



Conserver vos acides nucléiques à température ambiante, sur le court comme le long terme, n'est plus une utopie !

Par IMAGENE : contact@imagine.fr - www.imagine.fr

Il y a bientôt trois ans, le 12 avril 2010, la société IMAGENE a publié un article de référence dans la revue *Nucleic Acids Research*, sur la conservation de l'ADN à température ambiante (www.imagine.fr/actupresse/publications). Ce texte est une synthèse de recherches commencées il y a plus de douze ans par IMAGENE, en collaboration avec l'Université de Bordeaux sur l'évolution de l'ADN conservé à sec. Transférés depuis au stade industriel, les résultats de ces travaux ont abouti à une innovation majeure dans le domaine de la préservation des échantillons biologiques et notamment des acides nucléiques (ADN et ARN) : les minicapsules DNAShell® et RNAShell®. Le procédé est désormais parfaitement validé ; son industrialisation a été réalisée avec succès, et sa plate-forme technologique dédiée est commercialisée par la société IMAGENE, parallèlement au développement d'une offre de services de grande qualité (cf notre article paru en janvier 2013).

Gros plan sur cette technologie originale qui révolutionne la conservation de vos acides nucléiques !

Une solution pour pallier aux coûts et risques de la conservation des échantillons à froid.

Contrairement aux technologies d'analyse et d'utilisation de l'ADN, les méthodes de conservation conventionnelles ont peu évolué ces dernières années et recourent encore essentiellement au stockage à froid (de -20°C à -80°C). La dégradation de l'ADN est alors ralentie, mais plusieurs limitations majeures persistent : les procédures sont difficilement automatisables et les manipulations, compliquées par la nécessité de maintenir une température négative. Les congélateurs utilisés sont encombrants et les coûts en équipement, énergie et maintenance sont lourds, sans pour autant s'affranchir totalement des risques de dégradation, de contamination croisée ou de perte, en cas de dysfonctionnement matériel.

La conservation à température ambiante de l'ADN – et plus généralement des acides nucléiques – se présente comme une solution idéale pour pallier les coûts et les risques du stockage à froid, et ce d'autant plus devant l'explosion du nombre d'échantillons concernés. De fait, plusieurs procédés fondés sur cette voie sont actuellement proposés à la commercialisation, mais si leur mise en application est effectivement possible, certaines conditions doivent être impérativement respectées, comme le montre entre autres conclusions, l'article : « *Chain and conformation stability of solid-state DNA* :

implications for room temperature storage », publié dans la revue *Nucleic Acids Research* par l'équipe de scientifiques du laboratoire de recherche d'IMAGENE.

D'après ces résultats, il apparaît en effet clairement que l'ADN sec ne peut pas être conservé à l'air à moyen et long terme en raison de deux principaux phénomènes de dégradation : l'hydrolyse et l'oxydation du fait de l'agression de l'eau et de l'oxygène atmosphériques ou encore de la lumière. Inversement, le travail d'IMAGENE montre aussi, que protégé de ces éléments, l'ADN se révèle, sur le plan chimique et conformationnel, d'une extrême stabilité : sa durée de vie peut être considérée comme illimitée à l'échelle humaine.

L'objectif premier pour une conservation parfaite de l'ADN (ou de l'ARN) est donc d'éviter tout contact avec l'air. Mais la nature polymérique des tubes ou des bouchons universellement utilisés pour le stockage en biologie ne permet pas de garantir une étanchéité parfaite vis à vis de l'air comme de l'humidité. L'équipe IMAGENE a donc développé et breveté au niveau mondial les capsules DNAShell® et RNAShell®, offrant une étanchéité rigoureuse pour préserver l'ADN et l'ARN de tout facteur d'altération.

Pour la conservation et la protection des génotypes de toutes espèces, sur de courtes comme de très longues périodes

La technologie IMAGENE se base sur le conditionnement étanche des molécules d'ADN et d'ARN extraites, sous métal inoxydable, en atmosphère inerte. Les minicapsules DNAShell® et RNAShell® mises au point à cet effet sont assemblées à partir d'un insert en verre, d'un étui et d'un bouchon en inox hermétiquement scellés. Un code 2D DataMatrix gravé au laser identifie chaque minicapsule et garantit une traçabilité permanente et inviolable des acides nucléiques.

Le procédé permet alors la conservation à température ambiante de l'intégralité de l'information génétique sous une forme compatible avec tout type d'analyses, sur de courtes comme de très longues périodes. Cette technologie, qui a fait l'objet de brevets mondiaux, a permis à IMAGENE de développer la plate-forme et l'organisation nécessaires à l'obtention, la conservation et la protection de génotypes de toutes espèces (humain, animal, végétal, microorganisme).

Un processus rigoureusement contrôlé en environnement anoxique et anhydre

Les nouvelles installations d'IMAGENE pour

la préparation et l'encapsulation des acides nucléiques à grande échelle, basées sur le Genopole® Evry, intègrent les technologies les plus avancées en robotique de biologie, en automation industrielle, en micro soudage et marquage laser, traçabilité et logiciel d'entreprise. Les opérations se passent dans une enceinte de confinement garantissant un environnement anoxique et anhydre. Les portoirs de minicapsules DNAShell® et RNAShell® (de type microplaques 96 puits au format SBS) y sont introduits par un sas sous gaz neutre purifié pour éliminer toute trace d'air ambiant et équilibrer avec l'atmosphère interne de l'enceinte.

L'ouverture ainsi que le cycle sont automatisés de telle sorte qu'un nouveau portoir puisse être introduit et rester en attente alors que la production se déroule à l'intérieur de l'enceinte sur le précédent. Le robot déplace alors les capsules sur les différents postes : lecture du code Datamatrix, prise du bouchon, enfoncement du bouchon, puis soudage des capsules et test d'étanchéité. Le tout fonctionne en conformité avec les impératifs de l'Assurance Qualité (ISO 9001 :2000) et du Système de Management de la Qualité (ISO 17025).

Ainsi, après contrôle à réception de vos échantillons et étiquetage, IMAGENE procède tout d'abord à une analyse quantitative et qualitative de l'ADN selon trois mesures (mesure de l'absorbance, mesure de l'émission de fluorescence et migration électrophorétique sur gel d'agarose non dénaturant). S'en suit l'aliqutage de l'ADN, selon une opération entièrement automatisée. La solution d'ADN est répartie en déposant un volume précis dans les inserts en verre eux-mêmes placés dans les étuis des minicapsules métalliques inoxydables DNAShell® et RNAShell®.

Les échantillons d'acides nucléiques sont ensuite soumis à un cycle de dessiccation sous vide dans un évaporateur rotatif, puis sont placés sous argon anhydre afin de supprimer toute trace d'oxygène et d'humidité. Suit ensuite l'étape d'encapsulation ; les mini-capsules sont scellées hermétiquement par soudage laser pulsé pour assurer une parfaite étanchéité. Cette technique, inspirée de l'industrie automobile, où elle est utilisée pour les cartouches d'airbags, permet dans le cas de la production de DNAShell® et RNAShell®, d'éviter toute élévation de température susceptible d'affecter le matériel biologique.

Avant de changer de portoir, le robot procède à un test rigoureux d'étanchéité à l'hélium. Chaque mini-capsule est soumise à un contrôle unitaire par spectrométrie de masse afin de détecter toute micro-fuite éventuelle. Un second marquage alphanumérique est enfin effectué au laser, reprenant le code

Datamatrix en clair et l'éventuel code de l'échantillon demandé par le client, puis les portoirs de mini-capsules d'ADN sont emballés et livrés par IMAGENE.

Précisons que l'ouverture ultérieure des minicapsules DNAShell est réalisée très simplement à l'aide des désencapsuleurs de paillasse ou jetables fournis par IMAGENE. L'ADN est ensuite remis en solution et récupéré par pipetage, pour analyse : une simple réhydratation suffit...

Sécurité, traçabilité, inviolabilité, compacité, coût réduit et environnement préservé : des atouts décisifs !

Comme nous l'expliquions dans notre précédent reportage (janvier 2013), les atouts des mini-capsules DNAShell® et RNAShell®, comparés aux méthodes conventionnelles de conservation par le froid, sont nombreux :

→ **Stabilité et sécurité** : la technologie IMAGENE garantit une parfaite conservation des structures primaires et secondaires de l'ADN à l'état sec et à température ambiante, sur une durée pratiquement illimitée à l'échelle humaine. Pour l'ARN les travaux ont donné lieu à plusieurs communications orales et un article sera publié cette année. A ce jour, toutes les données montrent que l'ARN, ainsi conservé, présente une grande stabilité (1 coupure par siècle tous les 1000 nucléotides).

→ **Ergonomie optimisée et conditionnement simplifié** : les mini-capsules DNAShell® et RNAShell® sont conditionnées sur des portoirs de type microplaques 96 puits au format standard SBS. Une pile de 10 plaques x 96 représentant 960 échantillons tient sur un bout de paillasse. Une armoire de rangement automatisée de 3 m² permet la conservation de 300 000 échantillons ! ce qui peut correspondre à une dizaine de congélateurs ! Le stockage est ainsi possible au plus près de vos activités, et non plus dans une pièce dédiée aux congélateurs. Le transport et la distribution s'en trouvent eux-aussi largement facilités, sans nécessiter l'utilisation de carbo-glace !

→ **Inviolabilité et traçabilité** : les DNAShell® et de RNAShell® scellées par soudage laser offrent une sécurité totale, sans risque d'ouverture ni de mélange accidentel. Elles permettent également une traçabilité complète grâce à la lecture du code 2D Data matrix infalsifiable, gravé sous chaque capsule. L'ensemble des données liées aux échantillons et aux contrôles qualités effectuées après extraction ou avant encapsulation sont enregistrées dans un LIMS (*Laboratory Information Management System*) développé spécifiquement pour IMAGENE.

→ **Des coûts de fonctionnement réduits et totalement maîtrisés, et l'environnement préservé**, grâce à la conservation des acides nucléiques à température ambiante, sans consommation d'énergie ni de fluides tels que l'azote liquide, sans frais d'entretien ni de surveillance et sans dispositifs de stockage de sécurité en cas de panne électrique. La conservation fiable et pérenne des acides nucléiques n'est donc plus sujette aux aléas budgétaires des mois et des années à venir, et l'argent économisé peut être utilisé à meilleur escient...

Plus de sécurité lors de la pesée dans des lieux réglementés : nouvelle balance de laboratoire Secura

Par Sartorius – www.sartorius.com

La nouvelle balance de laboratoire Secura de Sartorius a été conçue pour une utilisation dans des lieux réglementés tels que les laboratoires pharmaceutiques et satisfait ainsi des exigences de sécurité particulièrement élevées. La balance contrôle automatiquement ses conditions environnementales et évite ainsi les erreurs de manipulation.

LevelControl, l'aide pour la mise à niveau
La mise à niveau exacte d'une balance fait partie de chaque contrôle des instruments de mesure et est une condition préalable pour obtenir des valeurs exactes. Le capteur électronique Level-control surveille que la mise à niveau de la balance Secura a été correctement effectuée. En cas de mise à niveau incorrecte, il avertit par des messages affichés à l'écran et bloque la transmission des résultats. Lors de la mise à niveau, des instructions claires s'affichent à l'écran et guident l'utilisateur facilement et en toute sécurité. Ainsi, les employés du

laboratoire peuvent mettre la balance Secura de Sartorius facilement à niveau sur des postes de sécurité ou des cabines de pesée sécurisées, sans devoir ouvrir l'espace protégé.

Calibrage automatique grâce à isoCAL
Même les petites variations de température dans le laboratoire affectent de manière significative la reproductibilité des résultats. Par conséquent, les balances doivent être régulièrement calibrées, dès que les conditions environnementales changent. La fonction de calibrage et d'ajustement isoCAL de la balance Secura informe l'utilisateur dès qu'une limite de temps ou de température est dépassée et ajuste automatiquement la balance avec les poids internes. Chaque ajustement est consigné pour une traçabilité parfaite pour l'assurance qualité.

Contrôle du poids minimal conformément aux directives USP
Chaque balance installée dans un lieu

réglementé doit remplir les exigences de la FDA (Food and Drug Administration, États-Unis). Par conséquent, les laboratoires pharmaceutiques doivent définir sur place le poids minimal conformément aux normes USP (loi américaine sur les médicaments) et ne doivent pas descendre en deçà. Les employés du service après-vente de Sartorius déterminent sur demande cette valeur minimale lors de la mise en service de la balance Secura et délivrent un certificat de poids minimum. La valeur s'affiche en permanence sur l'écran de la balance. Si elle n'est pas atteinte, un message d'avertissement s'affiche à l'écran et la balance Secura bloque l'impression et la transmission de la valeur.

Éviter les fausses manipulations
L'interface utilisateur de la balance Secura de Sartorius a été développée en collaboration avec des utilisateurs expérimentés. L'écran tactile de la balance Secura affiche les applications de pesée sous forme d'icônes



La nouvelle balance de laboratoire Secura de Sartorius

clairement compréhensibles. Ainsi, même un utilisateur non formé à l'utilisation de la balance peut en démarrer n'importe quel programme du bout du doigt sans avoir besoin de lire le manuel au préalable. La balance Secura affiche uniquement les informations nécessaires. La différence de couleurs des champs d'informations et d'actions empêche quasiment toute erreur de manipulation. Les paramètres qui modifient la sortie des données ou la configuration de pesée de la balance Secura peuvent être protégés par un mot de passe, de sorte que seul le personnel autorisé puisse les effectuer.