

## Comment saisir un protocole ?

On peut exploiter un marqueur dans différentes conditions: avec différents couples de primers, dans différentes conditions PCR (température, concentration de MgCl<sub>2</sub> et de primers, nombre de cycles, etc. ...). Le protocole permet de décrire une combinaison de ces différents éléments qui permet l'exploitation d'un marqueur. Il est possible de stocker plusieurs protocoles si le marqueur est testé dans différentes conditions. Gemma propose plusieurs façons de travailler mais un seul sera courant.

- en mode classique avec saisie à l'écran
- en important des données si ces dernières sont déjà stockées dans des fichiers (utile si beaucoup d'information).

## Comment saisir un protocole à l'écran ?

Menu "Marqueur" - Sous menu "Nouveau protocole"

En saisie manuelle, il est intéressant de créer un nouveau marqueur en utilisant l'option "Nouveau Protocole" car l'ensemble des informations concernant le marqueur seront créées de façon successive :

- info "Marqueur" (Nouveau Marqueur)
- info "Primer" (Nouveau Primer)
- info "Condition PCR" (Nouvelle Condition PCR)

**PROTOCOLE EXPERIMENTAL**

Marqueur: MARQUEUR1      Protocole N° 1143

Primer 1: MARQUEUR1/1      Couple N° 914

Primer 2: MARQUEUR1/2

Condition N° 161      Enregistrer condition

T° Annealing 80      Nb Cycles 25

Qté ADN (ng) 50      Mg Cl<sub>2</sub> (mM) 4

Qté Taq (U) 0,5      Primers (µM) 0,15

Marque Taq Proméga      Particularités

Voir notes      Voir particularités

Annuler      Enregistrer Protocole

Nouveau marqueur

Nouveau primer

Nouvelle condition PCR

Le numéro de protocole est calculé automatiquement

Le numéro du couple de primers est calculé automatiquement

Suivons la saisie d'un protocole pas à pas :

1. La première information à saisir est le "**Nom du Marqueur**". Si le marqueur n'existe pas, il vous propose de le créer (voir "[Comment créer un Marqueur](#)").
  
1. Il faut ensuite saisir le "**Couple de primers**"
  - a) S'il s'agit d'un nouveau couple, il suffit de saisir le nom des deux primers pour que GEMMA indique le numéro de ce nouveau couple qui sera enregistré uniquement lors de l'enregistrement du protocole. Autrement dit, pour créer un couple, il faut créer UN PROTOCOLE. Si le primer n'existe pas, il vous informe qu'il va le créer (voir "[Comment créer Primer](#)")
  - b) Si le couple existe déjà, on peut saisir soit le nom des deux primers (le numéro de couple est automatiquement indiqué), soit son numéro (les noms des deux primers sont automatiquement indiqués).
  
3. Puis il faut saisir la "**Condition PCR**" (voir "Comment créer une Condition PCR")
  - a) S'il s'agit d'une nouvelle condition, il suffit de saisir les paramètres pour que GEMMA affiche "nouvelle" à l'emplacement du numéro de la condition. A l'inverse de la saisie des couples, il faut alors de cliquer sur le bouton "**Enregistrer condition**" pour que la condition soit enregistrée indépendamment de l'enregistrement du protocole. Le bouton "**Voir notes**" permet de saisir des remarques sur la condition.
  - b) Si la condition existe déjà, on peut saisir soit son numéro (les paramètres sont automatiquement affichés), soit les paramètres (le numéro est automatiquement affiché).

Pas clair :

*Lors de la saisie ou de la modification d'un marqueur, il est possible de créer un protocole particulier: LE PROTOCOLE NON GÉRÉ (bouton Création d'un protocole non géré). La création d'un protocole non géré entraîne la création d'un couple non géré. Ce protocole particulier permet de prendre en compte des typages réalisés sans protocole expérimental (typages importés ou phénotypes de gènes majeurs). Si on saisi le premier allèle tel qu'il est proposé c'est à dire ND allèle = Taille = Taille brute (Cf Saisie des allèles), le protocole devient définitivement un protocole non géré. Ainsi, lors de la saisie des allèles suivants pour ce protocole, il n'est plus possible de saisir une taille.*

*Deux événements peuvent alors transformer ce protocole non géré en un protocole normal :*  
1) la saisie du premier allèle avec une taille différente du ND de l'allèle (voir saisie des

allèles)

2) la saisie des deux primers lors de la modification du couple non géré associé (Menu Marqueur -Modifier Protocole)

*Remarque : Pour un protocole donné, il est possible de saisir un couple de primers, et de ne pas saisir de ND de condition (c'est à dire d'utiliser la condition '0'). Ce protocole sera alors géré.*

Attention : à un instant donné, **pour chaque marqueur, il existe un protocole courant** décrivant les conditions courantes dans lesquelles on utilise le marqueur. Le "**protocole courant**" est le protocole qui permet de connaître le couple de primers utilisé et donc **les tailles des allèles** que l'on va observer sur le gel. Le premier protocole saisi pour un MARQUEUR devient par défaut le "**Protocole courant**". Si on désire changer de protocole courant, il suffit de créer le nouveau protocole s'il n'existe pas déjà puis de modifier le marqueur concerné (Menu Marqueur -Modifier Marqueur) en sélectionnant le protocole dans le menu déroulant "**Protocole courant**".

#### **Comment saisir plusieurs protocoles en utilisant un fichier ?**

Contrairement à la saisie manuelle d'un protocole, l'import des protocoles se fera en dernier.

Pré-requis :

- Avoir saisi les marqueurs.
- Avoir saisi les primers et les échantillons primers.
- Avoir créé les conditions PCR.

Saisir les couples de primers, le numéro de condition PCR et si le protocole est courant ou non dans un fichier Excel. Vous devez saisir un couple par ligne.

Si vous ne précisez pas la colonne "Courant", Gemma mettra automatiquement le protocole à courant.

Sauvegarder la feuille en format "Txt (séparateur=tabulation)".

**Remarque :** Vous pouvez utiliser le même fichier Excel pour stocker sur une feuille les marqueurs, sur une deuxième les primers et les échantillons primers et enfin sur une troisième feuille les couples de primers et les conditions PCR.

Dans Gemma,

- Cliquer sur "Utilisation Directe" dans le menu "Fichier"
- Cliquer sur "Import Couples Primers" dans le menu "Import données"
- Cliquer sur "Choisir Fichier"

Il est ensuite possible de choisir l'ordre des informations à importer (Primer1, Primer2, .etc.). Utilisez les "PopUp" pour faire votre choix. Le premier PopUp correspond à la première colonne, le deuxième à la seconde et ainsi de suite jusqu'au dernier. Pour vous aider, les premières lignes de votre fichier sont visualisées. Toutes les colonnes sont obligatoires sauf

"Courant".

L'ordre proposé par Gemma est "Primer1, Primer2, Condition PCR, Courant".  
Attention à l'ordre des primers, le premier primer sera le "Primer1" et le second le "Primer2".

**IMPORTER DES COUPLES DE PRIMERS**

**Fichier**

Le fichier doit être suffixé .bt

Sauvegarder le fichier Excel sous le format :

Texte (séparateur=tabulation)

**Données à importer**

Vous pouvez importer une ou plusieurs informations parmi les suivantes :

- Nom du Primer1 (20 caractères)*	- N° Condition PCR (Entier)*
- Nom du Primer2 (20 caractères)*	- Courant (Vrai ou Faux)

\* Donnée obligatoire et doit exister dans la base

Attention les deux Primers doivent faire référence au même Marqueur

Choisir le Fichier :

Choisir les données à importer :

Nom Primer1	Nom Primer2	Condition PCR	Courant
-------------	-------------	---------------	---------

MARQUEUR1A MARQUEUR1M 1 VRAI  
MARQUEUR2A MARQUEUR2M 1 VRAI  
MARQUEUR3A MARQUEUR3M 1 VRAI  
MARQUEUR4A MARQUEUR4M 1 VRAI  
MARQUEUR5A MARQUEUR5M 1 VRAI  
MARQUEUR6A MARQUEUR6M 1 VRAI  
MARQUEUR7A MARQUEUR7M 1 VRAI

**Que fait l'import de données ?**

Si le Couple de Primers n'existe pas, il est créé dans COUPLE et dans COUPLE\_PRIMER

Si Courant n'est pas spécifié, il est initialisé à Vrai

Si Couple Primers, N° Condition PCR existe déjà, le Protocole n'est pas créé

Si tout est Ok, il crée un nouveau Protocole et mets à jour le Protocole courant dans MARQUEUR

Cliquer sur le bouton "Importer" pour importer.

Que fait Gemma ?

- Il contrôle que les infos données existent :
  - o le Primer1 doit exister
  - o le Primer2 doit exister
  - o la condition PCR doit exister
- Qu'elles soient cohérentes :
  - o le marqueur dont fait référence chaque primer du couple doit être le même.
- Il ajoute si besoin est :
  - o un nouveau couple de primers si le couple "Primer1,Primer2" n'existe pas dans la base.
  - o un nouveau protocole si le protocole formé par le couple + la condition PCR n'existe pas dans la base.
- Mets à jour le protocole courant si Courant est à Vrai.
- Il affiche un compte rendu :

## Compte rendu de l'import des Couples de Primers

Couple Primer = 915 pour Primer1 = MARQUEUR1A Primer2 = MARQUEUR1B ajouté  
Protocole = 1144 pour Primer1 = MARQUEUR1A Primer2 = MARQUEUR1B Condition PCR = 1 ajouté  
Couple Primer = 916 pour Primer1 = MARQUEUR2A Primer2 = MARQUEUR2B ajouté  
Protocole = 1145 pour Primer1 = MARQUEUR2A Primer2 = MARQUEUR2B Condition PCR = 1 ajouté  
Couple Primer = 917 pour Primer1 = MARQUEUR3A Primer2 = MARQUEUR3B ajouté  
Protocole = 1146 pour Primer1 = MARQUEUR3A Primer2 = MARQUEUR3B Condition PCR = 1 ajouté  
Couple Primer = 918 pour Primer1 = MARQUEUR4A Primer2 = MARQUEUR4B ajouté  
Protocole = 1147 pour Primer1 = MARQUEUR4A Primer2 = MARQUEUR4B Condition PCR = 1 ajouté  
Couple Primer = 919 pour Primer1 = MARQUEUR5A Primer2 = MARQUEUR5B ajouté  
Protocole = 1148 pour Primer1 = MARQUEUR5A Primer2 = MARQUEUR5B Condition PCR = 1 ajouté  
Couple Primer = 920 pour Primer1 = MARQUEUR6A Primer2 = MARQUEUR6B ajouté  
Protocole = 1149 pour Primer1 = MARQUEUR6A Primer2 = MARQUEUR6B Condition PCR = 1 ajouté  
Couple Primer = 921 pour Primer1 = MARQUEUR7A Primer2 = MARQUEUR7B ajouté  
Protocole = 1150 pour Primer1 = MARQUEUR7A Primer2 = MARQUEUR7B Condition PCR = 1 ajouté  
Couple Primer = 922 pour Primer1 = MARQUEUR8A Primer2 = MARQUEUR8B ajouté  
Protocole = 1151 pour Primer1 = MARQUEUR8A Primer2 = MARQUEUR8B Condition PCR = 1 ajouté  
Couple Primer = 923 pour Primer1 = MARQUEUR9A Primer2 = MARQUEUR9B ajouté  
Protocole = 1152 pour Primer1 = MARQUEUR9A Primer2 = MARQUEUR9B Condition PCR = 1 ajouté  
Couple Primer = 924 pour Primer1 = MARQUEUR10A Primer2 = MARQUEUR10B ajouté  
Protocole = 1153 pour Primer1 = MARQUEUR10A Primer2 = MARQUEUR10B Condition PCR = 1 ajouté  
Primer2 = MARQUEUR10M n'existe pas  
Marqueur1 = MARQUEUR1 Marqueur2 = MARQUEUR2 Problème  
Condition PCR = 199 n'existe pas  
Nombre de Couples de Primers ajoutés = 10  
Nombre de Protocoles ajoutés = 10

NB : Le texte est dans le Presse-Papiers

Imprimer

OK

Dans notre exemple, il a détecté les erreurs suivantes :

- Le primer "MARQUEUR10M" n'existe pas
- La Condition PCR "199" n'existe pas
- Le primer1 est un primer pour le marqueur "MARQUEUR1" et le primer2 est un primer pour le marqueur "MARQUEUR2".

Gemma a créé les couples de primers suivants :

Liste des couples							
10 fiches sélectionnées						08/08/2002	
No Couple	Nom Marqueur	Créateur	Créé le	Modif	Modifié le	Non Géré	
915	MARQUEUR1	DM	08/08/2002		00/00/00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
916	MARQUEUR2	DM	08/08/2002		00/00/00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
917	MARQUEUR3	DM	08/08/2002		00/00/00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
918	MARQUEUR4	DM	08/08/2002		00/00/00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
919	MARQUEUR5	DM	08/08/2002		00/00/00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
920	MARQUEUR6	DM	08/08/2002		00/00/00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
921	MARQUEUR7	DM	08/08/2002		00/00/00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
922	MARQUEUR8	DM	08/08/2002		00/00/00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
923	MARQUEUR9	DM	08/08/2002		00/00/00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
924	MARQUEUR10	DM	08/08/2002		00/00/00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Gemma a créé les protocoles suivants :

PROTOCOLES RECENCES DANS GEMMA														
10 fiches sélectionnées													08/08/2002	
Nom Marqueur	Protoc	Couple	Cond	Primer 1	Primer 2	T°	Parti.	Enzyme	Nb U	ADN (ng)	[Mg Cl2] mM	[Primers] µM	OK	NG
MARQUEUR1	1144	915	1	MARQUEUR1A	MARQUEUR1B	55	<input type="checkbox"/>	Proméga	0,5	50	4	0,15	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
MARQUEUR2	1145	916	1	MARQUEUR2A	MARQUEUR2B	55	<input type="checkbox"/>	Proméga	0,5	50	4	0,15	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
MARQUEUR3	1146	917	1	MARQUEUR3A	MARQUEUR3B	55	<input type="checkbox"/>	Proméga	0,5	50	4	0,15	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
MARQUEUR4	1147	918	1	MARQUEUR4A	MARQUEUR4B	55	<input type="checkbox"/>	Proméga	0,5	50	4	0,15	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
MARQUEUR5	1148	919	1	MARQUEUR5A	MARQUEUR5B	55	<input type="checkbox"/>	Proméga	0,5	50	4	0,15	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
MARQUEUR6	1149	920	1	MARQUEUR6A	MARQUEUR6B	55	<input type="checkbox"/>	Proméga	0,5	50	4	0,15	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
MARQUEUR7	1150	921	1	MARQUEUR7A	MARQUEUR7B	55	<input type="checkbox"/>	Proméga	0,5	50	4	0,15	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
MARQUEUR8	1151	922	1	MARQUEUR8A	MARQUEUR8B	55	<input type="checkbox"/>	Proméga	0,5	50	4	0,15	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
MARQUEUR9	1152	923	1	MARQUEUR9A	MARQUEUR9B	55	<input type="checkbox"/>	Proméga	0,5	50	4	0,15	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
MARQUEUR10	1153	924	1	MARQUEUR10A	MARQUEUR10B	55	<input type="checkbox"/>	Proméga	0,5	50	4	0,15	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Gemma a mis à jour le protocole courant au niveau des marqueurs (colonne Proto) :

Liste de marqueurs																
10 fiches sélectionnées															08/08/2002	
Nom Marqueur	Nb Ali.	PIC / FD	Nb FD	Chr.	In Situ	Pos.	Link HS	Origine	Statut	Proto	Taille Min Max	Joe Hex	Fam 6-F	Tamra Tet	Ned	Non Géré
MARQUEUR1	0	0,00	0	2	2p21 2p22	10	<input type="checkbox"/>	locare	52 PCR	1144		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MARQUEUR2	0	0,00	0	7		178	<input type="checkbox"/>	INRA	1 Abandon	1145		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MARQUEUR3	0	0,00	0	7		189	<input type="checkbox"/>	INRA	1 Abandon	1146		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MARQUEUR4	0	0,00	0	7		120	<input type="checkbox"/>	INRA	1 Abandon	1147		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MARQUEUR5	0	0,00	0	7		234	<input type="checkbox"/>	INRA	71 -	1148		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MARQUEUR6	0	0,00	0	7		650	<input type="checkbox"/>	INRA	72 -	1149		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MARQUEUR7	0	0,00	0	7		890	<input type="checkbox"/>	INRA	121 Abandon	1150		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MARQUEUR8	0	0,00	0	7		900	<input type="checkbox"/>	INRA	521 PCR-RFL	1151		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MARQUEUR9	0	0,00	0	7		230	<input type="checkbox"/>	INRA	21 Problème	1152		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
MARQUEUR10	0	0,00	0	7		110	<input type="checkbox"/>	INRA	6 Cytogén.	1153		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>