

Charte de fonctionnement de PACeM

PACeM (Plate-forme d'Analyse Cellulaire et Moléculaire) est une plate-forme de la SFR ICAT 4208 gérée par l'Université d'Angers.

1- Services proposés

Cytométrie en flux : analyse et tri cellulaire.

Biologie moléculaire : extraction et purification d'ADN et d'ARN, électrophorèse, dosage, PCR en temps réel et en point final, séquençage d'ADN.

Activité lentivirus : clonage moléculaire de vecteurs lentiviraux, amplification/production de plasmides, production de particules lentivirales, infections de lignées cellulaires.

Pour toutes les techniques, PACeM propose des services allant de la mise à disposition du matériel à la réalisation complète des expériences.

2- Equipements disponibles :

a) Analyse cellulaire :

Cytométrie en flux

- ✓ deux cytomètres analyseurs 3 lasers (violet 405 nm, bleu 488 nm et diode laser rouge 633 nm) pouvant analyser jusqu'à 8 couleurs (FacsCanto, BD Biosciences ; MacsQuant, Miltenyi).
- ✓ deux cytomètres analyseurs 2 lasers (laser bleu 488 nm et diode laser rouge 633 nm) pouvant analyser jusqu'à 4 couleurs (FacsCalibur, BD Biosciences), dont un se trouvant au sein de la plateforme PRIMEX.
- ✓ un cytomètre trieur haute vitesse 2 lasers (laser bleu 488 nm et diode laser rouge 633 nm) pouvant analyser jusqu'à 7 couleurs (FacsAria II, BD Bioscience). Vitesse de tri maximum : 20000 cellules/seconde. Tri en 2 à 4 voies, module de clonage.

Analyse microscopique :

- ✓ BD Pathway (BD Biosciences), microscope confocal automatisé.

Analyse mitochondriale :

- ✓ Analyseur de l'activité mitochondriale (XF-96, SeaHorse)

b) Biologie moléculaire :

- ✓ quatre appareils PCR en temps réel (trois au format plaque 96 puits et un au format plaque 384 puits) (deux Chromo 4, Bio-Rad ; deux Light Cycler 480, Roche)
- ✓ robot pipetteur (epMotion 5075, Eppendorf)
- ✓ spectrophotomètre (NanoDrop 2000, Thermo Scientific)
- ✓ système automatique d'électrophorèse d'ADN, ARN, protéines (Experion, Bio-Rad)
- ✓ séquenceur d'ADN capillaire (CEQ 8000, Beckman Coulter)
- ✓ broyeur de tissu (Ultra Turrax T25, Janke and Kunkel)
- ✓ Ultra centrifugeuse (Beckman)
- ✓ Lecteur ECL pour Western-blot (LAS 4000, GEHealthcare)

Pour la technique de PCR quantitative, PACeM développe à façon des amorces spécifiques de gènes d'intérêt. Le développement et la validation de nouvelles amorces est à la charge de PACeM et celles-ci entrent ensuite dans un catalogue disponible pour

l'ensemble des utilisateurs. Les séquences sont confidentielles (consulter le personnel PACeM pour les options concernant les séquences).

3- Modalités d'accès

- ✓ Les appareils sont accessibles en autonomie pour les personnes formées, les pièces concernées sont les n°3207 (cytométrie) et n°3246 (PCR quantitative).
- ✓ Chaque nouvel utilisateur devra remplir une fiche "demande d'accès PACeM nouvel utilisateur" et devra préalablement être formé par le personnel de PACeM ou une personne habilitée désignée par le personnel de PACeM.
- ✓ Pour la cytométrie en flux : le personnel de PACeM réalise les tris pour l'utilisateur. Toutefois, en cas d'utilisation prolongée et répétée, l'utilisateur peut être formé et utiliser le trieur en autonomie.
- ✓ Pour la PCR en temps réel : il est nécessaire de demander l'accès aux amorces du catalogue avant utilisation.
- ✓ L'accès aux pièces de bactériologie (n°4118) et de biologie moléculaire (n°3220) se fait après demande auprès du personnel PACeM.
- ✓ Toute demande de lentivectorologie doit se faire auprès de Sébastien Boni.

4- Réservation

Les créneaux d'utilisation des appareils se réservent soit sur place (IRIS 2^e étage, labo 3207 et 3246 sur le cahier prévu à cet effet, soit par téléphone au 02 44 68 84 34, soit par email à catherine.guillet@univ-angers.fr et/ou jerome.cayon@univ-angers.fr

5- Jours et horaires d'ouverture

Le service est ouvert du lundi au vendredi de 9h à 18h. En dehors de ces horaires ou en cas d'absence des personnels de PACeM, une demande spécifique doit leur être adressée préalablement (voir contacts page 3).

6- Règles d'utilisation des appareils

Tout utilisateur s'engage à :

- suivre les procédures d'utilisation et de nettoyage spécifiques pour chaque appareil.
- laisser les appareils propres après usage.
- avertir le personnel de PACeM pour tout problème technique.

7- Hygiène et sécurité

Les utilisateurs doivent fournir toutes les informations utiles quant aux éventuels risques biologiques ou chimiques liés à leurs échantillons (nature des échantillons, des colorants, des marqueurs, etc). Ils doivent se rapprocher du personnel de PACeM pour l'utilisation des pièces qui ressortent d'un confinement L2, L3 et L2 PRIMEX.

8- Stockage des données

PACeM n'assure pas le stockage des données à long terme. Il appartient à chacun de récupérer ses données régulièrement. Les données de plus de 6 mois seront effacées pour ne pas saturer le système informatique.

9- Publications

PACeM et les personnes de PACeM impliquées seront cités dans les remerciements de toute publication, communication écrite ou orale de travaux ayant fait appel à la plate-forme.

Dans le cas où le projet implique techniquement et/ou intellectuellement le personnel de PACeM, celui-ci sera associé au rang des auteurs de la publication. Toute publication de travaux réalisés sur la plate-forme sera communiquée au personnel de PACeM.

10- Tarification

L'utilisation des appareils et les prestations sont soumises à une tarification selon la grille validée au conseil de la SFR ICAT 4208 et au conseil d'administration de l'Université d'Angers. Un devis pourra être établi pour chaque prestation demandée.

Après lecture du document, l'utilisateur et le responsable scientifique du projet s'engagent à respecter la charte de fonctionnement de PACeM.

Contacts :

Plateforme PACeM
Batiment IBS-IRIS
CHU Angers
4, rue Larrey
49933 Angers cedex 09

Site web :
<http://www.icat4208.univ-angers.fr/fr/acces-direct/plateformes/pacem-analyse-cellulaire-et-moleculaire.html>

Responsable de la plateforme PACeM :
Emmanuel Garcion – Tel : 02.44.68.85.43 – emmanuel.garcion@univ-angers.fr

Ingénieur d'étude en charge de la cytométrie en flux :
Catherine Guillet – Bureau n°3227 – Tel : 02.44.68.84.34 – catherine.guillet@univ-angers.fr

Ingénieur d'étude en charge de la PCR Quantitative :
Jérôme Cayon – Bureau n°3227 – Tel : 02.44.68.85.75 – jerome.cayon@univ-angers.fr