

Puce à ADN



Coût*

* aucune donnée disponible
quant au coût

Délai

2 jours*

*délai de réponse du laboratoire :
8 à 15 jours ouvrés

Fiabilité

4*

*établie selon une échelle relative
en fonction des autres techniques

INCONVÉNIENTS AVANTAGES

- Analyse d'une grande quantité d'information génétique simultanément (une centaine d'espèces différentes sur une même puce)

- Nécessite la fabrication des puces et l'accès à un scanner

PRINCIPE

Le principe à la base des puces à ADN repose sur de l'hybridation. Quatre étapes sont à distinguer : la fabrication de la puce, la préparation de la cible, l'hybridation et la lecture.

FABRICATION DE LA PUCE

La puce est constituée d'une surface solide, généralement du verre, recouverte de polylysines, molécules capables de fixer des fragments d'ADN (sondes). Chaque sonde correspond à une séquence d'ADN spécifique d'un gène donné et caractéristique d'une espèce recherchée. Les copies d'une même sonde sont déposées, *via* des interactions électrostatiques, sous forme de « spot », à des emplacements précis sur la puce. Les sondes sont ensuite dénaturées afin que leurs fragments d'ADN se retrouvent sous forme simple brin et soient en mesure de capter leur brin complémentaire (cible) présent dans l'échantillon à analyser. Les molécules de polylysines, en périphérie des spots, n'ayant pas reçu d'ADN lors de cette étape de fabrication, sont bloquées afin d'empêcher qu'elles ne captent des cibles, lors de l'analyse de l'échantillon, et qu'elles ne faussent la lecture du résultat.

PREPARATION DE LA CIBLE

Les ARN extraits de l'échantillon à analyser sont transformés en ADNc par transcription inverse. L'ADN ainsi formé est marqué par un fluorochrome en vue de sa révélation une fois fixé à une sonde de la puce.

HYBRIDATION

Les ADN marqués sont placés sur la puce qui est mise à incuber à 60°C pendant une nuit. Dans ces conditions, les brins d'ADN simple brin constituant les cibles et marqués au fluorochrome sont en mesure de s'apparier avec leurs sondes complémentaires présentes sur la puce et de former de l'ADN double brin.

LECTURE

Les spots sont excités par un laser et la fluorescence émise est visualisée *via* un photo-multiplicateur (PMT) couplé à un microscope confocal. Une image, dont le niveau de gris représente l'intensité de la fluorescence lue, est obtenue. En fonction du ou des spots présentant une fluorescence, il est possible de déterminer quels micro-organismes sont présents.

POUR INFORMATION

Depuis leur apparition en 1995, les puces à ADN ont connu une forte évolution. Désormais des milliers d'articles scientifiques sont publiés à leur sujet chaque année, et ce nombre ne cesse d'augmenter.