

Cuve d'électrophorèse

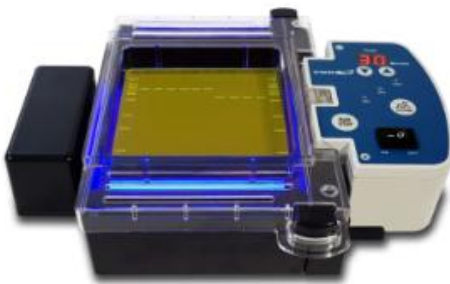
La cuve d'électrophorèse est utilisée dans l'électrophorèse sur gel d'agarose. Elle permet de contenir le tampon de migration.

- [Cuve d'électrophorèse avec visualisation en direct de la migration](#)

Cuve d'électrophorèse avec visualisation en direct de la migration

Appareil d'électrophorèse en temps réel

Le modèle VWR® Real Time Electrophoresis System permet de couler un grand gel ou deux petits gels d'agarose en même temps, puis de faire migrer vos extraits d'acides nucléiques (ADN, ARN), tout en les visualisant grâce à un appareil transilluminateur, emboîtable en dessous de la cuve de migration.



Consignes

L'appareil doit être branché à un réseau de 100~120 VCA. Sinon il faut utiliser le transformateur pour un réseau de 220 VCA !!!

Ne pas manipuler l'appareil avec les mains humides

Ne pas exposer l'appareil à l'eau ou un fort taux d'humidité

Ne pas exposer l'appareil directement au soleil ou aux lumières fortes

Ne pas exposer la machine au feu ou à de fortes sources de chaleur

Ne pas exposer la machine à des gaz corrosifs ou de fort champs magnétiques

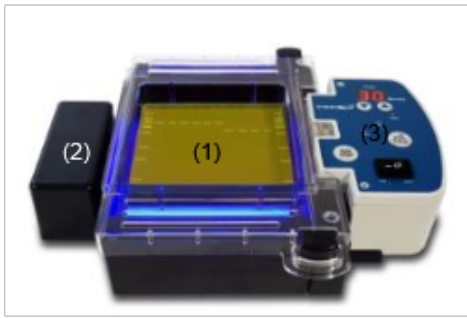
Ne pas exposer la machine à la poussière

Ne pas cogner ou déplacer l'appareil lors de son fonctionnement

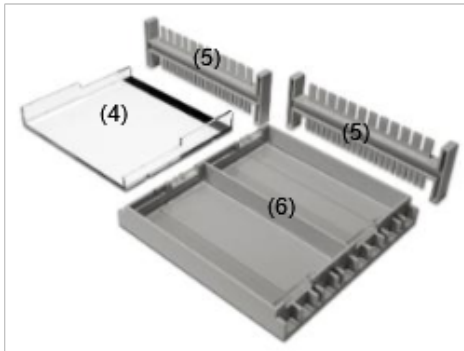
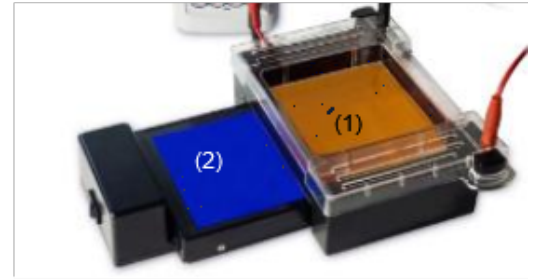
Ne pas mettre ses mains ou un quelconque objet dans la cuve de migration lors du fonctionnement de la machine

Ne pas débrancher la cuve lorsqu'elle est allumée

Matériel



- (1) réservoir de gel
- (2) lampe LED bleue
- (3) source de courant



- (4) plateau de gel (10.5x10cm ou 10.5x6cm)
- (5) peignes double face (12/22 dents)
- (6) support de moulage de gel



- (7) boîtier d'imagerie pour smartphone avec filtre photo
- (8) couvercle de sécurité avec filtre de visualisation intégré

Mode d'emploi

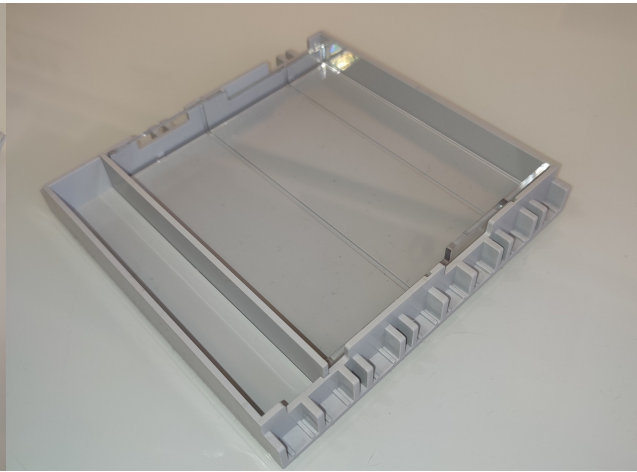
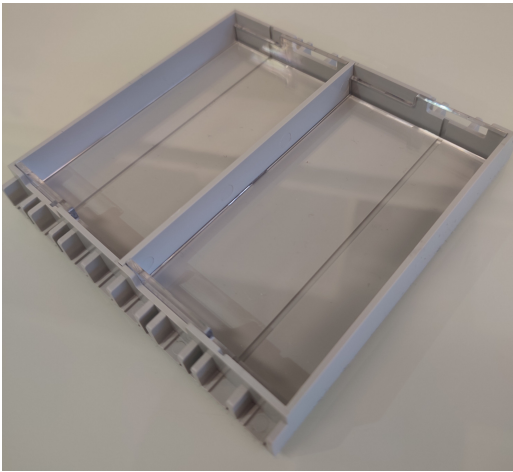
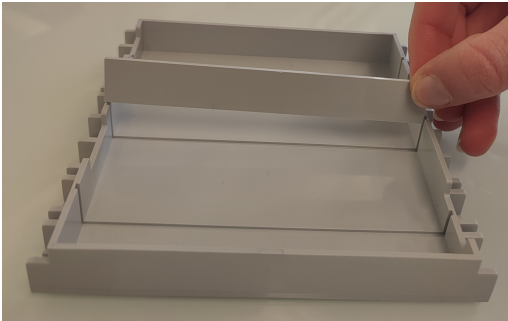
1. Couler les gels

La première étape consiste à couler les gels dont vous aurez besoin pour effectuer votre migration. Ce kit permettant d'effectuer des migration d'extraits d'acide nucléiques; les gels coulés sont donc uniquement des gels d'agarose, coulés à l'horizontal. Selon le pourcentage d'agarose du gel, celui-ci retiendra plus ou moins les petits fragments de matériel génétique. Un gel à 0.5% d'agarose permet ainsi l'analyse de fragments compris entre 30 000 et 1000 paires de bases, tandis qu'un gel à 2% d'agarose permet plutôt l'analyse de fragments de 2000 à 50 paires de bases. En fonction de vos fragments, vous pouvez donc choisir le bon pourcentage d'agarose.

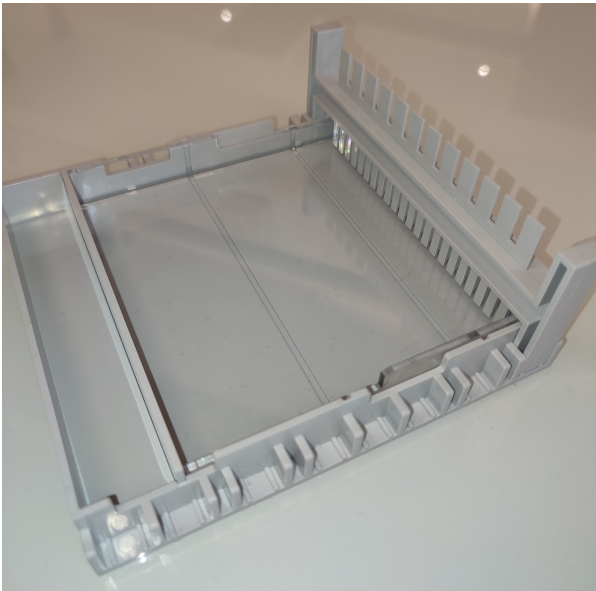
Selon le nombre d'échantillons à faire migrer, vous pouvez choisir les peignes à 12 ou 22 dents; de même, selon la durée de vote électrophorèse ou sa résolution, vous pouvez couler votre gel dans

les petites plaques (10.5x6 cm) ou la grande plaque (10.5x10 cm), et placer le diviseur de plaques amovible dans la fente correspondante.

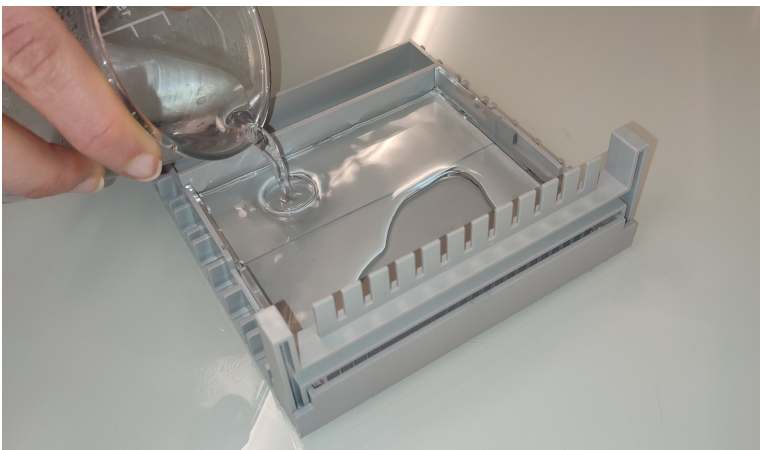
- Placer le support de coulée de gel sur une surface plane et rajouter le séparateur de manière appropriée afin d'éviter des fuites. On peut le placer dans l'encoche centrale si on veut deux petites plaques de gel ou dans une encoche latérale si on veut une grande plaque de gel.



- Placer le peigne sur la plaque. Si on utilise le peigne à 22 dents veiller à ce que l'encoche des dents soit tournée vers la direction opposée à celle de la migration.



- Mixer et chauffer la solution d'agarose pour en faire un gel (prévoir 25mL de gel). Laisser le refroidir jusqu'à 60°C.
- Verser le gel sur le plateau de manière à former approximativement une couche de 4mm d'épaisseur et attendre environ 20 min que le gel se solidifie.



- Soulever délicatement le peigne pour le retirer. Les petits trous formés par le peignes doivent restés propres et nets.
- Retirez délicatement la plaque de gel avec le gel du support et la placez le dans la cuve de migration dans la bonne direction (les échantillons d'ADN migrent du - vers le +).

2. Préparation du réservoir

Assurez-vous que la machine soit bien installée sur une surface plane!

- Déposer le plateau contenant le gel au centre de la plaque transparente. Si vous avez choisi le grand plateau, il devrait recouvrir l'entièreté de la plaque transparente. Si vous avez choisi le petit plateau, des petites encoches vous aideront à correctement le placer.
- Verser délicatement une solution tampon appropriée d'une épaisseur de 2 mm au dessus de la surface du gel (~200 mL).

D'après le constructeur, il est recommandé d'utiliser du TAE ou du TBE avec une concentration de 0.5

- Brancher l'alimentation au réservoir de migration.

3. Ajout des échantillons d'ADN au gel

- Utiliser une pipette appropriée pour disperser des échantillons dans l'épaisseur du gel. (La solution tampon doit être mixée aux échantillons d'ADN pour qu'ils coulent au fond du puits)
- Descendre avec précaution le couvercle de sûreté. Le filtre orange doit être en parfait contact avec la solution tampon de façon à ce qu'il n'y ait pas de bulles. Si le niveau de la solution est trop bas, retirer le couvercle et ajouter plus de solution tampon.
- Glisser la lampe LED bleue sous le bassin à gel.

4. Lancement de l'électrophorèse

- Brancher le générateur ET la lampe LED.
- Presser ▲▼ pour définir le temps de fonctionnement de la machine. Pour faire fonctionner la machine en continu, mettre le temps à "00". Sélectionner la tension sortante appropriée.
- Lancer l'opération avec le bouton RUN/STOP. La LED indiquant la tension sortante clignotera pour indiquer qu'une opération est en cours. Pour indiquer la fin d'une opération, l'alarme sonne 3 fois et l'écran affiche Ed pour END.
(Il suffit d'appuyer sur une touche quelconque pour faire disparaître « ED » et lancer une nouvelle opération).
- Pour stopper une opération en cours, appuyer sur RUN/STOP pendant 3 sec. La LED de voltage s'arrêtera de clignoter.
- Pour retirer le gel à la fin d'une électrophorèse, éteindre la machine et retirer le couvercle et le plateau de gel.

5. Visualisation de l'électrophorèse en cours

- Allumer la lampe LED grâce au bouton ON/OFF
- Il peut être nécessaire de diminuer ou éteindre la lumière ambiante, pour de meilleurs résultats.
- La lumière s'éteindra automatiquement après 5 minutes.

6. Photographie du processus en utilisant un smartphone

- Pour prendre une photographie avec son téléphone, mettre le cache photographique sur le couvercle.
- Insérer le filtre orange sur la plate-forme supérieure et aligner la caméra du téléphone avec le filtre.
- Zoomer et faire la focale si nécessaire pour optimiser l'image et prendre des photos.

