

Évaluation de la qualité de l'ARN

Procédure normalisée de fonctionnement du RCBT			
Évaluation de la qualité de l'ARN			
Numéro de PNF:	05.003	Version:	f1.0
Remplace:		Catégorie:	Assurance qualité

Approuvée par:	Conseillers du RCBT	
	Par: Peter Watson et Anne-Marie Mes-Masson	

1.0 INTENTION

L'assurance qualité est essentielle au bon fonctionnement d'une biobanque offrant des échantillons de tissus et ses dérivés à des fins de recherche. Un niveau élevé d'intégrité moléculaire est essentiel afin d'éviter les incohérences et les variations dans les projets de recherche. La qualité des acides nucléiques est d'une importance cruciale pour de nombreuses techniques utilisées dans l'analyse génomique, pour l'interprétation pertinente des résultats ainsi que pour faciliter la comparaison des résultats entre des laboratoires indépendants. Les biobanques inscrites au RCBT doivent être certaines de fournir des échantillons adéquats pour les objectifs de recherche désignés. Idéalement, des procédures de contrôle devraient être mises en place afin de surveiller et d'évaluer la qualité des échantillons de la collection.

2.0 PORTÉE

Cette procédure normalisée de fonctionnement (PNF) décrit les évaluations minimales et les tests qui doivent être mis en place pour évaluer la qualité de l'acide ribonucléique (ARN) extrait dans la biobanque afin de fournir aux chercheurs un produit conforme à leurs besoins.

3.0 RÉFÉRENCES À D'AUTRES PNFs OU POLITIQUES DU RCBT

Remarque: Lors de l'adoption de cette PNF pour un usage local, s'il vous plaît, faire référence au RCBT.

3.1 Politique du RCBT: POL 5 Registres et documentation

3.2 Politique du RCBT: POL 7 Manipulation du matériel et de l'information

3.3 Procédure normalisée de fonctionnement du RCBT : PNF 05.001 Évaluation de la qualité des spécimens tissulaires

3.4 Procédure normalisée de fonctionnement du RCBT : PNF 05.002 Évaluation de la qualité des acides nucléiques

Évaluation de la qualité de l'ARN

3.5 Procédure normalisée de fonctionnement du RCBT : PNF 08.02.003 Dérivés du sang: extraction d'ARN

3.6 Procédure normalisée de fonctionnement du RCBT : PNF 08.03.009 Dérivés des tissus – extraction d'ARN

3.7 Procédure normalisée de fonctionnement du RCBT : PNF 08.01.002 Gestion des déchets à biorisques

4.0 RÔLES ET RESPONSABILITÉS

Cette PNF s'applique à tout le personnel de la biobanque impliqué dans la rédaction, la révision, l'approbation et la mise à jour des PNFs.

Personnel de la banque	Responsabilité/rôle
Technicien de laboratoire	Effectuer des procédures d'assurance de la qualité et y contribuer. Enregistre et documente les résultats.

Évaluation de la qualité de l'ARN

5.0 ÉQUIPEMENT, MATÉRIEL DE RÉACTION ET FORMULAIRES

Le matériel, les équipements et les formulaires énumérés dans la liste suivante ne sont que des recommandations et peuvent être remplacés par des produits alternatifs/ équivalents plus adaptés à la tâche ou à la procédure spécifique au site.

Matériel et équipement	Matériel et équipement (spécifiques au site)
Système de bioanalyseur Agilent 2100	
Agitateur Vortex IKA MS3 avec adaptateur de puce	
Kit RNA 6000 Nano (5067-1511)	
Ou kit RNA 6000 Pico (5067-1513)	
Thermocycleur pour réaction de PCR	
Réactifs pour PCR	
RNase ZAP pour la décontamination des électrodes	
Thermocycleur, bloc chauffant ou bain-marie pour la dénaturation par la chaleur	
Eau exempte de RNase	
Microcentrifugeuse (≥ 1300 g)	
Tubes pour microcentrifugeuse de 1,5 ml exempts de RNase	
Système Agilent TapeStation 4200 ou 4150	
Embout pointes de chargement (5067-5598, 1 paquet ou 5067-5599, 10 paquets)	
Barrettes de 8 tubes optiques (401428) et barrettes de 8 capuchons optiques (401425)	
Support pour barrettes de tubes	
Agitateur vortex IKA MS3 avec adaptateur de plaque d'échantillons à 96 puits	
Plaques de 96 puits (5042-8502) et pellicules scellantes pour plaques de 96 puits (5067-5154) (seulement pour le système TapeStation 4200)	
Micropipettes volumétriques pour la manipulation de volumes de 1 à 15 μ L	

Commented [TT1]: Rack for Streck tubes

Évaluation de la qualité de l'ARN

Centrifugeuse pour les barrettes de tubes et pour les plaques d'échantillons à 96 puits	
5067-5576 Test ScreenTape ARN incluant 7 dispositifs ScreenTape	
5067-5577 tampon d'échantillon ScreenTape ARN 5067-5578 échelle de poids moléculaire pour ScreenTape ARN ou	
5067-5579 Test ScreenTape ARN haute sensibilité incluant 7 dispositifs ScreenTape	
5067-5580 tampon d'échantillon pour ScreenTape ARN haute sensibilité 5067-5581 échelle de poids moléculaire pour ScreenTape ARN haute sensibilité	

6.0 DÉFINITIONS

Consultez le glossaire du programme du RCBT : <https://biobanking.org/webs/glossary>

7.0 PROCÉDURES

La procédure suivante est basée sur l'utilisation du bioanalyseur Agilent 2100 pour déterminer la concentration et la pureté et l'intégrité des échantillons d'ARN. Il fournit une lecture de la qualité et de la pureté de l'échantillon, présente l'avantage supplémentaire de nécessiter de petites quantités d'échantillon et un score de qualité peut être attribué en fonction de la valeur du numéro d'intégrité de l'ARN du bioanalyseur. Le kit RNA 6000 Nano convient aux échantillons d'ARN total avec une concentration comprise entre 5 et 500 ng/µl (7.1.1). Pour les échantillons d'ARN à faible concentration, le test RNA 6000 Pico (5067-1513) peut être utilisé pour estimer la concentration et déterminer l'intégrité des échantillons d'ARN. Il fournit une lecture de la concentration et de la qualité de l'échantillon ainsi qu'un score de qualité peut être attribué en fonction de la valeur de l'indice d'intégrité de l'ARN du bioanalyseur. Le test RNA Pico offre une sensibilité élevée et convient aux échantillons de 50 à 5000 pg/µl d'ARN total (7.1.2).

7.1. Évaluation de la qualité – ARN avec utilisation du système de bioanalyseur Agilent 2100

7.1.1. Tests RNA 6000 Nano

Évaluation de la qualité de l'ARN

Procédures essentielles

- Remplacer la seringue de la station de chargement de puces avec chaque nouveau kit.
- Utiliser une nouvelle puce de nettoyage d'électrode un nouveau nettoyeur d'électrode pour chaque nouveau kit.
- Protéger les colorants et les mélanges de colorants de la lumière.
- Manipuler et entreposer tous les réactifs conformément aux instructions figurant sur l'étiquette de la boîte ou du sac.

Dénaturer l'échelle de poids moléculaire de l'ARN 6000 Nano, lors de sa réception

- Centrifuger rapidement l'échelle de poids moléculaire.
- Dénaturer l'échelle de poids moléculaire pour 2 min à 70 °C.
- Refroidir immédiatement le tube sur de la glace.
- Préparer des aliquotes dans des tubes exempts de RNase avec la quantité requise pour une utilisation quotidienne typique. Entreposer ces aliquotes à -70 °C.

Préparer l'exécution

- Laisser les réactifs RNA 6000 Nano s'équilibrer à température ambiante pendant 30 minutes avant de procéder aux prochaines étapes
- Décongeler l'aliquote de l'échelle de poids moléculaire RNA Nano et les échantillons d'ARN sur la glace.
- Lancer le logiciel 2100 Expert et charger le test « Eukaryote Total RNA Nano Series II ».
- Pour minimiser les structures secondaires, il est recommandé de dénaturer tous les échantillons d'ARN pendant 2 min à 70 °C.
- Refroidir immédiatement les échantillons sur de la glace. Centrifuger brièvement l'échantillon pour éliminer toute condensation.
- Les échantillons doivent être conservés sur de la glace jusqu'à leur utilisation.
- Mélanger à l'aide d'un vortex les réactifs et les échantillons. Centrifuger brièvement avant utilisation.
- Ajuster le socle de la station de chargement des puces à la position C.
- Ajuster le clip de fermeture de la seringue à la plus haute position.

Décontaminer les électrodes du bioanalyseur

- Remplir les puits de la puce de nettoyage pour les électrodes avec 350 µl de RNase ZAP et la placer les placer dans le bioanalyseur pendant 1 minute.
- Retirer et remplacer par une autre puce de nettoyage d'électrode remplie de 350 µl d'eau exempte de RNase pendant 10 secondes.

Évaluation de la qualité de l'ARN

- Retirer et attendre 10 secondes afin que l'eau sur les électrodes s'évapore avant de refermer le couvercle du bioanalyseur.

Préparer l'instrument et le gel

- Allumer le bioanalyseur pour que le laser se réchauffe pendant que les réactifs s'équilibrent.
- Placer 550 µl de gel matrice RNA Nano, préalablement équilibré 30 minutes à température ambiante, dans la partie supérieure d'une colonne de filtration « spin filter » et centrifuger pour 10 minutes à 1 500 g.
- Aliquoter 65 µl du gel filtré dans des tubes à microcentrifugation exempts de RNase et conserver à 4° C jusqu'à utilisation. Le gel filtré est stable jusqu'à 1 mois après préparation.

Préparer le mélange gel-colorant

- À l'aide d'un vortex, mélanger le colorant concentré RNA Nano, préalablement équilibré 30 minutes à température ambiante, pendant 10 secondes.
- Centrifuger légèrement pour le déposer au fond du tube.
- Ajouter 1 µl de colorant à un aliquote de 65 µl de gel filtré et bien mélanger à l'aide d'un vortex.
- Centrifuger 10 minutes à température ambiante à 13 000g dans une microcentrifugeuse. Utiliser le mélange gel-colorant préparé dans les 24 heures suivant sa préparation.

Charger le mélange gel-colorant

- Placer une nouvelle puce RNA Nano sur la station de chargement de puces.
- Pipeter 9 µl du mélange gel-colorant RNA Nano au fond du puits marqué G en noir.
- Fermer la station de chargement de puces et presser le piston jusqu'à ce qu'il soit retenu par le clip de fermeture.
- Attendre exactement 30 secondes et relâcher le piston.
- Ouvrir la station de chargement de puces et pipetter 9 µl du gel-colorant dans les deux autres puits marqués d'un G.

Charger le marqueur

- Pipeter 5 µl du marqueur RNA Nano dans le puits marqué du symbole de l'échelle de poids moléculaire ainsi que dans chacun des 12 puits pour les échantillons. Ne laisser aucun puits vide.

Évaluation de la qualité de l'ARN

Charger l'échelle de poids moléculaire et les échantillons

- Pipetter 1 µl de l'échelle de poids moléculaire dénaturée RNA Nano dans le puits marqué du symbole de l'échelle de poids moléculaire.
- Pipeter 1 µl des échantillons dénaturés dans chacun des puits destinés aux échantillons. Ajoutez 1 µl du marqueur dans chaque puits non utilisé.
- Mélanger la puce à l'aide d'un vortex IKA MS3 muni de l'adaptateur à puce pendant 1 minute à 2 400 rpm.
- Insérer la puce dans le bioanalyseur et démarrer l'instrument. Assurez-vous que l'exécution démarre dans les 5 minutes suivant le chargement de la puce.

Une fois le test terminé, retirer immédiatement la puce utilisée du bioanalyseur et nettoyer les électrodes :

- Remplir les puits de la puce de nettoyage pour électrodes avec 350 µl d'eau exempte de RNase et la placer dans le bioanalyseur pendant 10 secondes.
- Retirer et attendre 10 secondes que l'eau des électrodes s'évapore avant de fermer le couvercle du bioanalyseur.

Pour plus d'informations sur l'utilisation du bioanalyseur afin d'évaluer la qualité de l'ARN, reportez-vous à la section 8.1.

7.1.2. Test RNA 6000 Pico

Procédures essentielles

- Remplacer la seringue de la station de chargement des puces avec chaque nouveau kit.
- Utiliser une nouvelle puce de nettoyage d'électrodes pour électrodes avec chaque nouveau kit.
- Protéger de la lumière les colorants et les mélanges à colorants.
- Manipuler et entreposer tous les réactifs conformément aux instructions figurant sur l'étiquette de la boîte ou du sac.

Dénaturer, l'échelle de poids moléculaire de l'ARN 6000 Pico, lors de sa réception

- Centrifuger rapidement l'échelle de poids moléculaire.
- Dénaturer l'échelle de poids moléculaire pour 2 min à 70 °C.
- Refroidir immédiatement le tube sur de la glace.
- Ajouter 90 µl d'eau exempte de RNase et bien mélanger.
- Préparer des aliquotes dans des tubes exempts de RNase avec la quantité requise pour une utilisation quotidienne typique. Entreposer ces aliquotes à -70 °C.

Évaluation de la qualité de l'ARN

Préparer l'exécution

- Laisser les réactifs RNA Pico s'équilibrer à température ambiante pendant 30 minutes.
- Décongeler l'aliquote de l'échelle de poids moléculaire RNA Pico et les échantillons d'ARN sur la glace.
- Pour minimiser les structures secondaires, il est recommandé de dénaturer tous les échantillons d'ARN pendant 2 min à 70 °C.
- Refroidir immédiatement les échantillons sur de la glace jusqu'à leur utilisation.
- Lancer le logiciel 2100 Expert et charger le test « Eukaryote Total RNA Pico Series II ».
- Mélanger à l'aide d'un vortex les réactifs et les échantillons. Centrifuger brièvement avant utilisation.
- Ajuster le socle de la station de chargement des puces en position C.
- Ajuster le clip de fermeture de la seringue à la plus haute position.

Décontaminer les électrodes du bioanalyseur

- Remplir les puits de la puce de nettoyage pour électrodes avec 350 µl d'eau fraîche exempte de RNase et la placer dans le bioanalyseur pendant 5 minutes.
- Retirer et attendre 30 secondes que l'eau présente sur les électrodes s'évapore avant de fermer le couvercle du bioanalyseur.

Préparer l'instrument et le gel

- Allumer le bioanalyseur pour que le laser se réchauffe pendant que les réactifs s'équilibrent.
- Placer 550 µl de gel matrice RNA Pico, préalablement équilibré 30 minutes à température ambiante, dans la partie supérieure d'une colonne de filtration « spin filter » et centrifuger pour 10 minutes à 1500 g.
- Aliquoter 65 µl du gel filtré dans des tubes à microcentrifugation exempts de RNase et conserver à 4° C jusqu'à utilisation. Le gel filtré est stable jusqu'à 1 mois après préparation.

Préparer le mélange gel-colorant

- À l'aide d'un vortex, mélanger le colorant concentré RNA Nano, préalablement équilibré 30 minutes à température ambiante, pendant 10 secondes.
- Centrifuger légèrement pour le déposer au fond du tube.
- Mélanger le colorant concentré ARN Pico, à l'aide d'un vortex, pendant 10 secondes et centrifuger brièvement pour le déposer au fond du tube.

Évaluation de la qualité de l'ARN

- Ajoutez 1 µl de colorant à un aliquote de 65 µl de gel filtré et bien mélanger à l'aide d'un vortex.
- Centrifuger 10 minutes à température ambiante à 13 000g dans une microcentrifugeuse. Utilisez le mélange gel-colorant préparé dans les 24 heures suivant sa préparation.

Charger le mélange gel-colorant

- Placer une nouvelle puce RNA Pico sur la station de chargement de puces.
- Pipeter 9 µl du mélange gel-colorant ARN Pico au fond du puits marqué G en noir.
- Fermer la station de chargement des puces et presser le piston jusqu'à ce qu'il soit retenu par le clip de fermeture.
- Attendre exactement 30 secondes et relâcher le piston.
- Ouvrir la station de chargement des puces et pipeter 9 µl du gel-colorant dans les deux autres puits marqués d'un G.
- Pipeter 9 µl de la solution de conditionnement RNA Pico dans le puits marqué CS.

Charger le marqueur

- Pipeter 5 µl du marqueur RNA Pico dans le puits marqué du symbole de l'échelle poids moléculaire ainsi que dans chacun des 11 puits pour les échantillons. Ne laisser aucun puits vide.

Charger l'échelle de poids moléculaire et les échantillons

- Pipeter 1 µl de l'échelle de poids moléculaire dénaturée RNA Pico diluée dans le puits marqué du symbole du marqueur de poids moléculaire.
- Pipeter 1 µl des échantillons dénaturés dans chacun des puits. Ajouter 1 µl de marqueur RNA Pico dans chaque puits d'échantillon inutilisé.
- Mélanger à l'aide d'un vortex la puce pendant 1 minute à 2 400 rpm.
- Insérer la puce dans le bioanalyseur et démarrer l'instrument. Assurez-vous que l'exécution démarre dans les 5 minutes suivant le chargement de la puce.

Une fois le test terminé, retirer immédiatement la puce utilisée du bioanalyseur et nettoyer les électrodes :

- Remplir les puits de la puce de nettoyage pour électrodes avec 350 µl d'eau exempte de RNase et la placer dans le bioanalyseur pendant 30 secondes.
- Retirer et attendre 30 secondes que l'eau présente sur les électrodes s'évapore avant de fermer le couvercle du bioanalyseur.

Évaluation de la qualité de l'ARN

Pour plus d'informations sur l'utilisation du bioanalyseur afin d'évaluer la qualité de l'ARN, reportez-vous à la section 8.1.

7.2 Évaluation de la qualité – ARN à l'aide du système TapeStation Agilent 4200 ou 4150

La procédure suivante est basée sur l'utilisation des systèmes TapeStation Agilent 4150 (G2992AA) et 4200 (G2991AA) avec le test ScreenTape ARN pour déterminer la concentration et l'intégrité des échantillons d'ARN. Ce type de système fournit une lecture de la quantité et de la qualité de l'échantillon en n'utilisant qu'une petite quantité d'ARN. Un ratio de qualité équivalent au nombre d'intégrité de l'ARN (RIN[®]) est automatiquement calculé et peut être utilisé pour établir des seuils. Deux tests sont disponibles pour les systèmes TapeStation selon les différentes plages de concentration.

- Échantillons d'ARN entre 25 et 500 ng/μl (voir 7.2.1)

Comprend le ScreenTape ARN 5067-5576, le tampon d'échantillon ScreenTape ARN 5067-5577 ainsi que l'échelle de poids moléculaire ScreenTape ARN 5067-5578.

- Échantillons d'ARN entre 1000 à 25000 pg/μl (voir 7.2.2)

Comprend le ScreenTape ARN haute sensibilité 5067-5579, le tampon d'échantillon ScreenTape ARN haute sensibilité 5067-5580 et l'échelle de poids moléculaire ScreenTape ARN haute sensibilité 5067-5581.

7.2.1 Évaluation de la qualité de l'ARN avec le test ScreenTape ARN sur un système TapeStation

Préparer l'exécution

- Laisser le tampon d'échantillon ARN s'équilibrer à température ambiante pendant 30 minutes.
- Décongeler l'échelle de poids moléculaire ARN et les échantillons d'ARN total sur la glace.
- Ouvrir l'instrument TapeStation.
- Lancer le logiciel de contrôle Agilent TapeStation.
- Taper légèrement sur le dispositif ScreenTape ARN et l'insérer dans le réceptacle du ScreenTape de l'appareil TapeStation.
- Sélectionner les positions d'échantillons requises dans le logiciel de contrôle TapeStation.

Évaluation de la qualité de l'ARN

- À titre informatif, les consommables et quantité de réactifs nécessaires (embouts, autres dispositifs ScreenTape) sont affichés dans le logiciel TapeStation. S'assurer que le matériel et les réactifs requis sont adéquats.
- Mélanger les réactifs et les échantillons à l'aide d'un vortex. Centrifuger brièvement avant utilisation.

Préparer l'échelle de poids moléculaire

- Pipeter 5 µL de tampon d'échantillon ARN et 1 µL de l'échelle de poids moléculaire ARN en position A1 dans une barrette de tubes reposant sur un support pour tubes de 100uL ou de la plaque 96 puits le cas échéant.

Préparer les échantillons

- Pour chaque échantillon, pipeter 5 µL de tampon d'échantillon ARN et 1 µL d'échantillon d'ARN dans une barrette de tubes ou une plaque d'échantillons à 96 puits.
- Appliquer des capuchons sur les barrettes de tubes et/ou des pellicules scellantes sur les plaques d'échantillons à 96 puits.
- Mélanger les liquides à 2 000 rpm pendant 1 minute avec l'agitateur vortex IKA MS3 muni de l'adaptateur de plaque à 96 puits.
- Centrifuger brièvement les échantillons et l'échelle de poids moléculaire pendant 1 minute.
- Dénaturation des échantillons et de l'échelle de poids moléculaire :
 - Chauffer les échantillons et l'échelle de poids moléculaire à 72 °C (162 °F) pendant 3 minutes.
 - Placer les échantillons et l'échelle de poids moléculaire sur la glace pendant 2 minutes.
 - Centrifuger brièvement les échantillons et l'échelle de poids moléculaire pendant 1 minute.

Analyse des échantillons

- Charger les échantillons dans l'instrument TapeStation. S'assurer de placer l'échelle de poids moléculaire en position A1 dans le support pour les barrettes de tubes de l'instrument ou la plaque de 96 puits
- Retirer délicatement les capuchons des barrettes de tubes. Confirmer visuellement que le liquide est positionné au fond.
- Fermer le couvercle de l'appareil
- Cliquer sur Démarrer (Start) dans le logiciel et suivre les instructions apparaissant à l'écran.
- Le logiciel TapeStation Analysis s'ouvre automatiquement après l'analyse et affiche les résultats.

Évaluation de la qualité de l'ARN

7.2.2 Évaluation de la qualité de l'ARN avec le test ScreenTape ARN haute sensibilité sur un système TapeStation

Préparer l'exécution

- Laisser le tampon d'échantillon ARN haute sensibilité s'équilibrer à température ambiante pendant 30 minutes.
- Décongeler l'échelle de poids moléculaire ARN haute sensibilité et les échantillons d'ARN total sur la glace.
- Lancer le logiciel de contrôle Agilent TapeStation.
- Taper légèrement sur le dispositif ScreenTape ARN et l'insérer dans le réceptacle du ScreenTape de l'appareil TapeStation.
- Sélectionner les positions requises pour vos échantillons dans le logiciel de contrôle TapeStation.
- À titre informatif, les consommables et quantité de réactifs nécessaires (embouts, autres dispositifs ScreenTape) sont affichés dans le logiciel TapeStation. S'assurer que le matériel et les réactifs requis sont adéquats.
- Mélanger les réactifs et les échantillons à l'aide d'un vortex. Centrifuger brièvement avant utilisation.

Préparer l'échelle de poids moléculaire

- Préparer la solution diluée de l'échelle de poids moléculaire en ajoutant 10 µL d'eau exempte de RNase au tube pour l'échelle de poids moléculaire ARN haute sensibilité et bien mélanger.
- Pipetter 1 µL de tampon d'échantillon ARN haute sensibilité et 2 µL de l'échelle de poids moléculaire diluée ARN haute sensibilité à la position A1 dans une barrette de tubes ou de la plaque 96 puits.

Préparer les échantillons

- Pour chaque échantillon, pipeter 1 µL de tampon d'échantillon ARN haute sensibilité et 2 µL d'échantillon d'ARN dans une barrette de tubes ou une plaque d'échantillons à 96 puits.
- Appliquer des capuchons sur les barrettes de tubes et/ou des pellicules scellantes sur les plaques d'échantillons à 96 puits.
- Mélanger les liquides à 2 000 rpm pendant 1 minute avec l'agitateur vortex IKA MS3 muni de l'adaptateur de plaque à 96 puits.
- Centrifuger brièvement les échantillons et l'échelle de poids moléculaire pendant 1 minute.
- Dénaturation des échantillons et de l'échelle de poids moléculaire :

Évaluation de la qualité de l'ARN

- Chauffer les échantillons et l'échelle de poids moléculaire à 72 °C (162 °F) pendant 3 minutes.
- Placer les échantillons et l'échelle de poids moléculaire sur la glace pendant 2 minutes.
- Centrifuger brièvement les échantillons et l'échelle de poids moléculaire pendant 1 minute.

Analyse des échantillons

- Charger les échantillons dans l'instrument TapeStation. S'assurer de placer l'échelle de poids moléculaire en position A1 sur un support pour barrette de tubes ou la plaque à 96 puits.
- Retirer soigneusement les capuchons des barrettes de tubes. Confirmer visuellement que le liquide est positionné au fond.
- Fermer le couvercle de l'appareil
- Cliquer sur Démarrer (Start) dans le logiciel et suivre les instructions apparaissant à l'écran.
- Le logiciel TapeStation Analysis s'ouvre automatiquement après l'analyse et affiche les résultats.

Pour plus d'informations sur l'utilisation des systèmes TapeStation 4200 et 4150 pour évaluer la qualité de l'ARN, reportez-vous à la section 8.2.

8.0 RÉFÉRENCES, RÈGLEMENTS ET LIGNES DIRECTRICES

8.1 Évaluation de la qualité – ARN à l'aide du système de bioanalyseur Agilent 2100

- Guide de consultation rapide Agilent RNA 6000 Nano
https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/RNA-6000-Nano_QSG.pdf
- **Guide de consultation rapide Agilent RNA 6000 Pico**
https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/RNA-6000-Pico_QSG.pdf
- Évaluation simplifiée du DV₂₀₀ avec le système de bioanalyseur Agilent 2100 :
<https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/5991-8287EN.pdf>

8.2 Évaluation de la qualité – ARN à l'aide du système TapeStation Agilent 4200 ou 4150

Évaluation de la qualité de l'ARN

- Guide de consultation rapide Agilent pour les tests ScreenTape ARN pour les systèmes TapeStation:
https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/RNA_QuickGuide.pdf
- Guide de consultation rapide Agilent pour les tests ScreenTape ARN haute sensibilité pour les systèmes TapeStation:
https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/HS-RNA_QuickGuide.pdf
- Contrôle-qualité standardisé des échantillons d'ADN et d'ARN :
https://www.agilent.com/cs/library/posters/public/Copy%20of%20Standardized_DNA_RNA_sample_quality_control_PR7000-1612_poster_Agilent.pdf
- Performance des tests ScreenTape ARN et ScreenTape ARN haute sensibilité pour le système TapeStation 4150 :
https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/technicaloverview-rna-hisens-rna-ScreenTape-performance_5994-1038en-agilent.pdf
- Évaluation du DV₂₀₀ avec les tests ScreenTape ARN:
<https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/5991-8355EN.pdf>

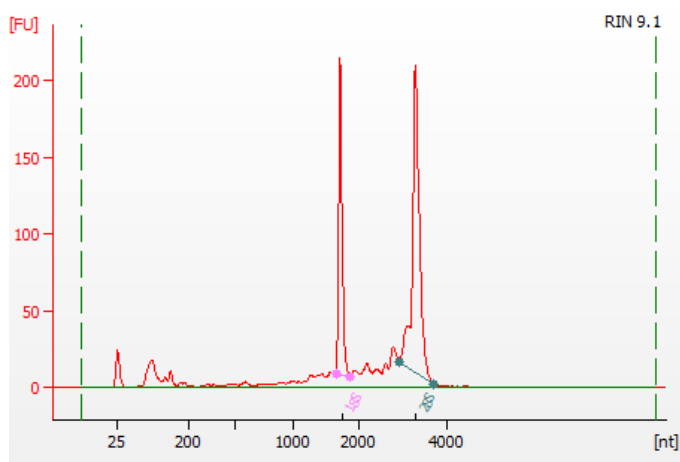
9.0 ANNEXES

9.1 Annexe A – Interprétation des résultats d'échantillons d'ARN analysés sur un système bioanalyser 2100 avec le RIN

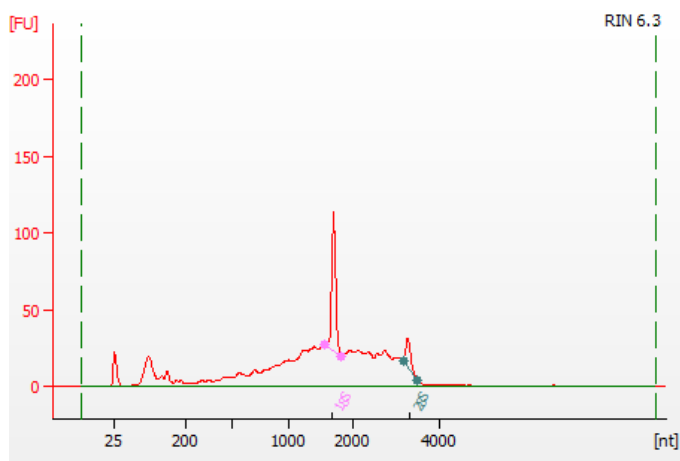
Vous trouverez ci-dessous des diagrammes affichant un ARN de haute qualité, un ARN partiellement dégradé et un ARN fortement dégradé.

A. Électrophérogramme montrant un ARN de haute qualité (RIN 9.1). L'ARN de haute qualité se caractérise par des pics 28S et 18S clairs, un faible bruit entre les pics et des quantités minimales de matériel de faible poids moléculaire.

Évaluation de la qualité de l'ARN

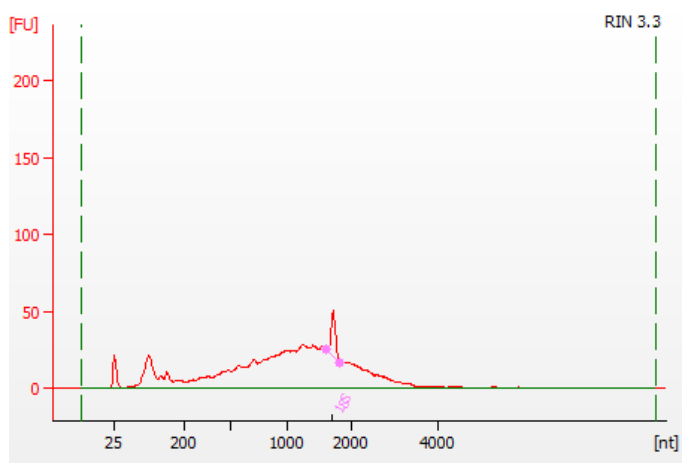


B. Électrophérogramme montrant un ARN de qualité inférieure (RIN 6.3). Le pic 28S est presque entièrement dégradé et une large bosse contenant de l'ARN dégradé est présente entre les pics ribosomiques et en dessous du pic 18S.



Évaluation de la qualité de l'ARN

C. Électrophérogramme montrant un ARN de faible qualité (RIN 3.3). La faible intégrité de l'ARN est caractérisée par l'absence du pic 28S et la dégradation du pic 18S. Du matériel d'ARN plus fragmenté est présent en dessous du pic 18S.



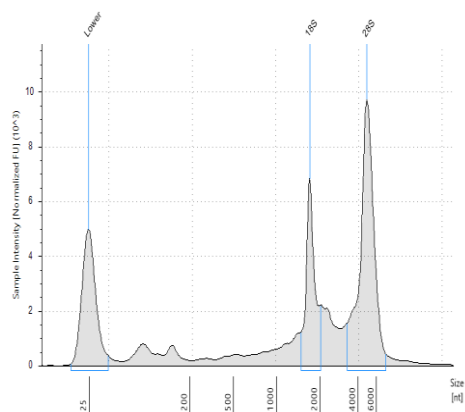
9.2 Appendix B – Interprétation des échantillons d'ARN analysés sur un système TapeStation avec le RIN®

Vous trouverez ci-dessous des diagrammes affichant un ARN de haute qualité et un ARN hautement dégradé.

A. Électrophérogramme montrant un ARN intact avec un RIN® de 9.1

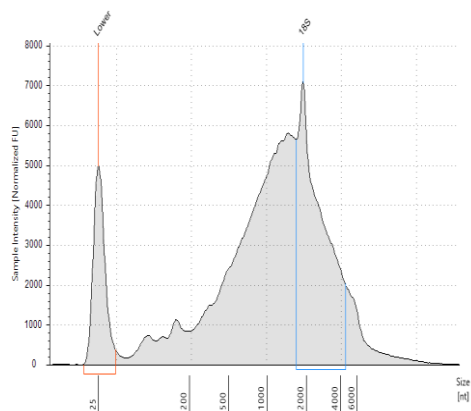
L'ARN intact est caractérisé par des pics 28S et 18S clairs et une quantité minimale de fragments de faible poids moléculaire.

Évaluation de la qualité de l'ARN



B. Électrophérogramme montrant un ARN dégradé avec un RIN^e de 3.5

Le pic 28S est dégradé en fragments d'ARN plus petits. L'ARN dégradé se caractérise par une augmentation de fragments de faible poids moléculaire.



10.0 HISTORIQUE DES RÉVISIONS

PNF numéro	Date révisée	Auteur	Sommaire des révisions
05.003 f1.0	2024	KLD	Version initiale