 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

1. Champ d'application

Activité/méthode concernée : *extraction d'ADN*

Portée d'accréditation :

- ☐ Fixe
- ☐ FLEX1
- ☐ FLEX2
- ☒ FLEX3

2. Intitulé de méthode

Nom de la méthode : *extraction d'ADN sur billes magnétiques à partir de poils*

- ☐ Méthode manuelle
- ☒ Méthode semi-automatisée
- ☐ Méthode automatisée
- ☐ Autre méthode : à préciser

3. Elaboration du développement

3.1. Type de validation

- ☒ Adoption d'une nouvelle méthode
- ☐ Adaptation d'une méthode existante (contrainte technique, évolution technique, ...)
référence de la méthode concernée (codification du MOP) : à compléter
- ☐ Optimisation d'une méthode existante (temps, coût, ...)
référence de la méthode concernée (codification du MOP) : à compléter
- ☐ Alternative d'une méthode existante
référence de la méthode concernée (codification du MOP) : à compléter
- ☐ Traitement d'une matrice biologique non validée précédemment : à préciser


3.2. Revue de méthode

La revue de méthode s'appuie sur un référentiel :

- ☒ non
- ☐ oui : à préciser

3.3. Contexte et objectifs

Développer et routiniser une méthode de purification ADN à l'aide de billes paramagnétiques, adaptée au type de prélèvements traités au sein de la plateforme de génotypage GDScan. L'objectif étant de remplacer la méthode actuelle sur colonne de silice, au profit d'une méthode sur billes paramagnétiques pour laquelle les leviers d'optimisation sont plus importants

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

permettant de viser un meilleur rapport qualité/coût.

Objectifs:

- Parvenir à produire des extractions ADN sur matrice poils compatibles et adaptées à un traitement en génotypage haut-débit (Infinium, Illumina)
- Avoir accès à une méthode semi-automatisée afin de diminuer le risque d'erreur humaine et de viser un possible gain de temps pour l'opérateur
- Optimiser les coûts d'utilisation de cette méthode afin de réduire davantage les coûts d'extraction par la méthode actuelle sur colonne sans dégradation notable des performances à l'issue de l'opération de génotypage

3.4. Sélection de la méthode

L'actuelle méthode, sur colonne de silice induit, même avec un tarif négocié, un coût annuel élevé puisqu'actuellement, le consommable nécessaire à l'extraction a un coût unitaire de 1,73 € H.T. le point d'extraction/purification à partir de poils.


La technologie de purification par billes paramagnétiques peut apparaître de prime abord comme une technologie plus coûteuse puisqu'elle affiche un prix catalogue de l'ordre de 2,49 € H.T. le point d'extraction/purification à partir d'une matrice poils. Toutefois, cette technologie offre une souplesse d'utilisation qui nous permettrait d'optimiser ces coûts notamment en passant par réduction de la consommation de certains réactifs et, parallèlement, en négociant la tarification chez notre fournisseur.

Ainsi, nous prévoyons de réaliser un gain de 0,80 € H.T. \pm 25 % par point d'extraction en diluant ou réduisant les volumes d'utilisation de certains réactifs du kit et après négociation tarifaire.

Concernant la partie consommables plastiques annexes au kit d'extraction, nous sommes actuellement à un coût de 0,34 € H.T. par point avec la méthode d'extraction sur colonne de silice.

Avec la technologie d'extraction sur billes magnétiques nous atteindrions après négociations un coût consommables plastiques à 0,37 € H.T. par point.

Enfin, la mise en place d'une telle technologie permettrait de viser un gain de temps d'intervention du personnel puisque l'extraction de 96 échantillons serait semi-automatisée et libère donc le personnel le temps de la durée d'extraction.

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

3.5. Planification - Responsabilités

Pilote de projet : *C.Audebert*

Personnel concerné par la validation de méthode : *Assistentes Ingénieures, Personnels plateforme Genotypage*

Date d'ouverture de l'enregistrement (JJ/MM/AA) : *15/11/2022*

Responsabilité (Nom-Prénom - Fonction)	Tâche (liste non exhaustive)	Délai de réalisation	Attribuée à (Nom-Prénom - Fonction)
C.Audebert Directeur R&D	Prospection et sélection d'un achat matériel en adéquation avec la méthode visée	4 mois	S.Merlin Assistant Ingénieure Responsable achats
C.Audebert Directeur R&D	Développement d'une méthode d'extraction sur billes magnétiques à partir d'une matrice sang sur un support robotique	4 mois	S.Merlin Assistant Ingénieure Responsable achats
C.Audebert Directeur R&D	Produits d'extraction ADN compatibles avec la technologie de génotypage utilisé sur la plateforme	4 mois	S.Merlin Assistant Ingénieure Responsable achats
C.Audebert Directeur R&D	Optimisation des coûts d'utilisation afin de les réduire autant que possible	4 mois	S.Merlin Assistant Ingénieure Responsable achats

Exemples de tâches (non exhaustif) : Sélection de la méthode, Développement - définition des essais, Développement - réalisation des essais, Développement - édition et interprétation des résultats, Rédaction - gestion des enregistrements relatifs, Vérification/validation, etc...

4. Contraintes du projet

Liste non exhaustive, détailler les catégories concernées


[X] Techniques :

Modification des pratiques en place au laboratoire.

Prévoir une formation des personnels habilités à l'extraction.

[X] Équipements :

Cette technologie nécessite un investissement matériel permettant sa mise en œuvre.

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

Il conviendra de sélectionner la meilleure option afin de permettre une optimisation investissement - coût - rendement.

[] Qualité des matrices/données :

[] Quantité de matrices/données :

[X] Coût - investissement :

La technologie ciblée nécessitera d'investir dans 2 robots afin d'assurer un débit adapté au volume de prélèvements traités par la plateforme.

La technologie sur billes magnétiques est, de base, une technologie plus coûteuse que celle actuellement utilisée. Il s'agira donc d'effectuer une optimisation du processus afin de réduire les coûts dûs à l'introduction de cette nouvelle méthode voir, si possible, de descendre à un coût inférieur aux coûts de traitement avec la méthode actuelle.

[] Autre(s) :

5. Caractéristiques de la méthode et performances attendues

5.1. Principe de la méthode


La technologie est basée sur l'adsorption réversible des acides nucléiques. sur des billes paramagnétiques dans des conditions de tampon appropriées. Après la lyse du sang total, des billes paramagnétiques sont ajoutées et les conditions de liaison dans lesquelles l'ADN se lie aux billes magnétiques sont ajustées par l'ajout d'un tampon de liaison. Après séparation magnétique de leur milieu, les billes paramagnétiques sont lavées pour éliminer les contaminants et sels. Enfin, l'ADN hautement purifié est élué et peut être directement utilisé pour des applications en aval.

5.2. Domaine d'application

La présente méthode s'applique à l'ensemble des prélèvements de poils bovins reçus au sein de la plateforme de génotypage GDScan.

5.3. Matrice(s)/Données

Matrice(s) / données concernée(s)	Nature	Conditionnement / emplacement	Conservation pré-traitement
•	sang total	tube EDTA	température ambiante
•	bulbes de poils	pochette Kit GDScan	température ambiante

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

•	biopsie auriculaire = cartilage	tube avec conservateur (Allflex TSU ou TST)	température ambiante
•	semence	paillette de conservation de sperme dilué	température ambiante
•	ADN	plaques ADN (4x96 échantillons)	5°C +/- 3°C
•	métadonnées et données de géotypage	base de données / serveur	-
•	autre (à préciser) :	(à préciser)	(à préciser)

5.4. Traçabilité des échantillons

Pour chaque essai, l'ensemble des informations liées aux prélèvements (enregistrement et traçabilité) tout au long de la méthode d'extraction d'ADN doit être conservé et l'accès aux informations clairement identifié.

5.5. Paramètres


Le ou les paramètre(s) analysé(s) sont :

[X] quantitatifs (ex : concentration en ADN) : Concentration ADN > 15 ng/μl

[X] qualitatifs (ex : Call Rate) : Call Rate (intervient en fin de validation)

5.6. Critères de performance attendus

Méthode	Nombre d'échantillons	Critères de performance	Répétabilité	Reproductibilité
Extraction d'ADN	16 prélèvements (dont 8 satisfaisants au critère de concentration seront géotypés)	Pour au moins 90 % des échantillons : - [ADN] > 15 ng/μL - Call Rate > 0,95 - Médiane Call Rate > 0,975	16 mêmes prélèvements (dont 8 satisfaisants au critère de concentration seront géotypés)	16 mêmes prélèvements (dont 8 satisfaisants au critère de concentration seront géotypés)
Géotypage d'ADN	32 échantillons d'ADN	Pour au moins 90 % des échantillons :	Procédure de contrôle	Procédure de contrôle

	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

		<ul style="list-style-type: none"> - Call Rate > 0,95 pour au moins 90 % des échantillons - Médiane Call Rate > 0,975 - Prochain essai interlaboratoire validé (à posteriori) 	répétabilité GDB_PRO_05_ Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN	reproductibilité GDB_PRO_05_ Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN
Nouveau support de génotypage	2 charolais + 2 holstein déjà génotypés sur version N-1	<ul style="list-style-type: none"> - Présence 580 SNP ISO (GDB_FI_15_SNP ISO 580) - 99 % de similarité 580 SNP ISO N-1 et N (génotypes valides) 	2 mêmes charolais + 2 mêmes holstein déjà génotypés sur version N-1	2 mêmes charolais + 2 mêmes holstein déjà génotypés sur version N-1
Autre : Extraction ADN	96 prélèvements extraits et génotypés	<ul style="list-style-type: none"> Pour au moins 90 % des échantillons : - [ADN] > 15 ng/μL - Call Rate > 0,95 - Médiane Call Rate > 0,975 		

6. Essai 1

6.1. Introduction

Les travaux sont réalisés via un kit Nucleomag Tissue Macherey Nagel ref. 744300 qui serait le type de kit utilisé sur la plateforme, en routine.


Les purifications sont réalisées dans les conditions les plus proches de la réalité puisqu'effectuées sur un robot de type Magnetapure 32, or nous envisageons l'investissement robotique sur du Magnetapure 96.

Matrices supportées par le Kit: Prise d'essai de ~30 bulbes

6.2. Mode Opérateur

Pour l'ensemble de l'essai, les volumes de réactifs de lyse ont été modifiés:
PK 15 μL + T1 150 μL

L'ensemble des purifications de cet essai est réalisé sur 2x4 prélèvements de poils, la lyse

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

dure 3 h à 56 °C sous agitation à 700 rpm.

Condition 1 (control) - x4 pvt:

Les modifications apportées aux volumes de réactifs de lyse impliquent une modification en proportion du réactif de fixation (MB2).

En conséquence pour la partie BINDING:

- Récupération de 165 µL de lysat
- Ajout de 24 µL de B-Beads et 275 µL de MB2

La suite du protocole se réfère aux [recommandations fournisseur](#)

- Elution 50 µL

Condition 2 - x4 pvt:

- Lyse: 15 µL PK + 150 µL T1
- Récupération de 165 µL de lysat
- Ajout de 8 µL de B-Beads et 16 µL d'eau
- Ajout 275 µL de MB2

La suite du protocole se réfère aux recommandations fournisseur


- élution 50 µL

6.3. Points à développer (*liste non exhaustive*)

- Matériel (*type d'appareil, référence, consigne, réglage, etc...*) : MagnetaPure 32

Programmation Magnetapur 32:

```
AS154_S
NAME:NMTissuepoilsA
STEP:6
STATUS:11
TIME:2019-7-31 10:49:33
OPTION:1 1 1 1 1 1 1 0 5 1 1 1 0 1 5 1 2 0 0 5
Binding 1 5.0 120 0.0 465 5 0 0 80 0 2 0
WashMB3 2 2.0 60 0.0 600 5 0 0 80 0 5 0
WashMB4 3 2.0 60 0.0 600 5 0 0 80 0 5 0
WashMB5 4 0.0 45 0.0 900 1 0 0 80 0 2 0
```

	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

ElutioMB6 6 5.0 60 0.0 50 3 56 0 80 0 5 0
release 2 1.0 0 0.0 600 10 0 0 80 0 3 0
AS154_E

➤ Kits et réactifs : *compléter le tableau ci-dessous*

Kits et autres réactifs			
Produits / Consommables	Numéro de lot	Spécifications particulières	Stockage
Nucleomag Tissue Macherey Nagel ref. 744300	22026-001	(ex : à conserver à l'obscurité)	(préciser les conditions de stockage fournisseur)

➤ Matrices (*quantité, traçabilité échantillon, traitement, spécificités, etc...*) : L'ensemble de l'essai est réalisé sur 8 prélèvements de poils (environ 30 bulbes):


FR7923871621	GD078442
FR7923871628	GD078451
FR7923871630	GD078450
FR7923871638	GD078449
FR7923871639	GD078455
FR7923871640	GD078454
FR7923871672	GD078446
FR7923871673	GD078453

➤ Milieu : L'essai à été réalisé au sein du laboratoire de Recherche et Développement

➤ Main d'œuvre : Assistante ingénieure S. Merlin

6.4. Résultats de l'essai - Conclusion

Dosage Qubit et profil nanodrop:

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

Condition 1	Dosage (ng/μl)	A260/280 (protéines) ~1.8	A260/230 (sels chao.) >1.8	Condition 2	Dosage (ng/μl)	A260/280 (protéines) ~1.8	A260/230 (sels chao.) >1.8
1	44.8	1.90	1.38	1	59.0	1.8	1.17
2	59.0	1.95	1.57	2	49.3	1.82	1.20
3	24.0	1.79	1.21	3	72.2	1.77	1.00
4	63.4	1.84	1.22	4	81.2	1.72	1.01

Réduction des volumes d'entrées pour la lyse → Valide

Dilution des billes au 1/3 dans de l'eau → Valide

7. Essai 2

7.1. Introduction

Les travaux sont réalisés via un kit Nucleomag Tissue Macherey Nagel ref. 744300 qui serait le type de kit utilisé sur la plateforme, en routine.


Les purifications sont réalisées dans les conditions les plus proches de la réalité puisqu'effectuées sur un robot de type Magnetapure 32, or nous envisageons l'investissement robotique sur du Magnetapure 96.

Matrices supportées par le Kit: Prise d'essai de ~30 bulbes

7.2. Mode Opérateur

Condition 1 (control) - x4 pvt:

Lyse: 15 μL PK + 150 μL T1

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

Récupération de 165 µL de lysat
Ajout de 8 µL de B-Beads et 16 µL d'eau
Ajout 275 µL de MB2
La suite du protocole se réfère aux recommandations fournisseur
élution 50 µL

Condition 2 - x4 pvt:

Lyse: 15 µL PK + 150 µL T1
Récupération de 165 µL de lysat
Ajout de 8 µL de B-Beads et 16 µL d'eau
Ajout 275 µL de MB2
Lavages MB3, MB4, MB5 volumes divisés par 2
élution 50 µL

Condition 3 - x4 pvt:


Lyse: 10 µL PK + 100 µL T1
Récupération de 110 µL de lysat
Ajout de 8 µL de B-Beads et 16 µL d'eau
Ajout 195 µL de MB2
La suite du protocole se réfère aux recommandations fournisseur
élution 50 µL

7.3. Points à développer (liste non exhaustive)

- Matériel (type d'appareil, référence, consigne, réglage, etc...) : *MagnetaPure 32*

Programmation Magnetapure 32 de la condition 1

```
AS154_S
NAME:NMTissuepoilsA
STEP:6
STATUS:11
TIME:2019-7-31 10:49:33
OPTION:1 1 1 1 1 1 1 1 0 5 1 1 1 0 1 5 1 2 0 0 5
Binding 1 5.0 120 0.0 465 5 0 0 80 0 2 0
WashMB3 2 2.0 60 0.0 600 5 0 0 80 0 5 0
WashMB4 3 2.0 60 0.0 600 5 0 0 80 0 5 0
WashMB5 4 0.0 45 0.0 900 1 0 0 80 0 2 0
ElutioMB6 6 5.0 60 0.0 50 3 56 0 80 0 5 0
release 2 1.0 0 0.0 600 10 0 0 80 0 3 0
AS154_E
```

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

Programmation Magnetapure 32 de la condition 2

AS154_S

NAME:NMTissuepoilsC

STEP:6

STATUS:11

TIME:2019-7-31 10:49:33

OPTION:1 1 1 1 1 1 1 1 0 5 1 1 1 0 1 5 1 2 0 0 5

Binding 1 5.0 120 0.0 465 5 0 0 80 0 2 0

WashMB3 2 2.0 60 0.0 300 5 0 0 80 0 5 0

WashMB4 3 2.0 60 0.0 300 5 0 0 80 0 5 0

WashMB5 4 0.0 45 0.0 450 1 0 0 80 0 2 0

ElutioMB6 6 5.0 60 0.0 50 3 56 0 80 0 5 0

release 2 1.0 0 0.0 600 10 0 0 80 0 3 0

AS154_E

Programmation Magnetapure 32 de la condition 3

AS154_S

NAME:NMTissuePoilsB

STEP:6

STATUS:11

TIME:2019-7-31

10:49:33

OPTION:1 1 1 1 1 1 1 1 0 5 1 1 1 0 1 5 1 2 0 0 5

Binding 1 5.0 120 0.0 330 5 0 0 80 0 2 0

WashMB3 2 2.0 60 0.0 600 5 0 0 80 0 5 0

WashMB4 3 2.0 60 0.0 600 5 0 0 80 0 5 0

WashMB5 4 0.0 45 0.0 900 1 0 0 80 0 2 0


ElutioMB6 6 5.0 60 0.0 50 3 56 0 80 0 5 0

release 2 1.0 0 0.0 600 10 0 0 80 0 3 0

AS154_E

➤ Kits et réactifs : compléter le tableau ci-dessous

Kits et autres réactifs			
Produits / Consommables	Numéro de lot	Spécifications particulières	Stockage
Nucleomag Tissue Macherey Nagel ref. 744300	22026-001	(ex : à conserver à l'obscurité)	(préciser les conditions de stockage fournisseur)

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

- Matrices (*quantité, traçabilité échantillon, traitement, spécificités, etc...*) : L'ensemble de l'essai est réalisé sur 12 prélèvements de poils (environ 30 bulbes)


FR7923871621	GD078442
FR7923871628	GD078451
FR7923871630	GD078450
FR7923871638	GD078449
FR7923871639	GD078455
FR7923871640	GD078454
FR7923871672	GD078446
FR7923871673	GD078453
FR7923871678	GD078443
FR7923871690	GD078447
FR7923871698	GD078448
FR7923871709	GD078441

- Milieu : L'essai a été réalisé au sein du laboratoire de Recherche et Développement
- Main d'œuvre : Assistante ingénieure S. Merlin

7.4. Résultats de l'essai - Conclusion

Dosage Qubit et profil nanodrop:

Condi tion 1	Dosa ge (ng/μl)	A260/ 280 (proté ines) ~1.8	A260/ 230 (sels chao.) >1.8	Condi tion 2	Dosa ge (ng/μl)	A260/ 280 (proté ines) ~1.8	A260/ 230 (sels chao.) >1.8	Condi tion 3	Dosa ge (ng/μl)	A260/ 280 (proté ines) ~1.8	A260/ 230 (sels chao.) >1.8
1	11.8	1.77	1.29	1	42.7	1.81	1.06	1	14.3	1.78	1.23
2	28.5	1.71	0.94	2	30.9	1.71	1.02	2	13.5	1.67	1.03

	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

3	28	1.77	1.09	3	37.9	1.81	1.16	3	21.5	1.82	1.12
4	13.6	1.73	1.03	4	26.3	1.89	1.35	4	35.4	1.80	1.10

Diminution des volumes des tampons de lavages de moitié → Valide

Diminution supérieure des volumes de Tampons de lyse → Invalide

A noter: ratios A260/280 bas → Prévoir une augmentation du volume d'élution + optimisation programme

8. Essai 3

8.1. Introduction

Les travaux sont réalisés via un kit Nucleomag Tissue Macherey Nagel ref. 744300 qui serait le type de kit utilisé sur la plateforme, en routine.

Les purifications sont réalisées sur Magnetapure 96.

Matrices supportées par le Kit: Prise d'essai de ~30 bulbes

8.2. Mode Opérateur

L'ensemble des purifications de cet essai est réalisé sur 8 prélèvements de poils et sur MagnetaPure 96

Condition :

Modifications apportées au protocole fournisseur:

Lyse: PK 15 µL + Prise d'essai poils: fine mèche + **T1 150 µL**


Dilution des B-beads au 1/3 dans de l'eau

Apport de MBL2 de **275 µL**

Apport de MB3, MB4 de **300 µL**

Apport de MB5 de **450 µL**

Elution dans **60 µL** de MB6

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

8.3. Points à développer (liste non exhaustive)

- Matériel (type d'appareil, référence, consigne, réglage, etc...) : MagnetaPure 96

Programme Magnetapure 96:

AS180_S

NAME:NMPoilsC

STEP:8

STATUS:11

TIME:2022-11-18

15:31:4


OPTION:1 1 1 1 1 1 1 1 0 5 0 1 1 0 1 5 0 2
 -Load- 1 0 1 0 5 1 0 1 0 1 0 0 0 0 0 0 0
 binding 2 50 80 0 464 5 0 1 1 1 2 3 10 8 8 8 1
 MB3 3 50 80 0 300 5 0 1 1 2 2 3 5 1 1 1 1
 MB4 4 50 80 0 300 5 0 1 1 2 2 3 5 10 10 10 1
 MB5 5 0 80 0 450 1 0 1 1 2 2 3 1 1 1 1 1
 elution 8 50 80 0 60 3 56 1 1 1 2 3 60 18 1 1 1
 relargage 4 5 80 0 300 10 0 0 1 1 2 3 1 1 1 1 1
 -Unload- 1 0 1 0 5 1 0 1 1 1 0 0 1 1 1 1 1
 AS180_E

- Kits et réactifs : compléter le tableau ci-dessous

Kits et autres réactifs			
Produits / Consommables	Numéro de lot	Spécifications particulières	Stockage
Nucleomag Tissue Macherey Nagel ref. 744300	22026-001	(ex : à conserver à l'obscurité)	(préciser les conditions de stockage fournisseur)

- Matrices (quantité, traçabilité échantillon, traitement, spécificités, etc...) : L'ensemble de l'essai est réalisé sur 8 prélèvement de poils (environ 30 bulbes)

FR7923871678 GD078443
 FR7923871690 GD078447
 FR7923871698 GD078448
 FR7923871709 GD078441

	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT


FR7923871712 GD078445
FR7923871713 GD078444
FR7950301349 GD078452
FR7947451379 GD078550

- Milieu : L'essai à été réalisé au sein du laboratoire de Recherche et Développement
- Main d'œuvre : Assistante ingénieure S. Merlin

8.4. Résultats de l'essai - Conclusion

Dosage Qubit et profil nanodrop:

Condition 1	Dosage (ng/μl)	A260/280 (protéines) ~1.8	A260/230 (sels chao.) >1.8
1	44.68	1.98	1.57
2	49.16	1.94	1.56
3	54.14	1.95	1.36
4	45.34	1.95	1.54
5	46.62	2.00	1.57
6	49.94	1.94	1.57

	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

7	40.43	1.89	1.25
8	84.27	1.97	1.60

Transfert d'application sur MagnetaPure 96 → Valide

En sortie, considérant les conditions de cet essai, voici les reliquats théorique que nous obtiendrions

	pour	un	kit	24x96:
PK	→	44,6%	(achat ponctuel à prévoir)	
T1			→	65,4%
MB2	→	36,6%	(achat ponctuel à prévoir #ref. 744851.80)	
MB3			→	61,6%
MBL4			→	65,4%
MBL5	→	86,2% (élution 60µl)		

9. Essai 4

9.1. Introduction

Les travaux sont réalisés via un kit Nucleomag Tissue Macherey Nagel ref. 744300 qui serait le type de kit utilisé sur la plateforme, en routine.

Les purifications sont réalisées sur Magnetapure 96.

Matrices supportées par le Kit: Prise d'essai de ~30 bulbes

9.2. Mode Opérateur

L'ensemble des purifications de cet essai est réalisé sur 22 prélèvements de poils et sur MagnetaPure 96

Essai équivalent à l'essai n°3 avec 22 extractions issus des prélèvements suivants:

Conditions :

Modifications apportées au protocole fournisseur:

Lyse: PK 15 µL + Prise d'essai poils: fine mèche + T1 150 µL


Dilution des B-beads au 1/3 dans de l'eau

Apport de MBL2 de 275 µL

Apport de MB3, MB4 de 300 µL

Apport de MB5 de 450 µL

Elution dans 60 µL de MB6

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

9.3. Points à développer (liste non exhaustive)

- Matériel (type d'appareil, référence, consigne, réglage, etc...) : MagnetaPure 96

Programme Magnetapur 96:

AS180_S

NAME:NMPoilsC

STEP:8

STATUS:11

TIME:2022-11-18 15:31:4

OPTION:1 1 1 1 1 1 1 1 0 5 0 1 1 0 1 5 0 2

-Load- 1 0 1 0 5 1 0 1 0 1 0 0 0 0 0 0

binding 2 50 80 0 464 5 0 1 1 1 2 3 10 8 8 8 1

MB3 3 50 80 0 300 5 0 1 1 2 2 3 5 1 1 1 1

MB4 4 50 80 0 300 5 0 1 1 2 2 3 5 10 10 10 1

MB5 5 0 80 0 450 1 0 1 1 2 2 3 1 1 1 1 1

elution 8 50 80 0 60 3 56 1 1 1 2 3 60 18 1 1 1

relargage 4 5 80 0 300 10 0 0 1 1 2 3 1 1 1 1 1

-Unload- 1 0 1 0 5 1 0 1 1 1 0 0 1 1 1 1 1

AS180_E

- Kits et réactifs : compléter le tableau ci-dessous

Kits et autres réactifs			
Produits / Consommables	Numéro de lot	Spécifications particulières	Stockage
Nucleomag Tissue Macherey Nagel ref. 744300	22026-001	(ex : à conserver à l'obscurité)	(préciser les conditions de stockage fournisseur)

- Matrices (quantité, traçabilité échantillon, traitement, spécificités, etc...) : L'ensemble de l'essai est réalisé sur 22 prélèvement de poils (environ 30 bulbes)


GD078455 FR7923871639

GD078447 FR7923871690

GD078454 FR7923871640

GD078446 FR7923871672

GD078453 FR7923871673

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT


GD078451 FR7923871628
 GD078452 FR7950301349
 GD078450 FR7923871630
 GD078537 FR8571588467
 GD078449 FR7923871638
 GD078448 FR7923871698
 GD078445 FR7923871712
 GD078444 FR7923871713
 GD078538 FR7923871898
 GD078443 FR7923871678
 GD078442 FR7923871621
 GD078441 FR7923871709
 GD078426 FR8571588619
 GD078539 FR7923871870
 GD078540 FR7923871838
 GD078542 FR7947451493
 GD078544 FR7947451490

- Milieu : L'essai a été réalisé au sein du laboratoire de Recherche et Développement
- Main d'oeuvre : Assistante ingénieure S. Merlin

9.4. Résultats de l'essai - Conclusion

Profil nanodrop:


	260/280	260/230		260/280	260/230
1	1.92	1.43	12	1.85	1.34
2	1.94	1.50	13	1.90	1.30
3	1.9	1.33	14	1.95	1.42

	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

4	1.91	1.34	15	1.93	1.41
5	1.94	1.42	16	1.89	1.35
6	1.64	1.45	17	1.92	1.40
7	1.97	1.52	18	1.96	1.54
8	1.98	1.54	19	1.93	1.44
9	1.95	1.48	20	1.96	1.49
10	1.91	1.33	21	1.87	1.30
11	1.96	1.51	22	1.95	1.44

Dosage Picogreen:

	1	2	3
A	47.22	51.26	57.60
B	55.72	43.91	59.34
C	47.60	55.63	46.41

	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

D	39.10	25.51	58.56
E	30.26	38.08	53.56
F	56.57	47.24	47.32
G	49.37	46.04	
H	47.06	51.02	

Genotypage sur 4 extractions:


Génotypages réalisés sur les individus:

Individu	Call Rate
GD078537	0,9992635
GD078449	0,999297
GD078448	0,9993472
GD078445	0,9984266

10. Essai 5

10.1. Introduction

Les travaux sont réalisés via un kit Nucleomag Tissue Macherey Nagel ref. 744300

	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

Les purifications sont réalisées sur Magnetapure 96.
Matrices supportées par le Kit: Prise d'essai de ~30 bulbes

10.2. Mode Opérateur

Conditions :

Modifications apportées au protocole fournisseur:

Lyse: PK 15 µL + Prise d'essai poils: fine mèche + T1 150 µL

Dilution des B-beads au 1/3 dans de l'eau

Apport de MBL2 de 275 µL

Apport de MB3, MB4 de 30 µL

Apport de MB5 de 450 µL

Elution dans 60 µL de MB6

10.3. Points à développer (liste non exhaustive)

- Matériel (type d'appareil, référence, consigne, réglage, etc...) : MagnetaPure 96

Programme Magnetapur 96:

AS180_S

NAME:NMPoilsC

STEP:8

STATUS:11

TIME:2022-11-18 15:31:4

OPTION:1 1 1 1 1 1 1 1 0 5 0 1 1 0 1 5 0 2

-Load- 1 0 1 0 5 1 0 1 0 1 0 0 0 0 0 0 0

binding 2 50 80 0 464 5 0 1 1 1 2 3 10 8 8 8 1

MB3 3 50 80 0 300 5 0 1 1 2 2 3 5 1 1 1 1

MB4 4 50 80 0 300 5 0 1 1 2 2 3 5 10 10 10 1

MB5 5 0 80 0 450 1 0 1 1 2 2 3 1 1 1 1 1

elution 8 50 80 0 60 3 56 1 1 1 2 3 60 18 1 1 1


relargage 4 5 80 0 300 10 0 0 1 1 2 3 1 1 1 1 1

-Unload- 1 0 1 0 5 1 0 1 1 1 0 0 1 1 1 1 1

AS180_E

- Kits et réactifs : compléter le tableau ci-dessous


Kits et autres réactifs

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT


Produits / Consommables	Numéro de lot	Spécifications particulières	Stockage
Nucleomag Tissue Macherey Nagel ref. 744300		(ex : à conserver à l'obscurité)	(préciser les conditions de stockage fournisseur)

- Matrices (*quantité, traçabilité échantillon, traitement, spécificités, etc...*) : L'ensemble des purifications de cet essai est réalisé sur 96 prélèvements de poils (environ 30 bulbes)


ID	CODE BARRE	SEXE	RACE	TYPE MAT BIOLO	date reception Labo Douai	Plaque ADN	Position ADN	Date extraction
FR8531190924	GD475781	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	A01	17/01/2023
FR8531190925	GD475782	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	B01	17/01/2023
FR8531190926	GD475783	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	C01	17/01/2023
FR8531190927	GD475784	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	D01	17/01/2023
FR8531190928	GD475785	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	E01	17/01/2023
FR8531190930	GD475786	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	F01	17/01/2023
FR8531190932	GD475787	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	G01	17/01/2023
FR8531190933	GD475788	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	H01	17/01/2023
FR8529672359	GD475745	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	A02	17/01/2023
FR8557624131	GD475730	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	B02	17/01/2023
FR8557624132	GD475731	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	C02	17/01/2023
FR8557624133	GD475732	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	D02	17/01/2023
FR8557624134	GD475733	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	E02	17/01/2023
FR8557624135	GD475734	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	F02	17/01/2023
FR8557624136	GD475735	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	G02	17/01/2023
FR8557624137	GD475736	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	H02	17/01/2023
FR8557624138	GD475737	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	A03	17/01/2023
FR8557624139	GD475738	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	B03	17/01/2023

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

FR8557624140	GD475739	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	C03	17/01/2023
FR8557624141	GD475740	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	D03	17/01/2023
FR8546135626	GD437276	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	E03	17/01/2023
FR8546135631	GD437277	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	F03	17/01/2023
FR8557624142	GD475741	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	G03	17/01/2023
FR8557624143	GD475742	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	H03	17/01/2023
FR8557624121	GD475720	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	A04	17/01/2023
FR8557624122	GD475721	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	B04	17/01/2023
FR8557624123	GD475722	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	C04	17/01/2023
FR8557624124	GD475723	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	D04	17/01/2023
FR8557624125	GD475724	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	E04	17/01/2023
FR8557624126	GD475725	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	F04	17/01/2023
FR8557624127	GD475726	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	G04	17/01/2023
FR8531190909	GD475772	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	H04	17/01/2023
FR8531190910	GD475773	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	A05	17/01/2023
FR8531190913	GD475774	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	B05	17/01/2023
FR8531190914	GD475775	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	C05	17/01/2023
FR8531190915	GD475776	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	D05	17/01/2023
FR8531190916	GD475777	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	E05	17/01/2023
FR8531190920	GD475778	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	F05	17/01/2023
FR8531190921	GD475779	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	G05	17/01/2023
FR8531190922	GD475780	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	H05	17/01/2023
FR8546135635	GD437280	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	A06	17/01/2023
FR8546135636	GD437281	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	B06	17/01/2023
FR8546135641	GD437282	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	C06	17/01/2023
FR8546135643	GD437283	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	D06	17/01/2023
FR8546135647	GD437284	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	E06	17/01/2023
FR8546135648	GD437285	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	F06	17/01/2023


 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

FR8546135649	GD437286	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	G06	17/01/2023
FR8546135650	GD437287	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	H06	17/01/2023
FR8546135651	GD437288	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	A07	17/01/2023
FR8546135657	GD437289	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	B07	17/01/2023
FR8546135659	GD437290	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	C07	17/01/2023
FR8546135660	GD437291	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	D07	17/01/2023
FR8546135661	GD437292	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	E07	17/01/2023
FR8546135662	GD437293	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	F07	17/01/2023
FR8546135668	GD437294	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	G07	17/01/2023
FR8546135670	GD437295	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	H07	17/01/2023
FR8522234554	GD475842	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	A08	17/01/2023
FR8557624128	GD475727	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	B08	17/01/2023
FR8557624129	GD475728	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	C08	17/01/2023
FR8557624130	GD475729	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	D08	17/01/2023
FR8546135634	GD437279	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	E08	17/01/2023
FR8546135633	GD437278	2	38	Poil	16/01/2023	SAM230149	F08	17/01/2023
FR8537685576	GD475834	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	G08	17/01/2023
FR8537685577	GD475835	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	H08	17/01/2023
FR8537685578	GD475836	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	A09	17/01/2023
FR8537685579	GD475837	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	B09	17/01/2023
FR8537685580	GD475838	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	C09	17/01/2023
FR8537685582	GD475839	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	D09	17/01/2023
FR8537685583	GD475840	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	E09	17/01/2023
FR8537685584	GD475841	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	F09	17/01/2023
FR8537685566	GD475825	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	G09	17/01/2023
FR8537685567	GD475826	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	H09	17/01/2023
FR8537685568	GD475827	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	A10	17/01/2023
FR8537685572	GD475830	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	B10	17/01/2023

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

FR8537685573	GD475831	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	C10	17/01/2023
FR8537685556	GD475816	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	D10	17/01/2023
FR8537685557	GD475817	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	E10	17/01/2023
FR8537685558	GD475818	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	F10	17/01/2023
FR8537685559	GD475819	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	G10	17/01/2023
FR8537685571	GD475829	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	H10	17/01/2023
FR8537685574	GD475832	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	A11	17/01/2023
FR8537685575	GD475833	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	B11	17/01/2023
FR8537685565	GD475824	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	C11	17/01/2023
FR8537685563	GD475823	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	D11	17/01/2023
FR8537685562	GD475822	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	E11	17/01/2023
FR8537685561	GD475821	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	F11	17/01/2023
FR8537685570	GD475828	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	G11	17/01/2023
FR8537685560	GD475820	2	66	Poil	16/01/2023	SAM230149	H11	17/01/2023
LV018545415978	GD238074	2	38	Poil	17/01/2023	SAM230149	A12	17/01/2023
LV018545415981	GD238078	2	38	Poil	17/01/2023	SAM230149	B12	17/01/2023
LV018545415983	GD238069	2	38	Poil	17/01/2023	SAM230149	C12	17/01/2023
LV018545415995	GD238079	2	38	Poil	17/01/2023	SAM230149	D12	17/01/2023
LV018545415998	GD238073	2	38	Poil	17/01/2023	SAM230149	E12	17/01/2023
LV018545416000	GD238070	2	38	Poil	17/01/2023	SAM230149	F12	17/01/2023
LV018545416005	GD238075	2	38	Poil	17/01/2023	SAM230149	G12	17/01/2023
FR8553511417	GD475761	2	66	Poil	17/01/2023	SAM230149	H12	17/01/2023

- L'essai a été réalisé au sein du laboratoire de production GD Scan
- Main d'œuvre : Personnels plateforme génotypage, Assistante ingénieure S. Martel et S. Merlin

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

TISSUE_230117-01			
	DATE	OPERATEUR	
Création plaque prélèvements	17/01/2023	MA	
Scan des CAB	17/01/2023	MA	
Check Galaxy	17/01/2023	MA	
Préparation des prélèvements	17/01/2023	MICH	N° lot / Référence
Extraction	20/01/2023	MICH	22008-001(M)
Création plaque SAM	20/01/2023	MICH	SAM230149

10.4. Résultats de l'essai - Conclusion


Dosage Picogreen:

Concentration calculée (ng/μL)												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	20,78	23,74	20,45	12,65	15,94	17,03	44,48	27,99	31,48	21,09	26,35	34,90
B	13,54	39,29	33,90	30,25	15,46	19,62	26,79	14,11	27,41	27,21	22,61	45,12
C	34,42	28,03	26,79	30,17	35,33	17,07	18,23	20,25	27,65	19,19	30,86	19,84
D	30,26	15,07	9,25	21,28	26,52	14,80	16,60	17,28	12,97	19,82	17,57	9,67
E	16,07	33,20	20,02	31,76	34,98	15,07	31,07	34,01	22,36	28,57	25,42	34,04
F	29,15	21,48	22,78	17,55	21,04	27,19	23,31	14,89	16,89	18,46	52,57	16,32
G	27,52	33,62	22,07	18,42	17,44	15,98	28,53	16,09	35,24	27,77	33,77	26,10
H	21,77	35,00	17,61	25,79	17,31	35,83	33,27	36,11	20,79	29,91	16,32	52,07


-> réf fichier dosage \GD_Labo\projets labo\DNA Banking\SAM\Dosage ADN -> fichier Excel
DOSAGE BLOOD MAGNE SAM230149

Call Rate:


ID	CODE BARRE	ID GENOTYPAGE	Date debut genotypage	Date de Scan	Call Rate	Callrate 580 Iso
FR8531190924	GD475781	WG6984824-MSA7_A01	23/01/2023	24/01/2023	0,9960497	0,998276
FR8531190925	GD475782	WG6984824-MSA7_B01	23/01/2023	24/01/2023	0,9968699	0,998276
FR8531190926	GD475783	WG6984824-MSA7_C01	23/01/2023	24/01/2023	0,9988115	0,998276
FR8531190927	GD475784	WG6984824-MSA7_D01	23/01/2023	24/01/2023	0,9990627	0,998276
FR8531190928	GD475785	WG6984824-MSA7_E01	23/01/2023	24/01/2023	0,9977235	0,998276
FR8531190930	GD475786	WG6984824-MSA7_F01	23/01/2023	24/01/2023	0,9991965	1
FR8531190932	GD475787	WG6984824-MSA7_G01	23/01/2023	24/01/2023	0,9991798	1
FR8531190933	GD475788	WG6984824-MSA7_H01	23/01/2023	24/01/2023	0,9972883	0,998276

	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT


FR8529672359	GD475745	WG6984824-MSA7_A02	23/01/2023	24/01/2023	0,9840983	0,991379
FR8557624131	GD475730	WG6984824-MSA7_B02	23/01/2023	24/01/2023	0,9981588	0,996552
FR8557624132	GD475731	WG6984824-MSA7_C02	23/01/2023	24/01/2023	0,9978575	1
FR8557624133	GD475732	WG6984824-MSA7_D02	23/01/2023	24/01/2023	0,9958823	0,994828
FR8557624134	GD475733	WG6984824-MSA7_E02	23/01/2023	24/01/2023	0,9923002	0,994828
FR8557624135	GD475734	WG6984824-MSA7_F02	23/01/2023	24/01/2023	0,9976064	0,998276
FR8557624136	GD475735	WG6984824-MSA7_G02	23/01/2023	24/01/2023	0,9900907	0,993103
FR8557624137	GD475736	WG6984824-MSA7_H02	23/01/2023	24/01/2023	0,994878	0,996552
FR8557624138	GD475737	WG6984824-MSA7_A03	23/01/2023	24/01/2023	0,9854039	0,989655
FR8557624139	GD475738	WG6984824-MSA7_B03	23/01/2023	24/01/2023	0,9968029	0,996552
FR8557624140	GD475739	WG6984824-MSA7_C03	23/01/2023	24/01/2023	0,9964514	0,993103
FR8557624141	GD475740	WG6984824-MSA7_D03	23/01/2023	24/01/2023	0,9188008	0,937931
FR8546135626	GD437276	WG6984824-MSA7_E03	23/01/2023	24/01/2023	0,9957818	0,994828
FR8546135631	GD437277	WG6984824-MSA7_F03	23/01/2023	24/01/2023	0,9975394	1
FR8557624142	GD475741	WG6984824-MSA7_G03	23/01/2023	24/01/2023	0,9806501	0,982759
FR8557624143	GD475742	WG6984824-MSA7_H03	23/01/2023	24/01/2023	0,994426	0,994828
FR8557624121	GD475720	WG6984824-MSA7_A04	23/01/2023	24/01/2023	0,9023467	0,918966
FR8557624122	GD475721	WG6984824-MSA7_B04	23/01/2023	24/01/2023	0,988601	0,989655
FR8557624123	GD475722	WG6984824-MSA7_C04	23/01/2023	24/01/2023	0,9972047	0,996552
FR8557624124	GD475723	WG6984824-MSA7_D04	23/01/2023	24/01/2023	0,995196	0,987931
FR8557624125	GD475724	WG6984824-MSA7_E04	23/01/2023	24/01/2023	0,9967192	0,993103
FR8557624126	GD475725	WG6984824-MSA7_F04	23/01/2023	24/01/2023	0,9939406	0,996552
FR8557624127	GD475726	WG6984824-MSA7_G04	23/01/2023	24/01/2023	0,9885675	0,991379
FR8531190909	GD475772	WG6984824-MSA7_H04	23/01/2023	24/01/2023	0,9964012	0,996552
FR8531190910	GD475773	WG6984824-MSA7_A05	23/01/2023	24/01/2023	0,9950789	0,994828
FR8531190913	GD475774	WG6984824-MSA7_B05	23/01/2023	24/01/2023	0,9977403	1
FR8531190914	GD475775	WG6984824-MSA7_C05	23/01/2023	24/01/2023	0,9972716	0,998276
FR8531190915	GD475776	WG6984824-MSA7_D05	23/01/2023	24/01/2023	0,9985772	0,998276

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

FR8531190916	GD475777	WG6984824-MSA7_E05	23/01/2023	24/01/2023	0,9988115	1
FR8531190920	GD475778	WG6984824-MSA7_F05	23/01/2023	24/01/2023	0,9939238	0,998276
FR8531190921	GD475779	WG6984824-MSA7_G05	23/01/2023	24/01/2023	0,9814368	0,996552
FR8531190922	GD475780	WG6984824-MSA7_H05	23/01/2023	24/01/2023	0,9930869	0,996552
FR8546135635	GD437280	WG6984824-MSA7_A06	23/01/2023	24/01/2023	0,989689	0,991379
FR8546135636	GD437281	WG6984824-MSA7_B06	23/01/2023	24/01/2023	0,9946939	0,996552
FR8546135641	GD437282	WG6984824-MSA7_C06	23/01/2023	24/01/2023	0,9921161	0,994828
FR8546135643	GD437283	WG6984824-MSA7_D06	23/01/2023	24/01/2023	0,9928359	0,991379
FR8546135647	GD437284	WG6984824-MSA7_E06	23/01/2023	24/01/2023	0,9972381	0,996552
FR8546135648	GD437285	WG6984824-MSA7_F06	23/01/2023	24/01/2023	0,994493	0,994828
FR8546135649	GD437286	WG6984824-MSA7_G06	23/01/2023	24/01/2023	0,9949282	1
FR8546135650	GD437287	WG6984824-MSA7_H06	23/01/2023	24/01/2023	0,9979244	0,996552
FR8546135651	GD437288	WG6984824-MSA7_A07	23/01/2023	24/01/2023	0,9960497	0,993103
FR8546135657	GD437289	WG6984824-MSA7_B07	23/01/2023	24/01/2023	0,994811	0,996552
FR8546135659	GD437290	WG6984824-MSA7_C07	23/01/2023	24/01/2023	0,9938569	0,994828
FR8546135660	GD437291	WG6984824-MSA7_D07	23/01/2023	24/01/2023	0,992953	0,994828
FR8546135661	GD437292	WG6984824-MSA7_E07	23/01/2023	24/01/2023	0,9865254	0,986207
FR8546135662	GD437293	WG6984824-MSA7_F07	23/01/2023	24/01/2023	0,9921328	0,991379
FR8546135668	GD437294	WG6984824-MSA7_G07	23/01/2023	24/01/2023	0,9871113	0,994828
FR8546135670	GD437295	WG6984824-MSA7_H07	23/01/2023	24/01/2023	0,9970372	0,998276
FR8522234554	GD475842	WG6984824-MSA7_A08	23/01/2023	24/01/2023	0,9880654	0,987931
FR8557624128	GD475727	WG6984824-MSA7_B08	23/01/2023	24/01/2023	0,9968197	0,993103
FR8557624129	GD475728	WG6984824-MSA7_C08	23/01/2023	24/01/2023	0,9965351	0,994828
FR8557624130	GD475729	WG6984824-MSA7_D08	23/01/2023	24/01/2023	0,9762646	0,984483
FR8546135634	GD437279	WG6984824-MSA7_E08	23/01/2023	24/01/2023	0,9961668	0,994828
FR8546135633	GD437278	WG6984824-MSA7_F08	23/01/2023	24/01/2023	0,9952964	0,994828
FR8537685576	GD475834	WG6984824-MSA7_G08	23/01/2023	24/01/2023	0,996284	0,998276
FR8537685577	GD475835	WG6984824-MSA7_H08	23/01/2023	24/01/2023	0,9979077	1

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

FR8537685578	GD475836	WG6984824-MSA7_A09	23/01/2023	24/01/2023	0,9974223	0,996552
FR8537685579	GD475837	WG6984824-MSA7_B09	23/01/2023	24/01/2023	0,998845	0,998276
FR8537685580	GD475838	WG6984824-MSA7_C09	23/01/2023	24/01/2023	0,9952295	0,998276
FR8537685582	GD475839	WG6984824-MSA7_D09	23/01/2023	24/01/2023	0,9345854	0,924138
FR8537685583	GD475840	WG6984824-MSA7_E09	23/01/2023	24/01/2023	0,998527	0,998276
FR8537685584	GD475841	WG6984824-MSA7_F09	23/01/2023	24/01/2023	0,9963008	1
FR8537685566	GD475825	WG6984824-MSA7_G09	23/01/2023	24/01/2023	0,9676107	0,97931
FR8537685567	GD475826	WG6984824-MSA7_H09	23/01/2023	24/01/2023	0,996987	1
FR8537685568	GD475827	WG6984824-MSA7_A10	23/01/2023	24/01/2023	0,9963844	0,998276
FR8537685572	GD475830	WG6984824-MSA7_B10	23/01/2023	24/01/2023	0,997506	0,994828
FR8537685573	GD475831	WG6984824-MSA7_C10	23/01/2023	24/01/2023	0,9976064	0,998276
FR8537685556	GD475816	WG6984824-MSA7_D10	23/01/2023	24/01/2023	0,9674098	0,974138
FR8537685557	GD475817	WG6984824-MSA7_E10	23/01/2023	24/01/2023	0,9954805	0,998276
FR8537685558	GD475818	WG6984824-MSA7_F10	23/01/2023	24/01/2023	0,9974725	0,996552
FR8537685559	GD475819	WG6984824-MSA7_G10	23/01/2023	24/01/2023	0,9925513	0,994828
FR8537685571	GD475829	WG6984824-MSA7_H10	23/01/2023	24/01/2023	0,9753774	0,981034
FR8537685574	GD475832	WG6984824-MSA7_A11	23/01/2023	24/01/2023	0,9965686	0,998276
FR8537685575	GD475833	WG6984824-MSA7_B11	23/01/2023	24/01/2023	0,9981755	0,998276
FR8537685565	GD475824	WG6984824-MSA7_C11	23/01/2023	24/01/2023	0,9946436	0,993103
FR8537685563	GD475823	WG6984824-MSA7_D11	23/01/2023	24/01/2023	0,9911955	0,989655
FR8537685562	GD475822	WG6984824-MSA7_E11	23/01/2023	24/01/2023	0,9981253	0,996552
FR8537685561	GD475821	WG6984824-MSA7_F11	23/01/2023	24/01/2023	0,9990793	1
FR8537685570	GD475828	WG6984824-MSA7_G11	23/01/2023	24/01/2023	0,9866259	0,987931
FR8537685560	GD475820	WG6984824-MSA7_H11	23/01/2023	24/01/2023	0,9946771	1
LV018545415978	GD238074	WG6984824-MSA7_A12	23/01/2023	24/01/2023	0,9850357	0,991379
LV018545415981	GD238078	WG6984824-MSA7_B12	23/01/2023	24/01/2023	0,9975394	0,996552
LV018545415983	GD238069	WG6984824-MSA7_C12	23/01/2023	24/01/2023	0,9976231	0,998276
LV018545415995	GD238079	WG6984824-MSA7_D12	23/01/2023	24/01/2023	0,9962171	0,994828

	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

LV018545415998	GD238073	WG6984824-MSA7_E12	23/01/2023	24/01/2023	0,9983261	0,998276
LV018545416000	GD238070	WG6984824-MSA7_F12	23/01/2023	24/01/2023	0,9979746	0,998276
LV018545416005	GD238075	WG6984824-MSA7_G12	23/01/2023	24/01/2023	0,9968699	1
FR8553511417	GD475761	WG6984824-MSA7_H12	23/01/2023	24/01/2023	0,9990961	1

11. Analyse

11.1. Facteurs de risques

Matériel : panne, casse de la tête aimantée

Matière : prélèvements de poils de mauvaise qualité

Méthode : RAS

Milieu : coupure de courant

Main d'œuvre : non respect des modes opératoires, mauvaise gestion/conservation de réactifs, utilisation d'un mauvais programme.

11.2. Incertitudes

La notion d'incertitude ne s'applique qu'à la seule méthode de dosage de la concentration d'ADN. A l'issue du dosage, l'incertitude de mesure, qui dépend directement du coefficient de détermination r^2 associé à la réalisation de la gamme étalon, est vérifiée. Nous avons fixé un seuil d'écart toléré à 0,99, ainsi r^2 doit être supérieur à 0,99 afin de valider la mesure, ce qui est le cas dans notre essai.

11.3. Robustesse


Non vérifiée

11.4. Conclusion

La méthode d'extraction d'ADN par billes paramagnétiques à partir de poils, répond aux critères de performance attendus et met en évidence l'obtention de résultats qualitativement satisfaisants.

Comme envisagé, nous parvenons à atteindre une réduction conséquente des coûts engendrés par rapport à la méthode d'extraction sur colonne de silice. En tenant compte:

- D'une primo négociation sur le tarif de billes magnétiques (remise consentie de 27 %)
- De la mise au point d'un protocole permettant une diminution significative de la consommation des réactifs.
- D'une charge portée par les réactifs actuels (membrane de silice) de 1,73 € H.T. par

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT


point contre : 0,88 € H.T. sur billes paramagnétiques (incluant l'achat de 2 réactifs complémentaires).

Estimation coût plastique:

Extraction sur colonne de silice: plaque de lyse 0,034 €, pointes 0,08 €, plaque élution/caps 0,23 € soit 0,34 € par point

Extraction par billes magnétiques: biotubes 0,08 €, deepwell 0,16 €, peigne 0,028 €, pointes 0,073 €, plaque élution 0,023 €, film autocollant 0,003 € soit 0,37 € par point

Au final, le gain financier apporté par ce changement de méthode d'extraction s'élève à 0,82 € H.T. par point d'extraction, ce gain est très légèrement supérieur à l'objectif fixé à 0,80 € H.T. ce qui valide l'opération.

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

12. Sélection, vérification et validation de méthode

Partie réservée au Directeur Recherche et Développement

Référence du présent enregistrement de validation de méthode :

GDB_FORM_53_Validation de méthode_Extraction d'ADN sur billes magnétiques à partir de poils_221115_01_v1.0

Intitulé de la méthode : *Extraction d'ADN sur billes magnétiques à partir de poils*

Référence de l'essai sélectionné : *Essai 5*

Vérification de la méthode :

☒ **approuvée** (enregistrements produits suffisants - critères de performance atteints et conformes aux exigences du client)

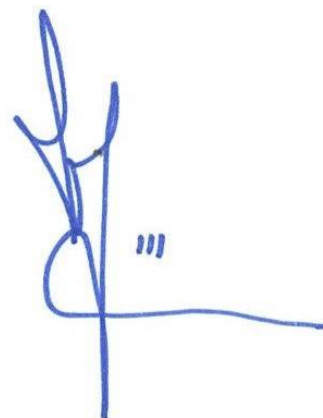
☐ **non approuvée**

Signature Directeur Recherche et Développement :

Nom : Christophe AUDEBERT

Date : 27/01/2023

Visa :




Validation de la méthode :

Conditions

Domaine d'application : *extraction d'ADN*

Ressources humaines :

- *personnel autorisé : personnel de la plateforme GD Scan habilité à l'extraction d'ADN sous condition de formation*
- *personnel formateur : Sophie Merlin*
- *personnel à former/habiller : personnel de la plateforme GD Scan habilité à l'extraction*

 GD Biotech <small>AGRI-AGRO SOLUTIONS</small>	Validation de méthode	Version 1.0
GDB_FORM_53	SMQ	07/02/2023
Rédaction : L. LIETAR	Vérification : K. LE ROUX, P. BOUVELLE	Approbation : C. AUDEBERT

d'ADN

- autre : à préciser

Autres conditions : *Information au client*

Aptitude à l'emploi :

☒ **accordée**, mise en application à compter du : 27/01/2023

☐ **non accordée**, commentaires :

Signature Directeur Recherche et Développement :

Nom : Christophe AUDEBERT

Date : 27/01/2023

Visa :

