapidement le mélange avec un agitateur magnétique, ou mélanger avec un mixeur électrique, en veillant à ce que la résine soit suspendue pour que le mélange et l'échange ionique soient adéquats. Remuer à température ambiante pendant environ 2 heures.	
8	Enlever un aliquot du mélange, et mesurer la conductivité à température ambiante.	
9	Rincer la cellule de conductivité à l'eau distillée.	

Pour commencer la purification et mesurer la conductivité : (suite)

Etape	Action	
10	Si la conductivité est	Procédure
	>5 μSiemens/cm	Revenir à l'étape 7, et agiter pendant 30 mn supplémentaires.
	<5 μSiemens/cm	Passer à la section « Pour compléter la purification du formamide désionisé : » ci-dessous.
	Remarque Si la conductivité n'est pas <5 µSiemens/cm après environ 4,5 heures de mélange, répéter la procédure complète en utilisant un nouveau lot de formamide et de la nouvelle résine.	
	Remarque La désionisation est plus efficace quand on commence avec un formamide de pureté supérieure et une plus faible conductivité.	

Pour compléter la purification du formamide désionisé :

Etape	Action	
1	Filtrer sous vide le formamide désionisé en utilisant un filtre de téflon ou de nylon de 0,2 ou de 0,4 µm.	
2	Mesurer le volume final du formamide désionisé.	
3	Ajouter le volume requis de 200-mM d'EDTA au formamide désionisé pour aboutir à une concentration finale d'environ 0,3-mM d'EDTA.	
	Remarque Après l'ajout d'EDTA, la conductivité finale de la formule est augmentée jusqu'à environ 30 µSiemens/cm. Utiliser l'équation ci-dessous pour calculer le volume d'EDTA à ajouter.	
	$V_{EDTA (\mu i)} = 1.5 V_{Form(mi)}$	
	Où,	
	V _{EDTA (μl)} = volume d'EDTA à ajouter en microlitres	
	V _{FORM(ml)} = volume mesuré de formamide en millilitres	
	Calcul d'échantillonnage avec un volume final de 90-ml de formamide :	
	$V_{EDTA(\mu l)} = 1,5 \times 90 = 135 \mu l$	
4	Diviser immédiatement le formamide en aliquots dans des tubes de polypropylène plus petits et les stocker entre -15 et -20 °C pendant 6 mois maximum.	

Utilisation du Au moment de l'utilisation, dégeler et utiliser entièrement un tube à la fois avant formamide d'ouvrir et d'exposer un autre tube. Entreposer les tubes à 4 °C pendant la journée dans le cadre d'un emploi intermittent. Sinon, les congeler à nouveau.

Index

\boldsymbol{A}	D		
adresse Web	démarrage du logiciel d'analyse GeneScan 3-6		
Applied Biosystems 1-6	dénaturation des échantillons 2-4		
Documents sur demande 1-6	Documents sur demande 1-6		
affichage	données		
données brutes (en couleur) dans le logiciel de collecte des données 3-2 à 3-3 fichiers échantillon dans le logiciel d'analyse GeneScan 3-9 à 3-11	affichage des données analysées 3-5 affichage des données brutes 3-2 analyse ou réanalyse 3-12 extraction 2-24		
assistance clientèle. Voir support technique 1-3	données brutes (en couleur), affichage dans le logiciel de		
assistance. Voir support technique 1-3	collecte des données 3-2 à 3-3		
autoextraction, échec 2-24			
	E		
В	EDTA, préparation A-3		
barrette capillaire, installation, retrait, stockage 5-12 à 5-15	enregistrement de plaque		
bloc polymère supérieur, élimination des bulles d'air 5-4	création 2-14 à 2-19		
blocs polymère	liaison d'une plaque 2-20		
élimination des bulles d'air 5-4	pour la calibration spectrale 4-9		
nettoyage 5-10	ensemble plaque, placé sur le passeur d'échantillons 2-13		
retirés de l'instrument 5-9	espace disponible sur le disque dur, vérification 5-5		
boîte de dialogue des paramètres d'analyse 3-13			
Bouton d'arrêt 2-24	$m{F}$		
Bouton de passage à la série suivante 2-24	Fenêtre de contrôle des résultats (logiciel d'analyse		
Bouton de suspension 2-24	GeneScan) 3-9 à 3-11		
bouton des données brutes (logiciel d'analyse GeneScan) 3-8	Fiche signalétique, comment commander 1-9 fichiers échantillon		
bouton des informations d'échantillon (logiciel d'analyse GeneScan) 3-8	affichage 3-6		
bouton des résultats d'échantillon (logiciel d'analyse	affichage dans le logiciel d'analyse GeneScan Analysis 3-9 à 3-11		
GeneScan) 3-8 bulles d'air, éliminées du bloc polymère supérieur 5-4	convention d'écriture par défaut 2-15 longueur maximale 2-15		
	fichiers étalons de masse moléculaire (.szs),		
\boldsymbol{C}	sélection 3-12		
calibration spatiale, discussion 4-2 à 4-5	formamide		
calibration spectrale, discussion 4-6 à 4-13	désionisation et stockage A-1 à A-4		
capillaire jaune dans la fenêtre Array View 4-11	préparation d'échantillon 2-3		
cellule de détection, nettoyage 5-12	Formamide Hi-Di 2-3		
Champ de projet BioLIMS (dans l'enregistrement de			
plaque) 2-16	I		
Commande d'affichage des résultats de la série 3-2	identification de pic (logiciel d'analyse GeneScan) 3-9		
Commande de remplissage de formulaire 2-16	indices de regroupement 2-3		
convention d'écriture pour les fichiers échantillon 2-15	instrument		
courrier électronique, adresse du support technique 1-3 création des projets dans le logiciel d'analyse	arrêt 5-16		
GeneScan 3-6	fonctionnement 2-23		

J	R		
jeu de fluorophores	réanalyser les données. Voir analyse et réanalyse des		
pris en compte 2-3 sélection 2-16	données		
Selection 2-16	réservoirs positions sur le passeur d'échantillons 2-12		
K	remplissage 2-10 à 2-12		
Kits "linkage mapping set", leurs indices de	réservoirs d'eau et de tampon cathodique,		
regroupement 2-3	remplissage 2-10 à 2-12		
	a		
L	S		
liaison d'une plaque 2-20	sécurité discussion 1-8 à 1-12		
Logiciel d'analyse GeneScan 3-12 à 3-14	manuel 1-2		
démarrage 2-27 logiciel de collecte des données, démarrage 2-4	sécurité chimique 1-8		
Togiciol de concolle des dominoses, demanage — E T	sécurité des déchets 1-8		
M	Boîte de dialogue Select the run to display 3-2 série		
maintenance, discussion 5-2 à 5-16	démarrage 2-23		
manuels, documentation du 3100 1-2	omission, suspension, arrêt 2-24		
mise en garde contre les risques d'électrocution 1-12	surveillance 2-23		
mise en garde sur les lasers 1-12 module d'analyse	seringes, discussion 5-6		
affichage et modification 2-27	standards de matrice, préparation 4-6 support technique 1-3 à 1-7		
sélection 2-18	adresse email 1-3		
module d'électrophorèse	adresse Internet 1-6		
affichage, modification et création 2-25 module d'électrophorèse série	agences de vente régionales 1-5 téléphone/fax (Amérique du Nord) 1-3		
sélection 2-17	téléphone/fax (en dehors de l'Amérique du Nord) 1-5		
N	T		
numéros de référence	tampon 1X, préparation pour une seule analyse 2-11		
manuels 1-2			
pièces et fournitures. Se reporter au Manuel d'utilisation 3100	V		
3 4 m 3 m 3 m 3 m 3 m 3 m 3 m 3 m 3 m 3	volumes d'échantillon requis pour un passage 2-3		
0	volumes de chargement. Voir la section volumes d'échantillonnage		
Onglet de fenêtre de plaque 2-14, 2-20	a contaminanting		
OrbixWeb, démarrage 2-4			
ordinateur vérification de l'espace de la base de données 5-6			
vérification de l'espace de la base de données 3-0 vérification de l'espace disponible sur le disque			
dur 5-5			
P			
Page Array View (Fenêtre de barrette) 3-3			
panels de données, affichage 3-10 passeur d'échantillons			
placement des plaques 2-13			
positions de réservoir 2-12			
polymère, ajout et remplacement 5-11			
préférences 2-6 préférences logicielles 2-6			
préparation d'échantillon 2-3			
proparation a contantillon 2 o			

Siège social

850 Lincoln Centre Drive Foster City, CA 94404 Etats-Unis Téléphone: +1 650.638.5800 Numéro gratuit (Etats-Unis): +1 800.345.5224

Télécopie: +1 650.638.5884

Agences commerciales internationales

Le vaste réseau de service et de distribution Applied Biosystems, prèsent dans 150 pays sur les six continents, met à la disposition de ses clients les meilleurs spécialistes des applications et du support technique. Pour obtenir la liste des agences internationales, prière d'appeler notre agence locale ou consulter notre site Web à www.appliedbiosystems.com.

www.appliedbiosystems.com

AB Applied HITACHI

Applera Corporation s'engage à fournir aux spécialistes des sciences de la vie du monde entier les informations et les technologies les plus innovantes. Applera Corporation est constituée des divisions Applied Biosystems et Celera Genomics.

Imprimé aux Etats-Unis, 02/2001

an Applera business