

**PROCEDURE DE SÉQUENÇAGE/GENOTYPAGE CAPILLAIRE ABI3500****1. OBJET**

Le but de cette procédure est de décrire les étapes du séquençage et de génotypage capillaire d'acides nucléiques selon la méthode de Sanger.

**2. DOMAINE D'APPLICATION :**

Le présent mode opératoire s'applique aux échantillons des acides nucléiques traités dans le cadre de prestations de service à des fins de :

- Recherche scientifique
- Pour le compte des laboratoires de structure hospitalière et de centres de recherche
- Investigation clinique

**3. RESPONSABILITES :**

- Le responsable de la plateforme technologique est responsable de l'application générale de ce mode opératoire.
- Le référant Qualité de la plateforme technologique veille à la bonne exécution de ce mode opératoire.
- Les ingénieurs de la plateforme technologique sont responsables de l'application de ce mode opératoire.

| <b>Rédaction<br/>(Nom/Fonction/Visa)</b>                        | <b>Date</b> | <b>Vérification<br/>(Nom/Fonction/Visa)</b>      | <b>Date</b> | <b>Approbation<br/>(Nom/Fonction/Visa)</b> | <b>Date</b> |
|---|-------------|--|-------------|--|-------------|
| Sinda ZARROUK<br>Biologiste<br>Chef Plateforme<br>Technologique |             | Sonia DAMAK<br>Responsable<br>Management Qualité |             | Samia MENIF<br>Directrice Générale         |             |

**PROCEDURE DE SÉQUENÇAGE/GENOTYPAGE CAPILLAIRE ABI3500****4. REFERENCES ET DOCUMENTS ASSOCIES :**

- Règles de bonne pratique de laboratoires d'analyses médicales (publiées par arrêté du 12 mai 2011).
- Modes opératoires associés:  
PT-MO-01, PT-MO-02, PT-MO-03, PT-MO-04, PT-MO-05, PT-MO-06, PT-MO-07,  
PT-MO-08, PT-MO-09, PT-MO-10, PT-MO-11, PT-MO-12.
- Fiche d'engagement : PT-SP-01
- Prestations proposées : PT-SP-02
- Fichier de demande analyse séquençage/génotypage ABI 3500 : PT-FR-02

**5. DEFINITIONS ET ABREVIATIONS****5.1 Définitions :**

**Séquençage d'ADN :** Le séquençage génétique de Sanger est un moyen de déterminer l'ordre des quatre nucléotides dans un brin d'ADN.

**Génotypage Capillaire :** Lors du génotypage, on amplifie par réaction PCR des régions polymorphiques en marquant une des amorces avec un fluorochrome. Ensuite, par électrophorèse capillaire, il est possible de déterminer la longueur exacte de chaque région polymorphique étudiée chez un individu.

**5.2 Abréviations :**

| Abréviations | Définition du terme       |
|--------------|---------------------------|
| <b>AB</b>    | Applied Biosystems        |
| <b>ADN</b>   | Acide désoxyribonucléique |
| <b>PCR</b>   | Polymerase Chain Reaction |

**6. DESCRIPTION**

**PROCEDURE DE SÉQUENÇAGE/GENOTYPAGE CAPILLAIRE ABI3500**

S'assurer de la conformité des échantillons : vérification noms, code, tubes...

**6.1 Extraction de l'ADN**

Se référer au PT-MO-01.

**6.2 Analyse qualitative des acides nucléiques**

Se référer au PT-MO-02.

**6.3 Analyse quantitative des acides nucléiques**

Se référer au PT-MO-03.

Se référer au PT-MO-09.

**6.4 Réaction de PCR**

Se référer au PT-MO-04.

**6.5 Purifications**

Se référer au PT-MO-05.

Se référer au PT-MO-11.

Se référer au PT-MO-12.

**6.6 Réaction de séquence**

Se référer au PT-MO-06.

Se référer au PT-MO-10.

**6.7 Injection au séquenceur 3500**

Se référer au PT-MO-07.

**6.8 Analyse de fragment/Génotypage 3500**

Se référer au PT-MO-08.

**PROCEDURE DE SÉQUENÇAGE/GENOTYPAGE CAPILLAIRE ABI3500****7. REGISTRE DES MODIFICATIONS**

| <i>N° de version</i> | <i>Date</i> | <i>Rédacteur</i> | <i>Nature des Modifications</i> |
|----------------------|-------------|------------------|---------------------------------|
| 01                   | -----       | Sinda ZARROUK    | Néant – Version 01              |