



SERVICES DE GÉNOTYPAGE

Guide de l'utilisateur

Microsatellites

Version 05

Table des matières

TABLE DES MATIÈRES	2
INFORMATIONS GÉNÉRALES	3
PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS	3
MATÉRIEL DE DÉPART	3
DISPOSITION DES ÉCHANTILLONS	4
PLAQUES ET FILMS ADHÉSIFS	4
REQUIS	5
REQUÊTE DE SERVICE ET SOUMISSION DES ÉCHANTILLONS	6
REQUÊTE DE SERVICE	6
SOUMISSION D'ÉCHANTILLONS	6
PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS POUR ENVOI	7
BORDEREAU D'EXPÉDITION	7
PRÉPARATION DU COLIS	7
ENVOI DES ÉCHANTILLONS	7
POUR PLUS D'INFORMATION	8
BUREAU DE GESTION DES CLIENTS	8
INFORMATIONS ADDITIONNELLES	8
TRANSMISSION DES RÉSULTATS	8

Informations générales

Ce document décrit la procédure à suivre lors d'une demande de service de génotypage de marqueurs microsatellites et d'identification de lignée cellulaire humaine. Les instructions détaillées pour la préparation, la soumission des échantillons, les exigences d'envoi ainsi que des informations additionnelles sont fournies dans ce guide.

Afin d'éviter tout délai dans le traitement de la requête, les instructions du présent guide doivent être suivies attentivement.

Noter que les délais d'exécution peuvent varier selon l'ampleur du projet. Il est recommandé de s'informer des délais de traitement auprès du [Bureau de gestion des clients](#).

Préparation des échantillons

Matériel de départ

Le matériel de départ pour le service de génotypage de marqueurs microsatellites peut varier selon les options choisies.

Option	Description	Matériel de départ
1 Lecture seulement	Lecture de produits de PCR préalablement re-suspendus dans la formamide avec une échelle de poids moléculaire standard.	Produit de PCR* préalablement re-suspendus dans la formamide + standard
2 Ajout de formamide avec standard + lecture	Lecture de produits de PCR à re-suspendre dans la formamide avec l'échelle de poids moléculaire standard 500Liz	Produit de PCR*
3 Ajout de formamide avec standard + lecture + analyse	Lecture de produits de PCR à re-suspendre dans la formamide avec l'échelle de poids moléculaire standard 500Liz et analyse des chromatogrammes	Produit de PCR*
4 Lecture + analyse	Lecture de produits de PCR préalablement re-suspendus dans la formamide avec une échelle de poids moléculaire standard et analyse des chromatogrammes	Produit de PCR* préalablement re-suspendus dans la formamide + standard
5 PCR + lecture + analyse	Réalisation de l'amplification PCR à partir d'ADN génomique (ADNg), lecture et analyse des 10 marqueurs**	ADN génomique (humain uniquement)

6 PCR + lecture + analyse	Réalisation de l'amplification PCR à partir d'ADNg, lecture et analyse des 24 marqueurs**	ADN génomique (humain uniquement)
---------------------------------	---	--------------------------------------

*Tous les produits de PCR doivent avoir été amplifiés avec une des amorces marquées avec un fluorochrome. Les fluorochromes acceptés sont le *FAM*, le *VIC*, le *NED* et le *PET*.

**Pour l'identification de lignée cellulaire humaine, les kits utilisés incluent les marqueurs suivants : GenePrint® 10: *AMEL*, *CSF1PO*, *D13S317*, *D16S539*, *D21S11*, *D5S818*, *D7S820*, *TH01*, *TPOX*, *vWA*.

GenePrint® 24: *Amelogenin*, *D3S1358*, *D1S1656*, *D2S441*, *D10S1248*, *D13S317*, *Penta E*, *D16S539*, *D18S51*, *D2S1338*, *CSF1PO*, *Penta D*, *TH01*, *vWA*, *D21S11*, *D7S820*, *D5S818*, *TPOX*, *DYS391*, *D8S1179*, *D12S391*, *D19S433*, *FGA*, *D22S1045*.

Disposition des échantillons

- Pour le service de génotypage de marqueurs microsatellites, les plaques de 96 puits peuvent être soumises pleines.

Pour les options de lecture seulement et pour la lecture + analyse (options 1 et 4), si une plaque n'est pas pleine, de l'eau ultra pure de type 1 (ou une autre solution acceptée) doit être ajoutée dans chaque puits vide. Voir la section [Solutions acceptées dans les puits vides](#).

- Pour le service d'identification de lignée cellulaire humaine, deux puits par plaque doivent être laissés vides pour l'ajout de contrôles, soit les puits H11 et H12.
- Disposer les échantillons dans la plaque dans le même ordre que la [Soumission d'échantillons](#).

Plaques et films adhésifs

Plaque 96 puits recommandée

Les plaques PCR clair à 96 puits demi-jupé (*half-skirt*).

Exemples:

- Thermo-Fast 96 PCR detection plate with flat deck; Life Technologies, Cat#AB1400L
- 96-well plate, standard semi-skirted, clear; FroggaBio, Cat#SS-96S

Plaque 96 puits non acceptée

- Plaque à 96 puits pour culture cellulaire
- Plaque PCR à 96 puits sans jupe (*no-skirt*)
- Plaque PCR à 96 puits à jupe pleine (*full-skirt*)
- Plaque PCR à 96 puits opaques

Films adhésifs recommandés

- Film adhésif clair
Exemple: Adhesive PCR Films; Thermo Fisher Scientific, Cat#AB0558
- Film adhésif en aluminium
Exemple: Aluminum Foils for PCR and Cold Storage; VWR, Cat#60941-074

Requis

Volume et concentration des échantillons

Type d'échantillon	Option	Volume (concentration)	Température d'arrivage au laboratoire
Produit de PCR dans la formamide	1 et 4	10 µL	Congelé
Produit de PCR*	2 et 3	10 µL	Congelé
ADN génomique	5 et 6	10 µL (10 à 50 ng/µL)	Congelé

*Pour les options 2 et 3, si le volume de 10 µL n'est pas respecté pour chaque échantillon, la plaque sera rejetée automatiquement.

Il est recommandé de quantifier l'ADN par une méthode de dosage fluorimétrique de l'ADN double brin, par exemple la méthode utilisant le PicoGreen, et non par absorbance aux UV.

Il est de la responsabilité du client de fournir des échantillons de bonne qualité et en quantité suffisante.

Solutions acceptées dans les puits vides

Chaque puits vide doit avoir le même volume qu'un puits qui contient un produit de PCR en ajoutant une des solutions ci-dessous :

- Hi-Di™ formamide
- EDTA 0,2 mM
- Eau ultra pure de type 1 (eau MilliQ)
- UltraPure™ DNase/RNase-Free Distilled Water

Identification

Toutes les plaques doivent être identifiées clairement et l'identification doit correspondre exactement à ce qui est indiqué dans la [Soumission d'échantillons](#).

Requête de service et soumission des échantillons

Toute requête de service et soumission d'échantillon doivent se faire via l'interface web [Nanuq](#) en utilisant un compte d'utilisateur. Pour obtenir un compte, contacter le [Bureau de gestion des clients](#).

Le travail dans le laboratoire ne débutera qu'une fois toute la documentation soumise. Une documentation incomplète occasionnera des délais d'attente.

Requête de service

1. Ouvrir une session dans [Nanuq](#).
2. Cliquer sur « [Ajouter une nouvelle requête](#) » dans la section « Requêtes » et suivre les instructions.

L'option « nouvelle requête » ne doit pas être utilisée pour compléter une requête existante.

Ne pas utiliser le bouton « Retour » du navigateur pour revenir en arrière. Utiliser les choix de pages du menu de gauche pour naviguer dans le formulaire.

Cliquer sur « Suivant » pour passer à la page suivante de la requête.

En tout temps, il est possible de sauvegarder les informations en cliquant sur « Sauvegarder et continuer plus tard ». Les brouillons sont accessibles via l'option « [Ma liste de requêtes](#) » dans la section « Requêtes ». La requête demeure en brouillon jusqu'à ce qu'elle soit soumise. Pour modifier une requête ayant le statut de brouillon, cliquer sur « Modifier » dans le menu de gauche.

3. Cliquer sur « Soumettre » pour que la requête soit approuvée par le [Bureau de gestion des clients](#). Les requêtes non soumises ne seront pas traitées.

Soumission d'échantillons

Une fois la requête de service complète et soumise, soumettre les échantillons.

1. Ouvrir une session dans [Nanuq](#).
2. Le cas échéant, retrouver la requête via l'option « [Ma liste de requêtes](#) » et l'ouvrir.
3. Cliquer sur l'onglet « Soumission d'échantillons », puis sur « Ajouter de nouveaux échantillons ».
4. Suivre les instructions à l'écran.
 - Choisir « Génotypage » comme type de service et « Analyse de microsatellite (cartographie fine) - ABI 3730xl » comme technologie.
 - Choisir l'option désirée dans la section « Analyse de microsatellite (cartographie fine) - ABI 3730xl ».

- Cliquer sur l'onglet « Ajouter de nouveaux échantillons » pour soumettre les échantillons.
5. Vérifier que l'état de la soumission est à « Soumis » dans l'onglet « Soumission d'échantillons » dans la Requête de service.

Suivre les mêmes étapes pour ajouter de nouveaux échantillons à la requête ou pour envoyer des échantillons de remplacement.

Préparation des échantillons pour envoi

Bordereau d'expédition

À la suite de la soumission des échantillons, retourner dans l'onglet « Soumission d'échantillons », sélectionner la ou les soumission(s) d'échantillons reliée(s) à l'envoi à préparer, puis cliquer sur « Imprimer Bordereau ». Par défaut une seule copie est imprimée, cependant deux copies du bordereau d'expédition doivent être imprimées.

Préparation du colis

Il est recommandé de sceller les plaques pour le génotypage de marqueurs microsatellites avec un film adhésif en aluminium et de les protéger de la lumière (exemple : envelopper la plaque avec un papier d'aluminium). Toute exposition de la plaque à la lumière peut diminuer la qualité des résultats.

Pour les plaques pour l'identification de lignée cellulaire humaine, un film adhésif clair peut être utilisé.

Les plaques doivent être correctement scellées et être envoyées sur glace sèche.

Le colis doit contenir suffisamment de glace sèche pour que les échantillons demeurent congelés jusqu'à l'arrivée au laboratoire. Le dégel pendant le transport peut causer une perte d'adhérence du scellant, ce qui peut entraîner une perte d'échantillons et /ou une contamination croisée.

Si l'envoi contient des objets lourds qui peuvent endommager le contenu pendant le transport (ex. : blocs de glace sèche), il est recommandé de protéger les échantillons contre les impacts. Les plaques doivent être mis dans un contenant résistant au transport.

Une copie du bordereau doit accompagner les échantillons. S'assurer que la copie demeure au sec en la mettant dans un sac de plastique à fermeture à glissière (de type Ziploc).

Les échantillons devant traverser la frontière canadienne devraient être envoyés en début de semaine afin d'éviter tout risque que ceux-ci soient retardés et conservés à l'entrepôt du transporteur durant la fin de semaine. L'utilisation d'expressions claires telles que « échantillons biologiques non biohazards », « ADN purifié de [espèces] », « pour recherche seulement » et « aucune valeur commerciale » sur la facture commerciale aidera à accélérer le dédouanement.

Envoi des échantillons

L'adresse de livraison ainsi que des directives concernant l'acheminement des échantillons se trouvent sur le bordereau d'expédition.

Une copie du bordereau doit obligatoirement être en évidence à l'extérieur du colis. Elle peut être collée ou mise dans une enveloppe protectrice transparente.

Pour plus d'information

Bureau de gestion des clients

Téléphone : 514-398-7211

Courriel : infoservices@genomequebec.com

Site Internet : <https://genomequebec.com/services-technologiques/centre-dexpertise-et-de-services/>

Informations additionnelles

Transmission des résultats

Un courriel est envoyé dès que les résultats sont disponibles.

Les résultats de lecture et d'analyse, si applicable, sont directement accessibles via l'application web [Nanuq](#).

Les fichiers de données brutes, générés par le 3730xl DNA Analyzer, sont en format .fsa.