 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Génotypage	Version 2.2
GDB_MOP_09	Génotypage	19/09/2024
Rédaction : M. MERBAH	Vérification : M. BARBET	Approbation : M.MERBAH

Ce protocole s'adresse au personnel habilité à génotyper selon la méthode Illumina.

Mode opératoire

1) au préalable


- a) **préparation du NaOH 0,1N filtré** : dans une fiole de 100 mL, peser **400 mg de NaOH** (= 2 *pastilles*) et compléter avec de l'eau ultrapure en bouteille qsp **100 mL**, puis **filtrer** le mélange après dissolution à l'aide d'une **seringue 50 mL et d'un filtre de 0,2 µm** directement dans une bouteille en verre de 100 mL autoclavée annotée + date de préparation. Stocker la bouteille à 4°C (GDD-FRIG-005)
- b) **préparation de la formamide 95 % + EDTA 1 mM** : pour une préparation de 200 mL (= 50 tubes Falcon de 15 mL x 4 mL), dans un erlenmeyer pipeter :
 - 191 mL de formamide à 99,5 %
 - 400 µL d'EDTA à 0,5 M
 - 8,6 mL d'eau ultrapure en bouteille
 Mélanger et répartir 4 mL dans 50 tubes Falcon de 15 mL annotés. Stocker les tubes à -20°C (GDD-CONG-009) sur le portoir dédié (date de préparation à préciser)
- c) **compléter le formulaire** de suivi [GDB_FORM_16_Génotypage Infinium Illumina - Tracking form](#), à l'aide d'un téléphone portable de laboratoire et de sa douchette associée (dates, heures, manipulateurs, informations, références, numéros de lots), à chaque étape, tout au long du run, en veillant à valider le run 1 avant le run 2 en cas de double run

Liens url et QR code vers le formulaire :
<https://forms.office.com/e/wALhuwfWfX>



Remarque : attention, les réponses au formulaire collectées ne sont pas modifiables.

2) JOUR 1 : amplification ADN - préparation de la paillasse

	Génotypage	Version 2.2
GDB_MOP_09	Génotypage	19/09/2024
Rédaction : M. MERBAH	Vérification : M. BARBET	Approbation : M.MERBAH


- a) l'étape d'amplification se déroule en salle pré-PCR génotypage
- b) se munir de la fiche plastifiée "Illumina - Infinium XT - ST Manual Workflow Checklist", protocole avec cases à cocher permettant le suivi de l'avancée du run
- c) allumer le four, le régler à **37°C** (calibrage précisé sur appareil) et activer la **rotation**. Un four peut contenir 4 plaques
- d) les réactifs MA1, MA2, RAM et RA1 sont stockés à **-20°C** (GDD-CONG-009). Sortir **4 tubes de MA1, MA2 et RAM** (en salle pré-PCR génotypage), ainsi qu'une bouteille de **RA1** (en salle post-PCR génotypage) et les laisser décongeler à température ambiante
- e) sortir les plaques SAM à génotyper (stockées à **4°C**, GDD-FRIG-005) et le NaOH 0,1N, et les laisser revenir à température ambiante. Centrifuger **1 minute à 280 x g** les plaques SAM. Les placer sur la paillasse dans l'ordre de traitement (la plaque contenant les contrôles qualité (QC) en dernière position s'il y en a une)
- f) sortir la plaque SAM de la semaine précédente contenant les QC répétabilité et reproductibilité, et la laisser décongeler à température ambiante
- g) préparer **4 plaques de génotypage MIDI** et **4 tapis de bouchons** disposés dessus. **Numéroter les plaques de 1 à 4** et coller une **étiquette MSA7** sur l'avant de la plaque dans l'ordre croissant (les étiquettes sont fournies dans les kits pré-PCR Illumina)

3) JOUR 1 : amplification ADN

- a) dispenser dans le fond des puits de chaque plaque MSA7 **20 µL de MA1** (préparation ADN), couvrir la plaque avec le tapis de bouchons sans la sceller
- b) transférer **4 µL d'ADN** dans le fond des puits de chaque plaque correspondante, couvrir la plaque avec le tapis de bouchons sans la sceller

Remarque : pour la plaque contenant les QC, 4 µL d'ADN de A08 sera transféré en A08 ainsi qu'en B08 (répétabilité), puis 4 µL d'ADN de A08 de la plaque de la semaine précédente contenant les QC sera transféré en C08 (reproductibilité)

- c) dispenser **4 µL de NaOH** (dénaturation ADN) dans le fond des puits de 2 plaques et les sceller avec le tapis de bouchons

	Génotypage	Version 2.2
GDB_MOP_09	Génotypage	19/09/2024
Rédaction : M. MERBAH	Vérification : M. BARBET	Approbation : M.MERBAH

d) vortexer **1 min à 1600 rpm** et déclencher le **timer pour 10 minutes d'incubation à température ambiante**

e) réitérer les étapes c) et d) pour les 2 plaques restantes

f) centrifuger les 4 plaques **1 minute à 280 x g**

Remarque : ne pas laisser le NaOH agir plus de 15 minutes (altération de l'ADN)

g) dispenser **35 µL de MA2** (neutralisation NaOH) dans chaque plaque à l'issue des 10 minutes d'incubation, couvrir la plaque avec le tapis de bouchons sans la sceller

h) dispenser **35 µL de RAM** (mix amplification) dans chaque plaque et les sceller avec le tapis de bouchons

i) vortexer **1 min à 1600 rpm** et centrifuger **1 minute à 280 x g**

j) incuber les 4 plaques dans le **four à 37°C** pour **3 heures** minimum, jusqu'à 24 heures maximum

k) stocker les plaques SAM dans le congélateur GDD-CONG-002 ou GDD-CONG-003 (couloir de la plateforme de génotypage haut-débit) selon la place disponible et dans l'ordre de la plus ancienne vers la plus récente, et renseigner la fiche de stockage présente sur le congélateur [GDB_FORM_22_Stockage d'ADN congelé](#).

4) JOUR 1 : fragmentation ADN - préparation de la paillasse

a) l'étape de fragmentation, ainsi que toutes les suivantes, se déroulent en salle post-PCR génotypage

b) le réactif FMS est stocké à **-20°C** (GDD-CONG-009). Sortir **4 tubes de FMS** et les laisser décongeler à température ambiante

c) allumer les **incubateurs à microplaque** et régler la température sur **37°C**


5) JOUR 1 : fragmentation ADN

a) sortir les plaques du four et les **centrifuger 1 minute à 280 x g**

b) dispenser **25 µL de FMS** (fragmentation de l'ADN) dans chaque plaque et les sceller avec le tapis de bouchons

c) vortexer **1 minute à 1600 rpm** puis **centrifuger 1 minute à 280 x g**

d) incuber **30 minutes à 37°C** dans les incubateurs

	Génotypage	Version 2.2
GDB_MOP_09	Génotypage	19/09/2024
Rédaction : M. MERBAH	Vérification : M. BARBET	Approbation : M.MERBAH

ETAPE STOP : si besoin, il est possible de mettre en stand-by le génotypage après cette étape en plaçant les plaques à -20°C

6) JOUR 1 : précipitation ADN - préparation de la paillasse

- a) refroidir la **centrifugeuse à 4°C**
- b) le réactif PM1 est stocké à **4°C** (GDD-FRIG-006). Sortir **1 bouteille de PM1** et la laisser revenir à température ambiante


7) JOUR 1 : précipitation ADN

- a) sortir les plaques des incubateurs et les **centrifuger 1 minute à 280 x g**
- b) dispenser **50 µL de PM1** (aide à la précipitation) dans chaque plaque. Jeter le tapis de bouchons
- c) ajouter **155 µL d'Isopropanol** (précipitation) et sceller la plaque avec un nouveau tapis de bouchons
- d) effectuer **10 retournements** des plaques et **centrifuger 20 minutes à 3000 x g à 4°C**
- e) allumer la hotte portative, la disposer au-dessus du bidon de déchets chimiques liquides (Isopropanol) et placer l'entonnoir dans celui-ci
- f) éliminer le surnageant des plaques par retournement dans le bidon, et taper fermement les plaques retournées sur un papier absorbant afin d'éliminer le maximum d'isopropanol
- g) les transférer en les laissant retournées sur un portoir et les laisser sécher durant **15 minutes**
- h) tapoter de nouveau les plaques sur un papier absorbant afin d'éliminer le liquide restant. Les papiers souillés par l'isopropanol sont à jeter dans le seau de déchets chimiques solides (Isopropanol)

ETAPE STOP (préférée par rapport aux deux autres) : si besoin, il est possible de mettre en stand-by le génotypage après le séchage. Dans ce cas, sceller la plaque avec les tapis de bouchons et placer les plaques à -20°C

8) JOUR 1 : resuspension ADN - préparation de la paillasse

- a) allumer la thermoscelleuse
- b) allumer le four, le régler à 48°C (calibrage précisé sur appareil) et activer la rotation

	Génotypage	Version 2.2
GDB_MOP_09	Génotypage	19/09/2024
Rédaction : M. MERBAH	Vérification : M. BARBET	Approbation : M.MERBAH

- c) vérifier la décongélation du RA1, si des cristaux sont encore présents, disposer la bouteille 5 minutes dans le four à 48°C

9) JOUR 1 : resuspension ADN

- a) dispenser **23 µL de RA1** (re-suspension / hybridation / (lavages)) dans chaque plaque et les sceller avec un film aluminium thermoscellable à l'aide de la thermoscelleuse. Stocker le RA1 à 4°C (GDD-FRIG-006) pour le lendemain
- b) incuber **15 minutes dans le four à 48°C**
- c) régler les **incubateurs à microplaque sur 95°C**
- d) vortexer **1 minute à 1800 rpm** et **centrifuger 1 minute à 280 x g**

ETAPE STOP : si besoin, il est possible de mettre en stand-by le génotypage après la re-suspension. Dans ce cas, sceller la plaque avec les tapis de bouchons et placer les plaques à 4°C (si le temps d'arrêt est inférieur à 24h) ou à -20°C (si l'arrêt est supérieur à 24h)


- e) incuber les plaques **20 minutes** dans les **incubateurs à microplaque à 95°C**
- f) retirer les plaques des incubateurs et laisser **refroidir 30 minutes à température ambiante** (attention en manipulant les plaques à ne pas se brûler)

10) JOUR 1 : hybridation - préparation de la paillasse

- a) se munir d'une **chambre d'hybridation XT** (bloc gris), dans laquelle est disposée un **gasket** (joint orange), de **2 inserts métalliques doubles** et de 2 séries de guides
- b) dispenser **800 µL de PB2** (humidificateur) dans chaque compartiment de la chambre d'hybridation, et la fermer hermétiquement.
- c) pour le chargement des échantillons, prévoir 4 boîtes de pointes **P20 uniquement**
- d) les lames Illumina sont stockées à 4°C (GDD-FRIG-006). **Sortir 4 pochettes de lames**, pas plus de 10 minutes avant de poursuivre le protocole

11) JOUR 1 : hybridation

- a) centrifuger les plaques **1 minute à 280 x g**
- b) disposer les **2 premières lames Illumina** sur le premier insert métallique

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Génotypage	Version 2.2
GDB_MOP_09	Génotypage	19/09/2024
Rédaction : M. MERBAH	Vérification : M. BARBET	Approbation : M.MERBAH


- c) placer le **guide n°1 sur l'insert métallique**, au-dessus des lames, et **transférer 15 µL d'ADN** des colonnes 1 à 4 de la plaque n°1 sur la première lame, puis des colonnes 1 à 4 de la plaque n°2 sur la seconde lame
- d) retirer le guide n°1 puis placer le **guide n°2 sur l'insert métallique**, et **transférer 15 µL d'ADN** des colonnes 5 à 8 de la plaque n°1 sur la première lame, puis des colonnes 5 à 8 de la plaque n°2 sur la seconde lame
- e) retirer le guide n°2 puis placer le **guide n°3 sur l'insert métallique**, et **transférer 15 µL d'ADN** des colonnes 9 à 12 de la plaque n°1 sur la première lame, puis des colonnes 9 à 12 de la plaque n°2 sur la seconde lame
- f) retirer le guide n°3 et disposer **l'insert dans la chambre d'hybridation**, puis reposer son couvercle délicatement. Jeter les plaques 1 et 2
- g) disposer les **2 dernières lames Illumina** sur le second insert métallique
- h) procéder de la même manière pour les plaques 3 et 4 avec 3 nouveaux guides
- i) disposer **le second insert dans la chambre d'hybridation, au dessus du premier**, puis fermer la chambre d'hybridation
- j) incuber la chambre d'hybridation **au four à 48°C pour 16 heures minimum**, jusqu'à 24h maximum

12) JOUR 1 : préparation de la paillasse JOUR 2

- a) si nécessaire, **reconstituer du vernis XC4** en ajoutant **330 mL d'éthanol absolu au flacon de XC4, secouer vigoureusement 1 minute**. Le vernis est utilisable pour 24 lames dans la limite de 15 jours
- b) si nécessaire, **reconstituer du PB1 à partir de PB20** (dilution 1/20e) : mélanger **100 mL** de solution **PB20** avec **1900 mL d'eau pure autoclavée** dans une bouteille en verre de 2 litres
- c) Télécharger les fichiers dMAP correspondant aux lames afin qu'elles puissent être scannées (nécessaires au déchiffrement des puces).

Sur le PC de l'Isan, ouvrir le logiciel Decode File Client et utiliser les identifiants de connexion : **Username** : c.audebert@genesdiffusion.com
Password : *****

Aller sur l'onglet **Main**. Dans la liste déroulante **Primary Field** sélectionnez *List of BeadChip Barcodes* puis lister les codes barres des lames Illumina. Dans la liste déroulante **Verification Field** sélectionnez *one illumina sales order* et

	Génotypage	Version 2.2
GDB_MOP_09	Génotypage	19/09/2024
Rédaction : M. MERBAH	Vérification : M. BARBET	Approbation : M.MERBAH

indiquer le *order number* se trouvant sur les bons de livraisons des kits correspondants.


Cliquer sur **Find**. Sélectionner la liste des dMap à télécharger, sélectionner l'emplacement de stockage correspondant (sur DATAPART1 D:\dMap\dMap_MD_v...), puis cliquer sur **Start Download**. Les fichiers dMap seront intégrés au système à la fin du téléchargement.

13) JOUR 2 : lavage et montage des lames - préparation de la paillasse

- les réactifs LX1, LX2, EML, SML, ATM et la formamide/EDTA sont stockés à - **20°C** (GDD-CONG-009). Sortir 1 tube de chaque et les laisser décongeler à température ambiante
- sortir le **RA1** utilisé la veille (stocké à 4°C, GDD-FRIG-006) à **température ambiante**, vérifier qu'il ne se soit pas cristallisé, si des cristaux sont encore présents, disposer la bouteille 5 minutes dans le four à 48°C
- sortir la chambre d'hybridation du four, la laisser reposer **30 minutes à température ambiante**
- allumer le bain circulant** sous la paillasse du robot pipeteur Tecan, associé au Te-Flow. Régler le thermostat à **44°C** (calibrage précisé sur appareil)
- éliminer les bulles du Te-Flow en l'agitant avec précaution et disposer la **sonde de température** dédiée aléatoirement sur un emplacement, à droite de la rangée prévue pour les lames (attention à ce que le câble de la sonde ne gêne pas les trajets des aiguilles)

Remarque : si le bain circulant est bruyant, c'est probablement qu'il entraîne de l'air dans les tuyaux (à visualiser au niveau de la trappe du bain circulant) et des bulles se reforment alors dans le Te-Flow. Préparer une solution d'1L d'eau pure autoclavée additionnée d'1 mL de stabilisant pour bains d'eau chaude et la déverser dans le bain circulant. Mettre à jour la fiche de vie en conséquence (onglet Journal événements).


- vérifier que les tuyaux sont bien reliés aux bidons/bouteille et vérifier leur niveau
- allumer le robot pipeteur Tecan (bouton triangulaire vert en bas à droite de l'appareil) puis l'ordinateur, ouvrir le logiciel Tecan et s'identifier avec login et mot de passe
- sélectionner **"Edit an existing script"**, puis **Start** et choisir le programme **"Illumina_4_lames_XT"**

	Génotypage	Version 2.2
GDB_MOP_09	Génotypage	19/09/2024
Rédaction : M. MERBAH	Vérification : M. BARBET	Approbation : M.MERBAH

- i) effectuer un rinçage et une purge des aiguilles : sur le logiciel, dans la partie “**Control Bar**”, cliquer sur l’onglet “**COMMANDS**”, puis sur “**Flush**”. La fenêtre “**Flush Tips**” s’ouvre, cliquer sur “**START Flushing Tips**” et valider l’étape d’initialisation du positionnement des aiguilles
- j) préparer sur la paillasse :
 - **2 cuves de lavage en verre** (glass tray)
 - un **portoir de lavage de lames** (wash rack), à disposer dans la première cuve de lavage en verre
 - un **portoir de montage des lames** (XCG flow-through chamber assembly tray)
 - **4 supports de lame** (XCG flow-through chamber frames), à disposer dans le portoir de montage des lames
 - **4 lames de verre XT** (XCG glass back plates) -> **attention, les lames sont très fragiles**
 - **8 clips** (XCG flow-through chamber clips)
- k) mettre **200 mL de PB1** dans chaque **cuve de lavage**, et **150 mL de PB1** délicatement dans le **portoir de montage des lames** pour éviter les bulles
- l) dans le réservoir Tecan “XC3”, verser **25 mL de XC3** et le positionner à l'emplacement dédié sur le plan de travail du robot Tecan
- m) dispenser **4 mL de RA1** dans 2 falcons 15 mL et les placer en position 1 et 3 de la première rangée du portoir de tubes sur le plan de travail du robot Tecan
- n) vérifier la **décongélation** des réactifs Illumina, les homogénéiser puis les **centrifuger** brièvement
- o) placer le tube de **formamide/EDTA** à la suite des tubes de RA1, en position 5
- p) positionner sur la seconde rangée du portoir, en position 1 à 5 les réactifs LX1, LX2, EML, SML et ATM respectivement

14) JOUR 2 : lavage et montage des lames

- a) une fois les 30 minutes écoulées, ouvrir délicatement le couvercle de la chambre d’hybridation
- b) sortir les lames, retirer le **cover seals** en plastique, insérer les lames dans le portoir de lavage, et le plonger dans la première cuve en verre contenant le PB1 (lavage)
- c) **laver 1 minute** par mouvement d’agitation de haut en bas dans le PB1

	Génotypage	Version 2.2
GDB_MOP_09	Génotypage	19/09/2024
Rédaction : M. MERBAH	Vérification : M. BARBET	Approbation : M.MERBAH


- d) faire un **second lavage** dans la seconde cuve en procédant de la même manière
- e) disposer les lames dans le **portoir de lavage de lames**
- f) nettoyer une première lame de verre avec une **lingette Kimtech** imbibée d'**alcool** et éliminer les poussières avec une bombe d'air comprimé
- g) poser la **lame de verre sur la lame Illumina**, réservoir ouvert vers la puce côté code-barres, et ne laisser aucune bulle entre les deux
- h) réaliser les étapes f) et g) pour les 3 autres lames
- i) bloquer le système "**support/lame Illumina/lame de verre**" avec 2 **clips de part et d'autre**, en maintenant le système immergé dans le PB1
- j) disposer les montages sur le Te-Flow, sur la **3^{ème} rangée en position 3 à 6**, en ayant vérifié la bonne montée de la température à 44°C sur la sonde température au préalable
- k) sur l'ordinateur, cliquer sur ► Run, la fenêtre "Runtime controller" s'ouvre, cliquer sur Run, vérifier et valider le positionnement des réactifs

Remarque : veiller au bon démarrage du programme en étant prêt à cliquer sur le bouton pause de l'interface, en cas de problème, cela permettra d'intervenir sur le robot puis de relancer le programme

15) JOUR 2 : staining

Remarque : le staining est réalisée par le robot, il n'y a donc pas de manipulation à faire


- a) dans chaque réservoir de lame, dispenser 150 µL de RA1 ((re-suspension / hybridation) / lavages), et incubé 30 secondes. Répéter l'étape 5 fois
- b) dispenser 225 µL de LX1 (blocage sites aspécifiques), répéter l'étape 1 fois et incubé 10 minutes
- c) dispenser 225 µL de LX2 (lavage), répéter l'étape 1 fois et incubé 10 minutes
- d) dispenser 300 µL d'EML (extension simple base - couplé biotin/dinitrophenyl), incubé 15 minutes
- e) dispenser 250 µL formamide/EDTA (déshybridation séquence cible), incubé 1 minute. Répéter l'étape 2 fois puis incubé 5 minutes
- f) **ajuster la température du Te-flow** à la température indiquée sur le tube de SML (calibrage précisé sur appareil) et valider sur le logiciel que la température a été ajustée
- g) le robot poursuit ses lavages en dispensant 250 µL de XC3 (lavage). Incubation d'1 minute. Cette étape est répétée 2 fois

	Génotypage	Version 2.2
GDB_MOP_09	Génotypage	19/09/2024
Rédaction : M. MERBAH	Vérification : M. BARBET	Approbation : M.MERBAH

- h) une fois le Te-flow à bonne température, **cliquer sur “ok”** pour poursuivre le staining
- i) dans chaque réservoir de lame, dispenser 250 µL de SML (streptavidin/Ac anti-DNP fluorescents) et incubé 10 minutes
- j) dispenser 250 µL de XC3 et incubé 1 minute. Répéter 2 fois puis attendre 5 minutes
- k) dispenser 250 µL d'ATM (Ac couplés biotin/DNP) et incubé 10 minutes
- l) dispenser 250 µL de XC3 et incubé 1 minute. Répéter 2 fois puis attendre 5 minutes
- m) dispenser 250 µL de SML et incubé 10 minutes
- n) dispenser 250 µL de XC3 et incubé 1 minute. Répéter 2 fois puis attendre 5 minutes
- o) dispenser 250 µL d'ATM et incubé 10 minutes
- p) dispenser 250 µL de XC3 et incubé 1 minute. Répéter 2 fois puis attendre 5 minutes
- q) dispenser 250 µL de SML et incubé 10 minutes
- r) dispenser 250 µL de XC3 et incubé 1 minute. Répéter 2 fois puis attendre 5 minutes

16) JOUR 2 : rinçage et vernissage des lames


- a) remplir un **bac plastique** de lavage noté PB1 avec **310 mL de PB1** et y disposer un portoir de lames en plastique
- b) une fois le staining terminé, éteindre le bain circulant et la sonde de température
- c) récupérer les montages, **enlever les clips à l'aide de l'outil de démontage**, retirer la **lame de verre en la faisant glisser** délicatement, et placer la lame Illumina dans le portoir de lames **dans le PB1**, code-barres vers le haut
- d) faire de même pour les **3 autres lames**, en les espaçant sur le portoir, les lames ne doivent jamais se toucher
- e) rincer par **10 mouvements d'agitation de haut en bas dans le PB1**, et **incuber 5 minutes**
- f) remplir un **bac plastique** de vernissage noté XC4 avec **310 mL de XC4**
- g) **égoutter le portoir de lames** et le transférer **dans le bac de XC4**
- h) effectuer **10 mouvements d'agitation de haut en bas dans le XC4**, et **incuber 5 minutes**

	Génotypage	Version 2.2
GDB_MOP_09	Génotypage	19/09/2024
Rédaction : M. MERBAH	Vérification : M. BARBET	Approbation : M.MERBAH


- i) **égoutter le portoir de lames** et le **poser à l'horizontal** sur un portoir dédié, puces vers le haut
- j) **transférer une à une les lames** avec une pince de façon horizontale sur un portoir dédié au séchage, en commençant par celle du bas, les lames ne doivent jamais se toucher
- k) disposer le portoir avec les lames dans un dessiccateur à vide pour les sécher, effectuer les branchements et allumer la **pompe à vide**. Le temps de séchage varie généralement de 40 minutes à 1h
- l) transférer le vernis XC4 dans sa bouteille d'origine et procéder au nettoyage du réservoir blanc du Te-flow avec de l'éthanol → **Attention, le réservoir contient des traces de formamide/EDTA, à manipuler avec précaution**
- m) fermer le programme sur l'ordinateur, l'éteindre puis éteindre le TECAN

17) JOUR 2 : lecture des puces

- a) **allumer l'Iscan**, puis 10-15 minutes après, le **logiciel Iscan Control Software**
- b) vérifier que les lames soient bien sèches, arrêter la pompe, et ouvrir les valves
- c) sortir les lames de la cloche et nettoyer le dos avec une lingette Kimtech imbibée d'éthanol 70% pour retirer le surplus de vernis
- d) disposer les lames sur le portoir bleu dédié à l'Iscan, cliquer sur Start et le charger sur le plateau de lecture
- e) cliquer sur Next, préciser l'emplacement de stockage des dMAP (sur DATAPART1 D:\dMap\dMap_MD_v...) et l'emplacement où seront stockées les données de scan (sur DATAPART1 D:\Data\Scan_MD_v...), puis cliquer sur Scan
- f) à l'issue du scan (environ 3h), cliquer sur OK puis Done
- g) récupérer les lames en appuyant sur le bouton Open/Close à l'avant de l'Iscan, les transférer dans leur boîte d'origine, puis rappuyer sur le bouton pour ranger le plateau de lecture
- h) fermer le logiciel puis éteindre l'Iscan, ne jamais éteindre l'ordinateur
- i) transférer les dossiers de scans sur le serveur gna2gdlabo.genesdiffusion.com dans le dossier depot_scan Z:\Scan_MD_v... ainsi que les dossiers de Dmap sur depot_dmap Y:\dMap_MD_v...

 GD Biotech AGRI-AGRO SOLUTIONS	Génotypage	Version 2.2
GDB_MOP_09	Génotypage	19/09/2024
Rédaction : M. MERBAH	Vérification : M. BARBET	Approbation : M.MERBAH

	Noms	conditions de stockage
Matériel	Four Illumina (x3)	
	Centrifugeuse réfrigérée	
	Plateforme d'agitation Illumina	
	Hotte portative	
	Thermoscelleuse	
	Matériel Illumina	
	Bain circulant	
	Robot pipeteur Tecan / Te-Flow	
	Sonde de température Te-flow	
	Ordinateur pour le robot pipeteur Tecan	
	Ordinateur pour l'Isan + portoir lame	
	Pompe à vide / dessiccateur	
	Isan	
	Bouteille de verre 100 mL (NaOH)	
	Fiole 100 mL (NaOH)	
	Erlenmeyer 500mL (Formamide/EDTA)	
	Bouteille 2L (PB1)	
Consommables	Plaques midi + tapis de bouchons	
	Films aluminium thermoscellants	
	Seringue 50 mL (NaOH)	
	Filtre 0,2 µM (NaOH)	
	Falcon 15 mL (Formamide/EDTA)	
	Pipette 10 mL / 50 mL	
Réactifs	Kit génotypage Illumina : Inf XT iSelect-96 Kit (1152 smp)	Selon réactif et descriptif tube : -20°C +/- 5°C, 5°C +/- 3°C, température ambiante (entre 15°C et 30°C)
	Pastilles Hydroxyde de sodium NaOH	Température ambiante
	Hydroxyde de sodium NaOH 0,1N	5°C +/- 3°C
	Eau ultrapure	Température ambiante
	Eau pure autoclavée	Température ambiante
	Isopropanol	Température ambiante
	Ethanol absolu	Température ambiante
	Infinium XT Assay PB20 Kit / PB1 (dilution au 1/20e)	Température ambiante (entre 15°C et 30°C)
	Stabilisant pour bains d'eau chaude	Température ambiante

	Génotypage	Version 2.2
GDB_MOP_09	Génotypage	19/09/2024
Rédaction : M. MERBAH	Vérification : M. BARBET	Approbation : M.MERBAH

	Alconox	Température ambiante
	Formamide 99,5%	Température ambiante
	EDTA 0,5M	Température ambiante

Documents associés :

[GDB_PRO_05_Contrôle de répétabilité et de reproductibilité : méthode de génotypage haut-débit par puces à ADN](#)

[GDB_FORM_04_Habilitation génotypage haut débit](#)

[GDB_FORM_16_Génotypage Infinium Illumina - Tracking form](#)

[GDB_MOP_21_Modalités de conservation d'ADN génotypé](#)

[GDB_FORM_22_Stockage d'ADN congelé](#)