






LECTURE ET QUANTIFICATION DES PUCES

7.1 Lecture de puces

- Allumer le scan 15 minutes avant utilisation.
- Démarrer Genepix
- Disposer la puce hybridée de manière à ce que la face spottée soit vers le sol (Puces "maison" : code barre face à soi et au sol, puces agilent : code barre vers le haut et soi).
- Cliquer sur l'icône [hardware settings](#)  fenêtre qui permet de modifier les paramètres PMT et lasers.
- Définir la zone à scanner en cliquant sur [scan area](#) .
- Régler la puissance du laser : POWER 100 % et le PMT Gain sur minimum 500 pour les deux longueurs d'onde.
- Scanner en cliquant sur [data scan](#)  et arrêter le scan au bout de quelques lignes de spots en cliquant sur [stop](#) .
- Cliquer sur [measuring tool](#) et sélectionner [simple line profile](#) .
- Tracer une ligne sur quelques spots contrôles (ligne « jaune ») et vérifier alors que les graphes Cy3 et Cy5 se superposent.
 - Si ce n'est pas le cas, rescan après avoir modifié le PMT de l'un des deux fluorophores.
 - Vérifier également dans l'onglet histogram qu'il y ait moins de 0.1% de spots saturants.
- Une fois les réglages effectués, scanner la lame en utilisant [data scan](#).
- Enregistrer la lame en cliquant sur [file, save images](#) sous le format **16-bits multi-image**

TIFF files.




7.2 Quantification de puces

La quantification des puces à ADN se fait à l'aide d'un logiciel informatique : Genepix® Pro 6.0 (mis à jour régulièrement à chaque upgrade).


ANALYSE EN SINGLE


- Démarrer Genepix pro 6 (analysis only).

- Dans file  faire « open image » puis « load array list » :.gal

- Pour les puces pan-génomiques cliquez sur F8 : find array, find all blocks, align features et pour les puces miRNA placez la grille manuellement et shift F5 : align features in all blocks.

- Allez dans features mode pour flagger les traces.

- Lancez alors l'analyse 

- Dans file  sélectionner « save settings » :.gps et « save results » :.gpr

COPIE NON GÉRÉE

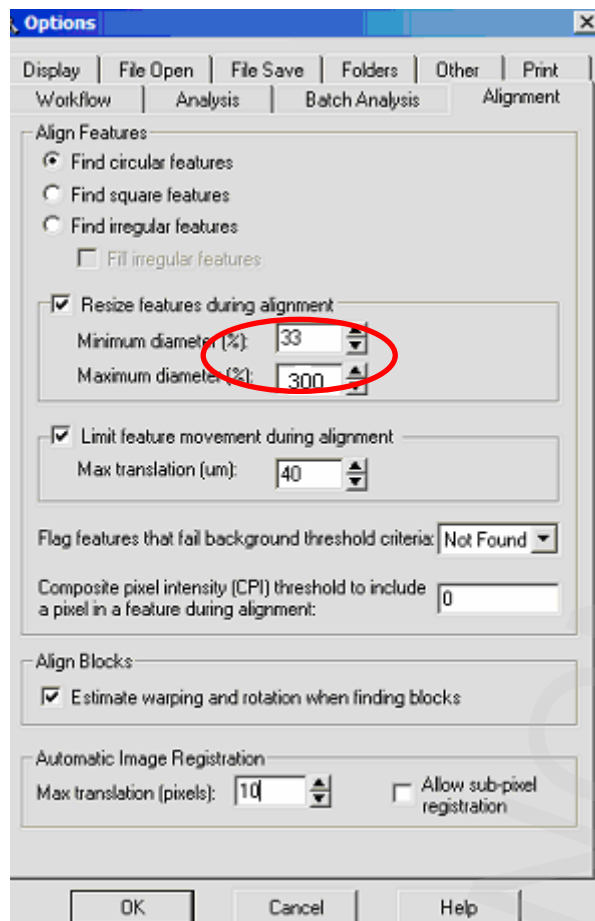


CHOIX DES OPTIONS D'ANALYSE :

- Aller dans [Options](#) (à droite de l'écran)



et sélectionner les options suivantes :



REMARQUES

Lors de la quantification penser à vérifier que les paramètres ci dessous sont définis :

- Dans [Option / Analyses](#) vérifier que [ratio formulation](#) soit bien **635/532**
- Dans [Option / Display](#) vérifier que [Color Mode](#) soit bien **Two-color Mode**
- Après enregistrement, il y a génération du fichier sous l'extension demandée (*.gpr) puis une composite (nom du fichier_R1.jpg), et les deux fluorophores séparés (nom du fichier_W1.jpg et nom du fichier_W2.jpg). Il est possible d'annuler cette génération de fichiers, dans option, onglet [file save, results files](#) désélectionner [save un JPEG image containing all analysed features](#).



DEVENIR DES PUCES

Afin de préserver les puces au maximum, il existe une petite cloche à vide près du scanner permettant de stocker les puces avant, pendant et après leur lecture.
Une fois analysées les puces sont jetées dans un carton prévu à cet effet.

7.3 Enregistrements des résultats

Une fois tous ces résultats obtenus ils sont enregistrés dans l'interface informatique Medlab (prestations plateforme) ou Mediante (collaboration scientifique). Il permet de renseigner les informations sur les échantillons hybridés (MIAME) et les données d'hybridation (onglet « Hybridation » de Medlab).

COPIE NON GÉRÉE

