

## Etat des Révisions

Version	Date	Chapitre concerné	Motif des modifications
1	14/12/2010		Création
2	17/07/2012	Processus de réalisation Processus support	Révision
3	17/09/2012	Processus support (suppression de la phrase « actuellement ... » page 17/18) « Annexes » a été remplacé par « documents associés » Ajout de la liste des procédures obligatoires	Révision suite à l'audit de l'étape 1
4	04/06/2013	Processus de Réalisation	Mise à jour du périmètre de certification, fusion des plates-formes 3P5 et E2D ; changement du nom de la plate-forme de morphologie et histologie ; changement du périmètre de la génomique, de la microscopie photonique, de la PRHTEC et de la PIPA.
5	07/07/2014	Processus de management  Processus de réalisation	Mise à jour de la déclaration de la politique qualité Mise à jour du périmètre de certification (3P5, microscopie photonique, PRHTEC, CYBIO, PIPA)
6	29/06/2015	Processus de management Processus de réalisation	Révision de la déclaration de la politique qualité Mise à jour du périmètre de certification (microscopie photonique, PRHTEC, CYBIO, PIPA)
7	01/07/2016	Processus de réalisation	Mise à jour du périmètre (Hist'IM, Microscopie photonique, 3P5)



<p><b>Rédacteur :</b> Nom : Y. LOTTIN Fonction : RMQ Date : 01/07/2016</p>	<p><b>Vérificateur :</b> Nom : A. SCHMITT Fonction : Pilote processus Date : 04/07/2016</p>	<p><b>Approbateur :</b> Nom : C. PIQUE Fonction : Direction plates-formes Date : 05/07/2016</p>
--	---	---

## SOMMAIRE

Engagement et Responsabilité de la direction.....	4
L'organisation.....	4
Les ressources humaines.....	4
Les ressources matérielles.....	4
Les ressources financières.....	4
Les infrastructures.....	5
La prévention, santé et sécurité au travail.....	5
Politique Qualité.....	5
Ecoute client.....	5
La communication interne.....	5
La revue de direction.....	5
Management du système de la qualité.....	6
La nomination du Responsable Qualité.....	6
La documentation.....	6
Les processus et le périmètre de certification.....	6
Exclusion.....	6
Description des processus et des responsabilités.....	8
Processus de management.....	8
Processus de réalisation.....	8
Plate-forme Microscopie Electronique.....	8
Plate-forme Microscopie Photonique.....	8
Plate-forme Génomique.....	9
Plate-forme Cytométrie et d'Immuno-biologie (CYBIO).....	10
Plate-forme Recombinaison Homologue, Transfert d'Embryons et Cryoconservation (PRHTEC).....	10
Plate-forme Histologie, Immunomarquage et Microdissection laser (HistIM).....	12
Plate-forme Protéomique de l'Université Paris Descartes (3P5).....	14
Pôle Electrophorèse.....	15
Pôle Chromatographie & Spectrométrie de Masse (3P5-PCMS).....	16
Plate-forme d'Imagerie du Petit Animal (PIPA).....	16
Processus support.....	17



Mesure, analyse et amélioration.....	17
Documents associés .....	17



## Engagement et Responsabilité de la direction

### L'organisation

L'Institut Cochin, dirigé par Pierre-Olivier COURAUD est un institut de recherche placé sous la cotutelle administrative de l'Inserm (U1016), du CNRS (UMR-8104) et de l'Université Paris Descartes (UMR-S1016).

L'Institut rassemble 8 plates-formes technologiques, dont deux universitaires (plate-forme Protéomique Paris Descartes -3P5 et plate-forme d'Imagerie du Petit Animal -PIPA). Ces plates-formes sont sous la direction de Claudine PIQUE.

Pilotées par des chercheurs et des ingénieurs hautement spécialisés, les différentes plates-formes ont une vocation de service, d'expertise et de transfert des compétences. Créées pour mettre à disposition de la communauté scientifique des technologies de pointe, elles sont largement ouvertes aux équipes extérieures à l'Institut, qu'elles appartiennent au secteur public académique ou au secteur privé.

Un certain nombre de services techniques, généraux et administratifs sont destinés à apporter un support efficace à l'ensemble des plates-formes.

La Direction de l'Institut Cochin a lancé officiellement la mise en place de la démarche qualité avec pour référentiel la **norme ISO 9001 : Version 2008** au sein de ses plates-formes en juin 2010.

Les plates-formes sont certifiées ISO 9001 : Version 2008 depuis le 19 octobre 2012.

### Les ressources humaines

Les personnels des plates-formes dépendent des organismes de tutelles : Inserm, CNRS et Université Paris Descartes. Ils sont placés sous la responsabilité du Directeur de l'Institut Cochin qui assure la gestion des ressources humaines en termes d'acquisition de nouvelles compétences, d'adaptation aux évolutions techniques et scientifiques, de valorisation et de capitalisation des compétences.

Les recrutements des personnels se font sur la base de leurs compétences et selon l'adéquation de leurs profils avec les besoins et les objectifs de l'Institut. Ces besoins sont pourvus, soit par les organismes de tutelles dont dépendent les personnels, soit sur ressources propres. Les personnels statutaires disposent d'un dossier annuel confidentiel géré par les organismes de tutelle dans lesquels sont classés les documents les concernant.

### Les ressources matérielles

Une des priorités des plates-formes est de maintenir les équipements de pointe en parfait état de fonctionnement grâce à une maintenance préventive régulière, à une surveillance adaptée et dans un environnement sécurisé.

Les plates-formes évaluent annuellement une partie de leurs fournisseurs afin de maîtriser la qualité des matières premières et des services achetés.

### Les ressources financières

Le budget de fonctionnement est apporté par l'Inserm (75%), le CNRS (15%) et l'Université Paris Descartes (10%). Les facturations des prestations sont reversées au budget de l'Institut, venant équilibrer les dépenses engagées par l'Institut pour le fonctionnement des plates-formes.



Une gestionnaire assure la gestion financière des différentes plates-formes.

### Les infrastructures

Les plates-formes se situent dans les locaux de l'Inserm, de l'Université Paris Descartes et de l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP, Hôpital Cochin). L'entretien, la maintenance et le maintien de la conformité des locaux avec la réglementation en vigueur sont assurés par les différents organismes hébergeant ces matériels (Inserm, Université Paris Descartes et AP-HP).

### La prévention, santé et sécurité au travail

Le service Prévention, Santé et Sécurité met en œuvre la politique de prévention des risques professionnels sous la responsabilité du directeur de l'Institut.

La mission du service s'articule autour d'actions d'information, de formation, de conseil auprès des utilisateurs, d'aide à la rédaction de dossiers, à la conception et à la réhabilitation de locaux et de visites de prévention dans les laboratoires.

### Politique Qualité

La Direction inscrit dans la politique qualité son engagement à mettre tout en œuvre pour apporter son appui ainsi que les ressources humaines et matérielles nécessaires à cette démarche qualité (voir annexe 1).

### Ecoute client

Les plates-formes de l'Institut Cochin ont pour vocation et pour mission de satisfaire les exigences de leurs clients. Elles sont très attentives à recueillir leurs besoins à l'occasion de nombreuses discussions téléphoniques, d'échanges de courriers électroniques et de rencontres notamment dans le cadre de l'accueil de nouveaux projets.

Une enquête de satisfaction est menée auprès des clients afin de mesurer leur satisfaction, d'identifier les souhaits d'évolution ou de faire émerger de nouveaux besoins.

L'ensemble des demandes et des remarques est pris en considération afin de répondre au mieux aux attentes des clients.

### La communication interne

Une cellule qualité composée de l'ensemble des correspondants qualité de chaque plate-forme et de la responsable qualité se réunit au moins une fois par trimestre.

Au sein de chaque plate-forme, au moins une réunion de travail trimestrielle est organisée avec l'ensemble du personnel de cette dernière.

### La revue de direction

La Direction réunit la responsable qualité et l'ensemble des pilotes de processus au moins une fois par an.

Cet outil permet d'évaluer la performance du système de management de la qualité dans son ensemble. A partir des constatations qui sont faites, des axes d'amélioration sont définis, un plan d'action est établi et de nouveaux objectifs sont fixés.



L'avancée du plan d'action est suivie au cours des réunions de la cellule qualité.

## Management du système de la qualité

### La nomination du Responsable Qualité

Une responsable Qualité a été nommé par la Direction en juin 2010. Elle met en place, anime, gère et garantit le système qualité ; enfin elle rend compte à la Direction.

### La documentation

La documentation du système qualité est constituée des :

- Manuel qualité
- Documentation qualité (entrée) :
  - Procédures
  - Protocoles
  - Fiches d'instructions
  - Formulaires
  - Tutoriels.
- Documentation enregistrements (sortie) :
  - Données
  - Enregistrements.

Les modalités de rédaction et de conservation des documents sont décrites dans la procédure d'élaboration et gestion des documents (PMan/PcD/001).

Ces documents apportent la preuve de la conformité aux exigences et du fonctionnement efficace du système qualité. Ces documents peuvent être internes ou externes (données clients, données d'achats, données d'équipements).

### Les processus et le périmètre de certification

Chaque plate-forme correspond à un processus de réalisation. Les processus de management et de supports arrivent en appui à la réalisation des activités.

Pour piloter chacun des processus, un pilote de processus a été nommé. Il a pour mission de garantir le bon fonctionnement du processus et de contrôler son efficacité. Un certain nombre d'indicateurs ont été définis pour l'aider dans le suivi et la mesure de la performance de ses processus. Selon les résultats obtenus, les indicateurs peuvent être revus ou modifiés de façon à demeurer pertinents.

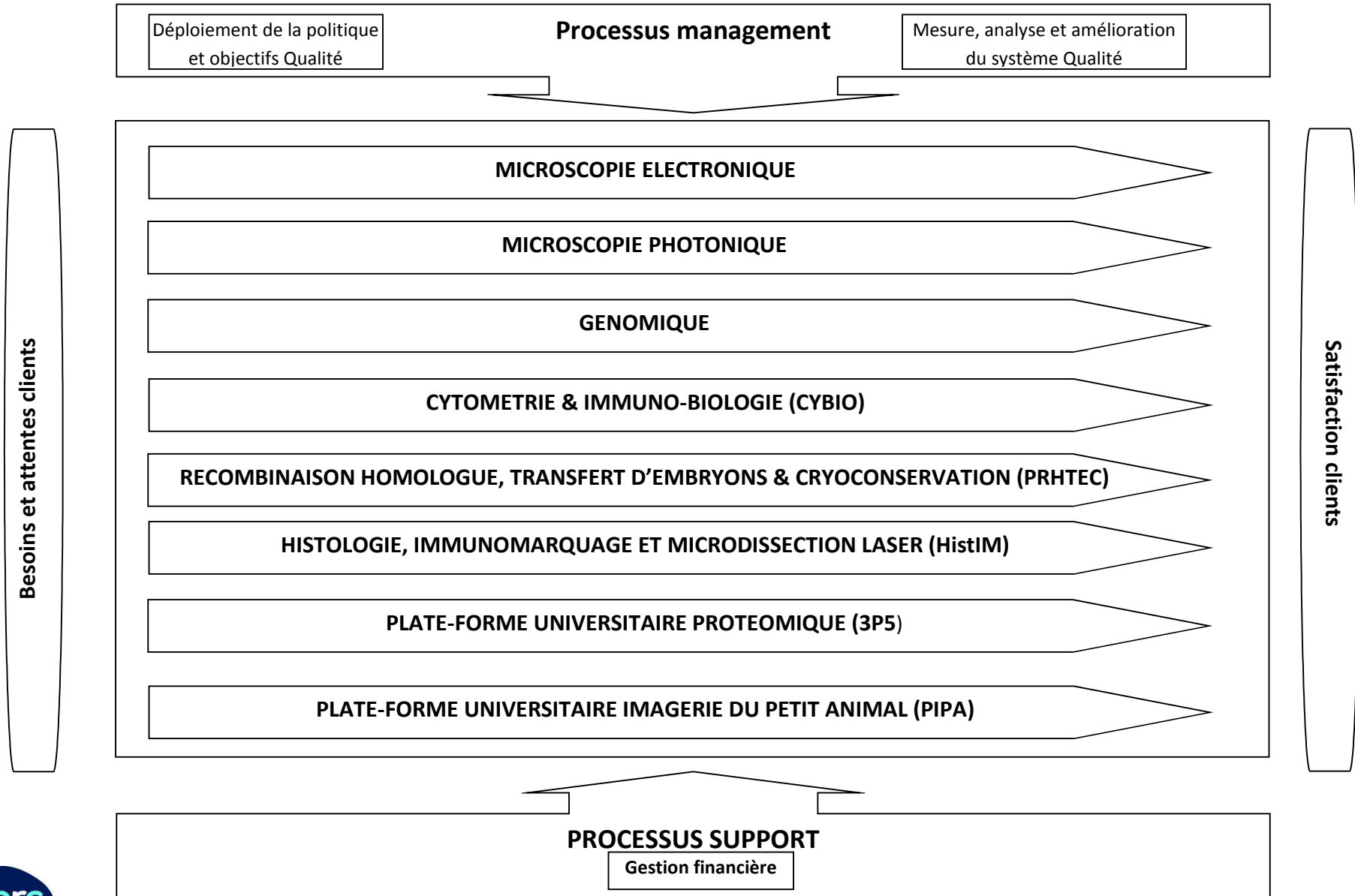
Le périmètre de la norme est applicable à certaines activités des plates-formes.

### Exclusion

Le chapitre 7.3 conception et développement de la norme ISO 9001 : version 2008 est exclu du périmètre de toutes les plates-formes hormis l'activité de Recombinaison Homologue.



## CARTOGRAPHIE DES PROCESSUS



## Description des processus et des responsabilités

### Processus de management

Le processus de management de la qualité est sous la responsabilité de la Directrice des plates-formes. La finalité de ce processus est l'amélioration continue du système de management de la qualité et la mise à disposition des ressources humaines, financières et matérielles.

### Processus de réalisation

#### Plate-forme Microscopie Electronique

Toutes les activités de la plate-forme [Microscopie Electronique](#) entrent dans le périmètre de certification (les différentes étapes de l'expérience en microscopie électronique depuis l'inclusion jusqu'à l'observation).

#### Plate-forme Microscopie Photonique

Les activités de la plate-forme [Microscopie Photonique](#) sont définies dans 3 sous-processus :  
Deux sous-processus de réalisation qui sont :

1. la mise à disposition de microscopes photoniques, champ large et confocaux
2. la prestation de services :
  - a) service de traitement d'images par déconvolution 3D
  - b) préparation des échantillons pour l'imagerie en microscopie multi-photonique

Et un sous-processus support :

3. La maintenance

#### Les équipements

La plate-forme met à disposition des utilisateurs ses différents microscopes dont 8 sont inclus dans le périmètre de certification. Il s'agit des microscopes :

- iMIC de chez TILL Photonics
- DMI 6000 de chez Leica
- Spinning Disk 515 GR de chez Leica et Roper
- Axio Observer Z1 de chez Zeiss
- AxioVert 200M de chez Zeiss
- Spinning Disk L3 Méchain de chez Leica et Roper
- Macroscopie AZ100 de chez Nikon
- Olympus BX63F
- Multi-photons SP5 de chez Leica
- ImageStream X de chez Amnis
- Spinning Disk L2 de chez Leica
- GSD-3D super résolution de chez Leica

Ces microscopes sont localisés au 5<sup>ème</sup> étage du bâtiment Gustave Roussy (pièces 500, 515 et 522), dans le bâtiment Méchain (pièce 300) et dans le bâtiment Faculté (pièce 5012A et 3010).

#### Les activités

Les domaines d'application inclus dans le périmètre de certification sont :





- La formation des utilisateurs à la manipulation des microscopes, des logiciels qui les pilotent et des logiciels d'analyse d'images.
- Le traitement des images par déconvolution 3D, prestation sur demande et non facturée.
- La préparation des échantillons pour l'imagerie en microscopie « in situ ».
- La maintenance, afin de limiter le nombre de jours d'arrêt des microscopes chaque année.

### Accès à la plate-forme

La plate-forme est accessible à tous les personnels de l'Institut Cochin et également aux équipes extérieures académiques et privées, après une formation obligatoire par l'un des membres de la plate-forme.

### Plate-forme Génomique

Les activités de la [plate-forme de Génomique](#) incluses dans la démarche qualité sont **la mise à disposition d'équipements de PCR en temps réel, la réalisation de prestation de service de projets de PCR en temps réel, la réalisation sous forme de prestation de service de projets puces à ADN et la prise en charge de l'analyse des données brutes issues des projets de puces à ADN traités sur la plate-forme.**

Pour la mise à disposition d'équipements de PCR en temps réel, la plate-forme forme les utilisateurs de l'Institut Cochin à la technologie et aux appareils, intervient en support des équipes pour tout problème, gère les contrats de maintenance et les relations avec les fournisseurs. Les utilisateurs réalisent eux-mêmes leur projet.

Pour la prestation de service en PCR temps réel, la plate-forme prend en charge la gestion complète d'un projet de qPCR. Cette prestation englobe la partie expérimentale, l'analyse des résultats et leur interprétation. Cette activité est ouverte à tout type d'équipe.

Pour les puces à ADN, la plate-forme réalise intégralement la prestation. La prestation englobe la partie expérimentale jusqu'au contrôle qualité des images des scans. Cela concerne les équipes de l'Institut Cochin mais aussi toutes les équipes, académiques ou privées.

#### 1/ Mise à disposition d'équipements en temps réel

La plate-forme met à disposition des équipes de l'Institut Cochin son parc matériel composé de 4 LC480. Elle met également son expérience du domaine à la disposition des utilisateurs sous forme de formation à la technique, de soutien et d'aide à l'analyse.

#### 2/ Prestations de service en PCR en temps réel

La plate-forme met à disposition son expérience du domaine en proposant aux équipes académiques ou privées la gestion complète de leur projet de PCR en temps réel, de la réalisation technique jusqu'à l'analyse des données et l'interprétation des résultats. Cette prestation s'effectue après acceptation par le client d'un devis récapitulatif la technologie et la méthode d'analyse utilisée.

#### 3/ Prestations de service de puces à ADN

La plate-forme met à disposition son expérience dans le domaine en proposant aux équipes académiques ou privées la gestion de leur projet de puces à ADN, de la réalisation technique jusqu'au contrôle qualité des images des scans. Cette prestation s'effectue après acceptation par le client d'un devis récapitulatif la technologie utilisée.



#### **4/ Prestations de service pour l'analyse des données brutes issues des projets de puces à ADN d'expression traités sur la plate-forme**

La plate-forme met à disposition son expérience du domaine en proposant aux équipes académiques ou privées la prise en charge de l'analyse des données brutes issues des projets de puces à ADN d'expression traités sur la plate-forme. Cette prestation s'effectue après acceptation par le client d'un devis récapitulant la méthodologie utilisée.

La plate-forme met également à disposition des équipes des postes de bio-analyses. Elle met son expérience du domaine à la disposition des équipes sous forme de formation à l'utilisation des outils, de soutien et d'aide à l'analyse.

#### **Plate-forme Cytométrie et d'Immuno-biologie (CYBIO)**

Les activités de la plate-forme de Cytométrie et d'Immuno-biologie incluses dans la démarche qualité sont « la mise à disposition des équipements » et « la prestation de service ».

Dans le cadre de son activité « mise à disposition des équipements », l'ensemble du parc de leurs appareils (cf. site internet de la plate-forme [http://cochin.inserm.fr/la\\_recherche/plates-formes-technologiques/immuno-biologie](http://cochin.inserm.fr/la_recherche/plates-formes-technologiques/immuno-biologie)) est mis à disposition des utilisateurs. Ces appareils sont en libre service suite à une formation appropriée par le personnel de la plate-forme.

Dans le cadre de son activité « [prestations de service](#) », le tri par l'ARIA III ou JAZZ, le microdosage multiplex et les tests de prolifération par cytométrie en flux sont proposés.

#### **Plate-forme Recombinaison Homologue, Transfert d'Embryons et Cryoconservation (PRHTEC)**

La [PRHTEC](#) prend en charge les projets de création de modèle murin KO et KI depuis le concept et la réalisation des transgènes jusqu'à l'obtention des souris hétérozygotes dépourvues de la cassette de sélection.

La plate-forme assure également la redérivation des lignées par transfert d'embryons et propose l'archivage des lignées transgéniques sous forme d'embryons congelés via la technique de congélation lente.

La plate-forme travaille sur demande et à façon, pour les équipes de l'Institut Cochin mais aussi pour les équipes extérieures, académiques ou privées, françaises ou européennes.

Au sein de la PRHTEC, il n'est pas possible d'accueillir des utilisateurs. L'ensemble de la technologie est réalisé par l'équipe de la plate-forme, l'ensemble des personnels étant polyvalent et autonome sur la totalité des activités techniques.

Les activités de la PRHTEC incluses dans le périmètre de certification, déclinées en trois sous-processus, sont :

#### **1/ La création des modèles murins, KO-KI, génétiquement modifiés (Recombinaison Homologue) :**

##### **1-1 Via la modification des cellules souches embryonnaires murines :**

**A) Développement, conception et réalisation du transgène :**

Cette activité inclut :

- Conseil sur les approches possibles permettant d'obtenir le modèle murin et réalisation de la construction à façon,
- La caractérisation du gène cible dans les banques d'ADN,
- Sa modélisation grâce à un logiciel spécifique (LaserGen),



- Le développement de la stratégie la plus pertinente permettant d'obtenir le modèle murin souhaité,
- La réalisation du transgène selon les techniques de biologie moléculaire,
- La conception des stratégies d'analyses qui permettront la détection du transgène d'une part dans les cellules ES et d'autre part dans les lignées murines.

**B) Obtention d'un ou de plusieurs clones génétiquement modifiés par recombinaison homologue :**

Cette activité inclut toutes les étapes de culture cellulaire :

- Transfection des gènes par électroporation (ou nucléofection),
- Sélection et caractérisation des clones transfectés, amplification et congélation de ces clones.

Elle inclut également l'analyse des clones par 4 techniques de biologie moléculaire (PCR, Southern Blot, caryotype et séquençage).

Cette étape de culture cellulaire est très importante car de la qualité des cellules dépendent les étapes ultérieures, et notamment, la colonisation de la mutation d'intérêt à la lignée germinale de l'embryon.

**C) Transmission à la lignée germinale de souris, d'une mutation d'intérêt, ciblée dans les cellules ES**

Cette activité inclut :

- La micro-injection des clones génétiquement modifiés dans les embryons,
- La microchirurgie permettant la réimplantation des embryons micro-injectés dans une mère porteuse,
- L'obtention d'animaux hétérozygotes n'ayant plus la cassette de sélection. Cette étape signe la transmission à la lignée germinale de la mutation d'intérêt à la descendance de la souris.

**La Plate-forme propose la prise en charge totale des projets qui permettent d'obtenir un modèle murin KI-KO mais elle peut également n'intervenir que sur certaines étapes.**

**Dans les deux cas, l'ensemble des activités décrites ci-dessus entre dans le périmètre de certification.**

**1-2 Via la microinjection des systèmes CRISPR-Cas9 :**

Depuis 2015, la plate-forme propose la création des modèles KI-KO via la micro-injection des systèmes CRISPR-Cas9. Cette activité se limite ici à l'étape de micro-injection dans les embryons au stade 1 cellule (micro-injection dans le noyau ou dans le cytoplasme) et à l'établissement des lignées de souris. La stratégie de ciblage ainsi que la conception des systèmes et le screening des animaux sont à la charge des clients, cela ne pouvant pas, à ce jour, être pris en charge par la plate-forme.

**2/ La décontamination par transfert d'embryons :**

**A) Prélèvement et traitement des embryons pour décontamination.**

La réussite de la décontamination dépend de la qualité du prélèvement et des lavages : c'est donc une étape clé.

**B) Réimplantation des embryons par microchirurgie dans une mère porteuse.**

**C) Validation (QC) du transfert d'embryon par contrôle sanitaire pour vérifier la bonne décontamination de la lignée transférée.**

**3/ La cryoconservation :**

**A) Prélèvement des embryons (avec décontamination des embryons si nécessaire).**



**B)** Congélation des embryons en paillette. Celle-ci s'effectue à l'aide d'un équipement spécifique, le Freezal. Ce système permet la congélation des embryons par la technique de congélation lente (-0,3°C/min) jusqu'à atteindre la température de -196°C.

Les paillettes sont ensuite stockées dans un container à azote liquide dédié.

Le nombre d'embryons à congeler est variable et défini, pour chaque projet, selon les spécificités de la lignée à cryoconserver.

**C)** Validation (QC) de la cryoconservation par un test de reviviscence sur un échantillon d'embryons congelés associé à un contrôle sanitaire dans le cas d'une cryoconservation avec décontamination des embryons.

### Plate-forme Histologie, Immunomarquage et Microdissection laser (HistIM)

La plate-forme [HistIM](#) (anciennement « Morphologie et Histologie ») de l'Institut Cochin a une double vocation :

- d'une part, elle est un service de prestations techniques en anatomie et pathologie, animale et humaine ;
- d'autre part, elle assure un service de formation aux différents équipements de la plate-forme et un encadrement sur les techniques d'histologie (colorations, localisations protéiques...).

#### 1/ Activités

##### - Sous-processus *Prestations techniques* :

La plate-forme prend en charge les échantillons de ses clients (demandeurs) à n'importe quelle étape du processus histologique, selon leur demande. La demande de prestation technique se fait *via* des formulaires de demande à télécharger sur le site internet de la plate-forme, détaillant précisément la demande du client. Ce document doit être fourni à la plate-forme sous format papier en même temps que les échantillons et également envoyé par mail.

La plate-forme HistIM propose :

- Imprégnation et inclusion de tissus en blocs de paraffine
- Coupes au microtome pour les tissus inclus en paraffine
- Coupes au cryostat pour les tissus congelés
- Colorations standard, morphologiques et topographiques de type Hémalun-éosine, Hémalun-éosine-safran, trichrome de Masson...
- Colorations spécifiques pour la mise en évidence de composants particuliers
- Immunomarquages sur automate (en révélation visible ou fluorescence)

##### - Sous-processus *Mise à disposition des équipements* :

Il s'agit de formation individuelle d'environ 3h sur les différents postes de travail de la plate-forme :

- Microtome,
- Cryostat
- Microdissecteur laser
- Microscope à fluorescence,
- Scanner de lames

La personne formée pourra alors accéder de façon autonome à ces différents appareils après réservation sur le site intranet de l'Institut. La demande de formation se fait *via* le formulaire adéquat



et le client obtient une formation dans un délai de 3 semaines à une date convenue entre les deux parties.

Les clients de la plate-forme peuvent également demander à être encadrés pour les techniques d'histologie (congélation des tissus, immunohistochimie).

## 2/ Equipements

La structure comprend :

### a. Une pièce d'imprégnation et d'inclusion en paraffine

Cette pièce est équipée de :

- un automate d'imprégnation en paraffine (VIP 5 Junior, Sakura) uniquement utilisé par le personnel de la plate-forme. Il permet la déshydratation automatique et l'imprégnation en paraffine de 150 échantillons à la fois, quel que soit le type tissulaire ou l'espèce,
- une hotte chimique,
- une table d'inclusion des tissus en paraffine.

### b. Une pièce principale

Cette pièce est entièrement réservée aux études histologiques (coupes, colorations, immunomarquages). À cet effet, elle est équipée de :

- 1 cryostat (CM350 S, Leica) permettant la réalisation de coupes (minimum 7 $\mu$ m) à partir de tissus congelés, qui pourront ensuite être colorées, immunomarquées ou microdisséquées.
- 2 microtomes (RM 2145, RM 2155 Leica), permettant la réalisation de coupes (minimum 4 $\mu$ m) à partir de tissus fixés, inclus en paraffine.
- un automate de coloration histologique (Autostainer, Leica). Cette automatisation des colorations sur coupes de tissus congelés ou inclus en paraffine offre la possibilité d'intégrer indépendamment 30 lames toutes les 5 minutes.
- une monteuse de lamelles (CTM6, MMFrance).
- une imprimante de lames (iDent, Sakura)
- un automate d'immunomarquage (Bond III, Leica) acquis en octobre 2014.
- un scanner de lames (Lamina slide scanner, Perkin Elmer), acquis en novembre 2014.

Les cryostat, microtomes et scanner de lames sont utilisés par le personnel de la plate-forme afin de répondre aux demandes de prestation. Ils sont également mis à la disposition des utilisateurs formés par le personnel de la plate-forme, après réservation sur le site intranet de l'Institut Cochin.

L'automate de coloration, la monteuse de lamelles, l'imprimante de lames et l'automate d'immunomarquage sont exclusivement manipulés par le personnel de la plate-forme et sont utilisés pour de la prestation technique.

Cette pièce contient également un microscope MZ6 (Leica) double tête, outil indispensable à la formation et permettant également un contrôle constant de la qualité des coupes.

### c. Une pièce d'imagerie

Cette pièce noire contient :

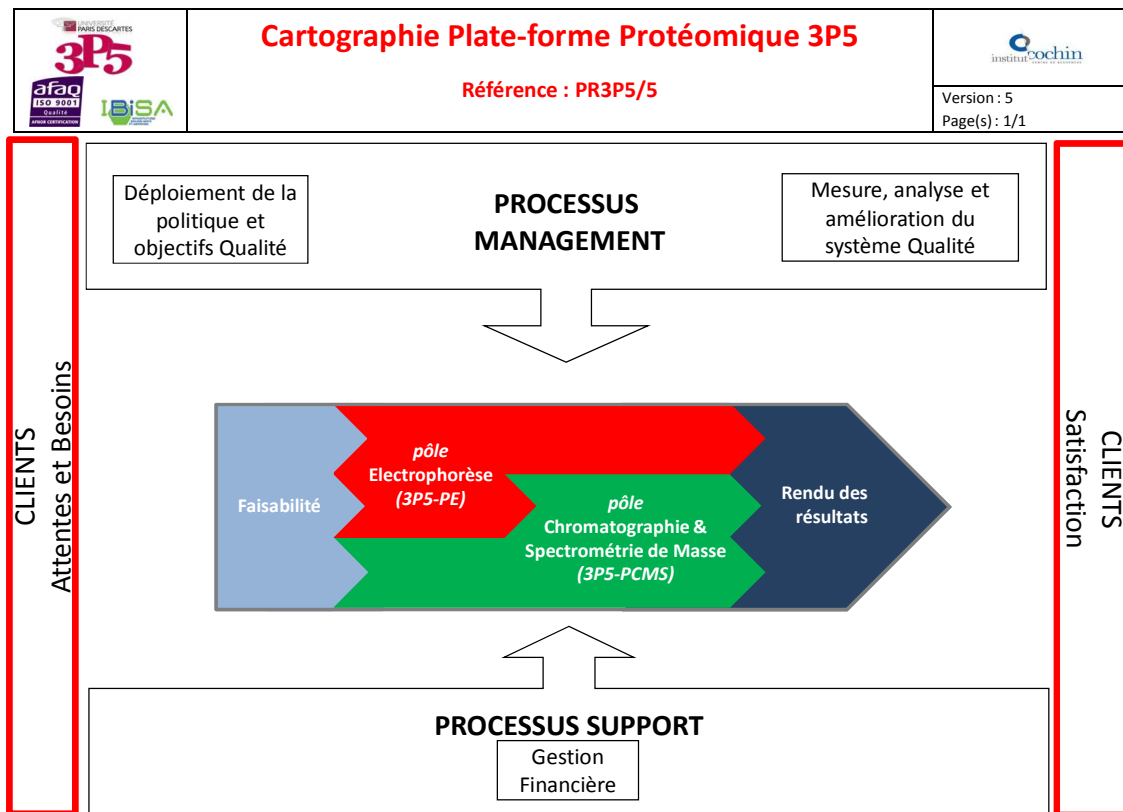
- Un microscope modèle DMR (Leica) pour lumière blanche et fluorescence. Il est doté d'une caméra Sony couleur, d'un logiciel IM 1000, d'objectifs x1,6 ; x2,5 ; x10 ; x20 ; x40 et x100 à immersion et de filtres pour la lecture sélective de différents fluorochromes (GFP, Rhodamine, FITC et lecture mixte FITC / Rhd). Il permet la lecture, l'analyse, le traitement et l'acquisition informatisée des images d'histologie.



- Un microdissecteur laser Arcturus XT (Excilone) acquis fin 2012 pour l'étude de l'expression différentielle de gènes, protéines ou ARN. Ce microscope inverse couplé à un laser infrarouge est entièrement motorisé et piloté par le logiciel « Arcturus XT ». Cette technique de microdissection permet de s'affranchir de l'hétérogénéité tissulaire en découpant et en isolant de son environnement différents types cellulaires ou territoires situés à l'intérieur d'un même organe.

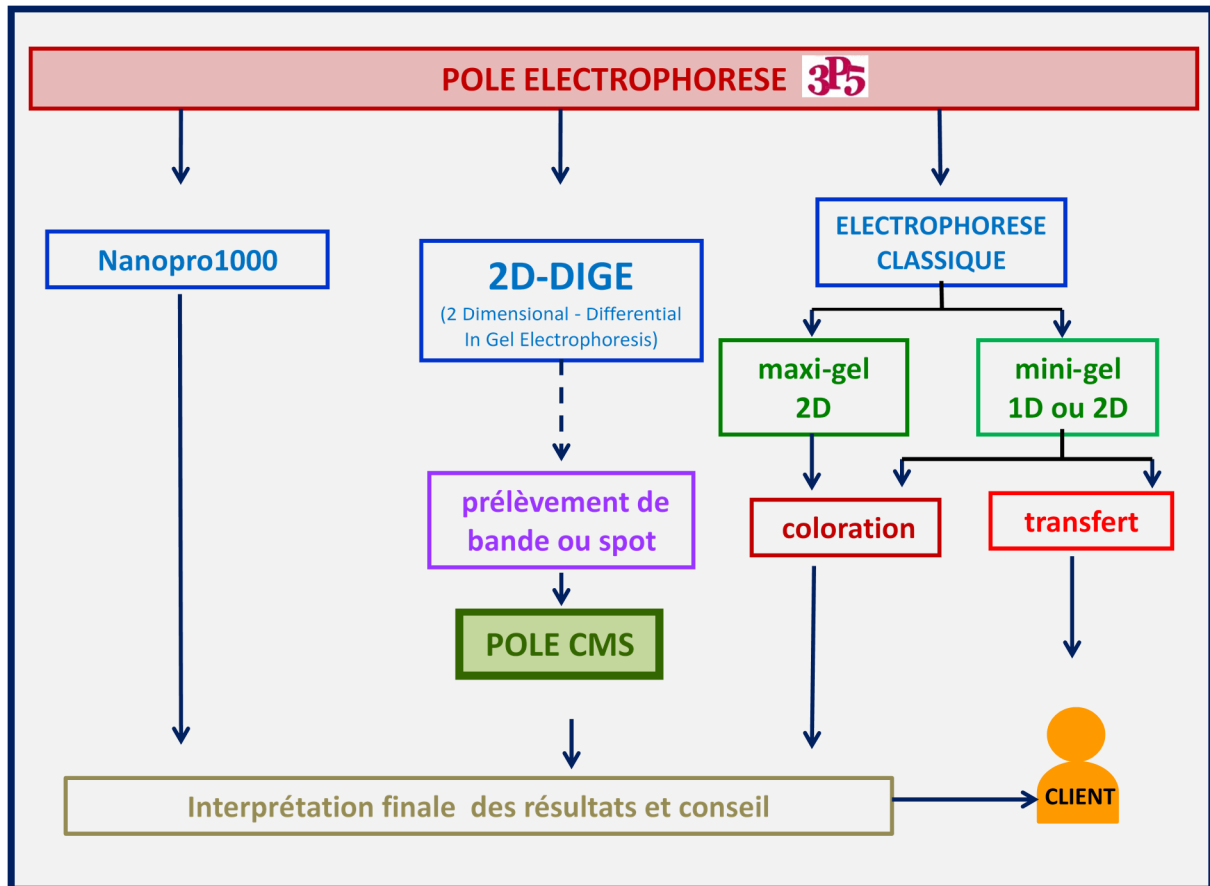
### Plate-forme Protéomique de l'Université Paris Descartes (3P5)

La [Plate-forme Protéomique de l'Université Paris Descartes \(3P5\)](#) se compose de 2 pôles. Le pôle [Electrophorèse](#) (3P5-PE) dirigé par Philippe CHAFEY et le pôle [Chromatographie & Spectrométrie de Masse](#) (3P5-PCMS) dirigé par François GUILLONNEAU. Ainsi, 3P5 propose une gamme complète de prestations couvrant l'analyse des protéomes basée sur l'électrophorèse et l'identification ainsi que la micro-analyse des protéines par Chromatographie & Spectrométrie de Masse haute performance.



## Pôle Electrophorèse

Le périmètre de certification du pôle couvre l'activité d'électrophorèse qu'il s'agisse d'électrophorèse en gel (2D-DIGE ou classique) ou en capillaire (Nanopro). Le périmètre englobe la partie expérimentale mais aussi l'analyse des résultats, l'interprétation et l'activité de conseil.



### 1. 2D-DIGE

Le pôle possédant une grande expertise dans cette technologie, la 2D-DIGE ("2-Dimensional Differential in-Gel Electrophoresis") marquage minimal est la principale prestation proposée.

### 2. Electrophorèse classique

Les gels produits par le pôle Electrophorèse peuvent être de type mini ou grand gel avec un gradient d'acrylamide ou pas. Il peut s'agir de mini-gels SDS-PAGE (1D) ou de gels bidimensionnels incluant une focalisation isoélectrique (2D).

Selon la finalité de l'expérience les minigels peuvent être :

- colorés au bleu de Coomassie colloïdal. Par la suite, un prélèvement des spots d'intérêt pour identification en spectrométrie de masse peut être effectué,
- transférés sur membrane en vue d'une immuno-détection

Les grands gels sont quant à eux destinés à un prélèvement pour identification MS et sont généralement colorés au RUBPS, ils ne peuvent pas faire l'objet d'un transfert.



### 3. Nanopro 1000

Le pôle est un précurseur en matière de technologie nanofluidique d'immunodétection. Si la prestation est validée pour certains anticorps (Erk) et en voie de l'être pour d'autres (Akt), la jeunesse du système implique encore de nombreuses mises au point.

### 4. Analyse et interprétation des résultats, activité de conseil

Chaque prestation donne lieu à une analyse des résultats et à une interprétation.

Le pôle prodigue une activité de conseil surtout pour le sous processus 2D-DIGE qui génère un nombre considérable de données et le sous processus Nanopro dont les résultats requièrent une analyse pointue.

Des orientations sont définies en étroite collaboration avec le client.

### **Pôle Chromatographie & Spectrométrie de Masse (3P5-PCMS)**

L'activité spécifique à ce pôle Chromatographie & Spectrométrie de Masse incluse dans le périmètre de certification consiste en « la réalisation de projets protéomiques nécessitant une mesure de masse ». Celle-ci vise à identifier et éventuellement à quantifier des protéines ou des peptides dans des matrices biologiques plus ou moins complexes.

3P5-PCMS prend en charge cette activité qui englobe selon les besoins :

- l'analyse de la faisabilité du projet (et la détermination des méthodes à mettre en œuvre pour réaliser l'analyse demandée),
- le traitement des échantillons (préparation plus ou moins poussée, systématiquement suivie de la spectrométrie de masse),
- le rendu des résultats.

Parmi les activités, on recense :

- les identifications de protéines contenues dans des fragments de gels d'électrophorèse par digestion automatisée dont la grande majorité provient du travail du pôle Electrophorèse de 3P5,
- les identifications de protéines (et éventuellement leur quantification) par prise en charge manuelle," à remplacer par "les identifications de protéines et leur quantification le cas échéant par prise en charge manuelle,
- la mesure de masse de molécules purifiées.

Les appareils inclus dans le périmètre de certification sont le spectromètre de masse LTQ Orbitrap Velos, les 3 chaînes de nanochromatographie liquide, le robot de digestion et l'appareil de décomplexification Off-gel.

3P5 est ouverte à tout type d'équipe de recherche, publique ou privée, affiliée ou non à l'Université Paris Descartes.

### **Plate-forme d'Imagerie du Petit Animal (PIPA)**

L'activité de la plate-forme d'[Imagerie du Petit Animal](#) comprend trois sous-processus :

**1/Un sous-processus imagerie optique** qui organise le fonctionnement en utilisation autonome d'un système d'imagerie optique du petit animal.

Ce sous-processus comprend :

- Le recueil des demandes
- la traduction ou non en projet
- la mise en autonomie des utilisateurs (phase théorique et phase pratique)





- la mise à disposition de fiches d'instruction pour les utilisateurs
- le recueil des informations de fonctionnement pour la facturation et l'évaluation de l'activité.

**2/Un sous-processus imagerie ultrasonore** qui organise la prestation d'échographie du petit animal par le personnel de la plate-forme à destination des chercheurs.

Ce sous-processus comprend :

- le recueil des demandes
- la traduction ou non en projet d'imagerie dans les locaux de la plate-forme d'imagerie du petit animal
- la définition du protocole expérimental et la définition du planning des expériences
- la réalisation des examens
- la remise des résultats
- la clôture du projet

**3/Un sous-processus animalerie** associé au sous-processus Imagerie Ultrasonore permettant l'hébergement des souris dans des locaux agréés de la plate-forme pour le suivi des animaux et le maintien de leur statut sanitaire d'origine.

Ce sous-processus comprend :

- la gestion des documents et enregistrements réglementaires nécessaires au fonctionnement d'une animalerie souris.
- la gestion de l'entrée des animaux dans l'animalerie,
- les procédures permettant le maintien des animaux dans l'animalerie de manière à assurer leur bien-être et leur statut sanitaire
- la gestion de la sortie des animaux.

## Processus support

Ils contribuent à apporter aux plates-formes les ressources et l'appui nécessaire en terme financier, ressources humaines, ressources matérielles.

## Mesure, analyse et amélioration

La mesure de l'efficacité du système de management de la qualité et de sa conformité aux exigences s'appuie sur des outils tels que :

- Les indicateurs qui se rapportent aux processus
- L'enquête de satisfaction des clients
- Les audits internes.

Les résultats de ces mesures sont analysés au cours des revues de direction et des réunions de cellule qualité de façon à décider des mesures nécessaires à l'amélioration de l'activité.

## Documents associés

- Politique Qualité
- Procédure d'élaboration et gestion des documents (PMan/PcD/001)
- Procédure de maîtrise des enregistrements (PMan/PcD/002)
- Procédure de gestion des non-conformités (PMan/PcD/003)
- Procédure d'audit interne (PMan/PcD/004)
- Procédure des actions correctives (PMan/PcD/005)



- Procédure des actions préventives (PMan/PcD/006)

