

CUBETA DE ELECTROFORESIS HORIZONTAL HORIZONTAL ELECTROPHORESIS CELL CUVETTE D'ÉLECTROPHORÈSE HORIZONTALE

Referencias | Codes | Références ZFD013, ZFD020, ZFD021, ZFD022, ZFD023



Este manual es parte inseparable del aparato por lo que debe estar disponible a todos los usuarios del equipo. Le recomendamos leer atentamente el presente manual y seguir rigurosamente los procedimientos de uso para obtener las máximas prestaciones y una mayor duración del mismo.

This manual should be available for all users of these equipments. To get the best results and a higher duration of this equipment it is advisable to read carefully this manual and follow the processes of use.

Ce manuel est une partie indissociable de l'appareil et doit être mis à la disposition de tous les utilisateurs de l'équipement. Nous vous recommandons de lire attentivement ce manuel et de suivre scrupuleusement les procédures d'utilisation afin d'obtenir des performances maximales et une plus longue durée de vie de l'appareil.

INDEX DES LANGUES

Espagnol	1-7
Anglais	8-13
Français	14-19

INDEX

Précaution de sécurité	14
Maintenance	15
<i>Nettoyage des unités horizontales</i>	15
<i>Décontamination du RNasa</i>	15
Assemblage des plateaux de gel horizontaux	15
<i>Instructions d'assemblage des câbles d'électrodes</i>	15
<i>Préparation du gel</i>	16
Verser le gel	16

PRÉCAUTION DE SÉCURITÉ



LORSQU'ILS SONT UTILISÉS CORRECTEMENT, CES APPAREILS NE PRÉSENTENT PAS DE RISQUE POUR LA SANTÉ. CEPENDANT, ILS PEUVENT DÉLIVRER DES NIVEAUX DANGEREUX D'ÉLECTRICITÉ ET NE DOIVENT ÊTRE UTILISÉS QUE PAR DU PERSONNEL QUALIFIÉ, CONFORMÉMENT AUX DIRECTIVES ÉNONCÉES DANS LE PRÉSENT MANUEL D'INSTRUCTIONS.

L'ENSEMBLE DU MANUEL DOIT ÊTRE LU ATTENTIVEMENT PAR TOUTES LES PERSONNES QUI UTILISENT CET ÉQUIPEMENT.

L'APPAREIL NE DOIT JAMAIS ÊTRE UTILISÉ SANS QUE LE COUVERCLE DE SÉCURITÉ SOIT CORRECTEMENT MIS EN PLACE.

L'APPAREIL NE DOIT PAS ÊTRE UTILISÉ SI LE RÉSERVOIR EXTERNE OU LE COUVERCLE PRÉSENTENT DES SIGNES D'ENDOMMAGEMENT.

MAINTENANCE

Nettoyage des unités horizontales

Les appareils se nettoient de préférence avec de l'eau tiède et un détergent doux. **L'eau à des températures supérieures à 60°C peut endommager l'appareil et ses composants.**

Le réservoir doit être soigneusement rincé à l'eau chaude ou à l'eau distillée pour éviter l'accumulation de sel, mais il faut veiller à ne pas endommager l'électrode attachée et un nettoyage vigoureux n'est ni nécessaire ni conseillé.

Il est préférable de le faire sécher à l'air libre avant de l'utiliser.

Les appareils ne doivent être nettoyés qu'avec les produits suivants :

Eau chaude avec une faible concentration de savon ou autre détergent doux. Les détergents compatibles sont le liquide vaisselle, l'hexane et les hydrocarbures aliphatiques.

Les appareils ne doivent pas être laissés dans des détergents pendant plus de 30 minutes.

L'appareil ne doit jamais entrer en contact avec les produits de nettoyage suivants, car ils causent des dommages irréversibles et cumulatifs : acétone, phénol, chloroforme, tétrachlorure de carbone, méthanol, éthanol, alcool isopropylique.

Décontamination du RNasa

Pour ce faire, il convient d'utiliser le protocole suivant :

Nettoyez les unités avec un détergent doux comme décrit ci-dessus.

Laver avec du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 3 % pendant 10 minutes.

Rincer avec de l'eau distillée traitée au DEPC (pyrocarbonate de diéthyle) à 0,1 %.

Attention : Le DEPC est soupçonné d'être cancérigène. Prenez toujours les précautions nécessaires lorsque vous l'utilisez.

RNaseZAPTM (Ambion) peut également être utilisé. Voir les instructions pour l'utilisation avec des cuvettes en gel acrylique.

ASSEMBLAGE DES PLATEAUX DE GEL HORIZONTAUX

Instructions d'assemblage des câbles d'électrodes

1. Notez la position du couvercle sur l'appareil. Elle indique la polarité et l'orientation correctes des fils: le noir est négatif et le rouge est positif.
2. Retirez le couvercle de l'appareil. Notez que si vous ne retirez pas le couvercle, le câblage risque de desserrer le bouchon en or et d'endommager l'électrode.
3. Visser les câbles dans les trous filetés le plus loin possible de manière à ce qu'il n'y ait pas d'espace entre le couvercle et le bord avant du presse-étoupe.
4. Remettre le couvercle en place.

Préparation du gel

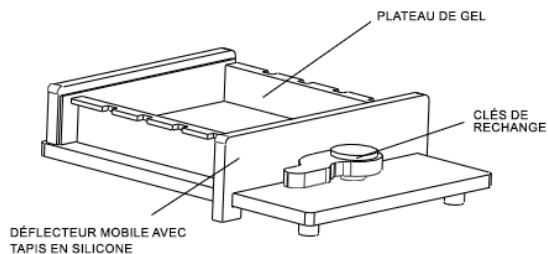
1. Pour un gel d'agarose standard à 0,7 %, ajouter 0,7 gramme d'agarose à 100 ml de solution 1x TAE ou TBE. La même solution 1x doit être utilisée dans le tampon du réservoir.
2. Ajouter l'agarose dans un erlenmeyer.
3. Ajouter la quantité appropriée de solution 1x TAE ou TBE. Pour éviter l'évaporation au cours des étapes de dilution suivantes, la fiole conique doit être recouverte de parafilm.
4. Dissoudre l'agarose en le chauffant sur une plaque magnétique avec barre d'agitation ou dans un four à micro-ondes. Si la méthode des micro-ondes est utilisée, elle doit être réglée à **400 watts ou à une température moyenne et le flacon doit être agité toutes les minutes. La solution doit être chauffée jusqu'à ce que tous les cristaux soient dissous. La meilleure façon d'observer ce phénomène est de le faire sur un fond clair. Les cristaux apparaissent comme des cristaux translucides. S'ils ne sont pas complètement dissous, ils interfèrent avec la migration de l'échantillon. Le gel doit être refroidi entre 50°C et 60°C degrés avant d'être versé.**

VERSER LE GEL

Utilisation de la boîte à gel:

1. Placer la boîte à gel sur une surface plane et fixer un plateau de gel approprié. Pour éviter les fuites de gel, les deux extrémités du plateau de gel doivent être solidement collées à la boîte de gel.
2. Placer le(s) peigne(s) dans le plateau.
3. Verser l'agarose avec précaution afin de ne pas créer de bulles.
4. Laissez le gel tranquille et attendez qu'il prenne.
5. Retirer délicatement le(s) peigne(s) et transférer le plateau de gel dans le réservoir principal.

Utilisation du moule à gel:



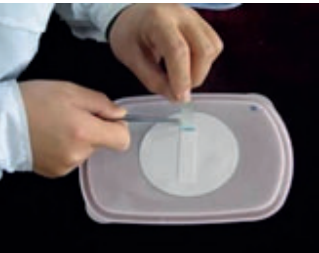
1. Placer le moule à gel sur une surface plane.
2. Placez un plateau de montage sur le moule à gel et maintenez les deux extrémités du plateau collées au tapis de silicone du moule à gel.
3. Insérer la clé dans un trou adapté à la taille du plateau.
4. Tourner la clé pour fixer le bac à gel.
5. Placer le(s) peigne(s) dans le plateau.
6. Verser l'agarose avec précaution afin de ne pas générer de bulles. Les bulles produites peuvent être lissées et dispersées à l'aide d'une pointe de pipette.
7. Laissez le gel tranquille et attendez qu'il prenne.
8. Retirer délicatement le(s) peigne(s) et transférer le plateau de gel dans le réservoir principal.

Utilisation d'une membrane en acétate de cellulose:

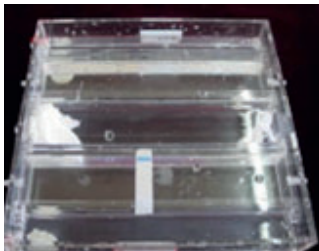
1. Placer la membrane dans le tampon, complètement immergée.



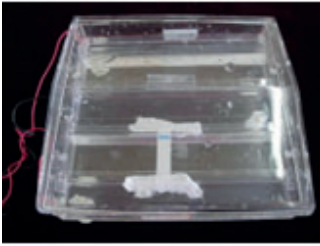
2. S'il n'y a qu'un seul échantillon, couper une bande de la membrane à utiliser.



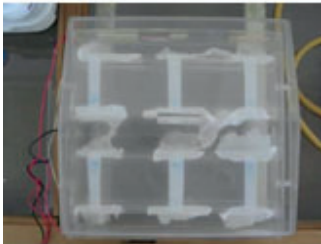
3. Immerger l'échantillon liquide et le tamponner sur la membrane.



4. Placez la membrane sur les deux barres mobiles qui traversent le pont.



5. Maintenir les deux bords de la membrane immergés dans le tampon du réservoir.



6. La barre mobile peut être ajustée en fonction de la taille de la membrane d'acétate de cellulose.

La course du gel:

1. Mélanger l'échantillon avec la solution tampon (voir ci-dessous pour les tampons courants).
2. Verser le tampon dans la cuve jusqu'à ce que le gel soit submergé, environ 1 mm plus haut. Cela permettra de réaliser l'expérience en moins de temps et d'obtenir une meilleure qualité de résolution de l'échantillon.
3. Chargez les échantillons dans les puits à l'aide de pipettes. Des pipettes multicanaux avec des peignes compatibles MC peuvent être utilisées pour charger les échantillons.
Chargement de l'échantillon pour l'électrophorèse sur membrane d'acétate de cellulose : Immerger l'échantillon liquide et imprimé dans la membrane d'acétate de cellulose.
4. Recouvrez soigneusement le réservoir avec le couvercle et raccordez-le à une source d'alimentation.
5. En général, les gels fonctionnent entre 90V et 50V. Il convient de noter qu'une tension plus élevée permet généralement une électrophorèse plus rapide, mais une résolution de l'échantillon de moins bonne qualité.
6. Effectuer une électrophorèse.

Coloration et visualisation des gels:

1. Placer le gel avec le volume approprié de bromure d'éthidium 0,5ug/ml dans une boîte de coloration et colorer pendant 15~30 minutes ; voir les solutions ci-dessous pour la concentration de coloration et ajuster le volume utilisé en conséquence. La boîte de coloration doit être couverte.
REMARQUE : le bromure d'éthidium est soupçonné d'être cancérigène et des précautions de sécurité doivent être prises.
2. Désinfecter le gel pendant 10 à 30 minutes dans de l'eau distillée en veillant à ce que le gel soit complètement immergé.
3. Rincer le gel deux fois pendant quelques secondes avec de l'eau distillée.
4. Placer le gel dans un transilluminateur UV.

5. Les échantillons apparaissent souvent comme des bandes plus claires et plus lumineuses lorsqu'ils sont photographiés ou visualisés à l'aide d'un système de documentation sur gel. Toutefois, si les bandes du gel sont trop faibles, la procédure de coloration doit être ajustée pour réduire la décoloration. S'il y a trop d'arrière-plan, la procédure de coloration doit être ajustée pour obtenir une décoloration plus importante.

Solutions:

1x TAE 40mM tris (pH 7.6), 20mM acide acétique, 1mM EDTA.

50x (1L) dissoudre dans 750 ml d'eau distillée :

242 g de tris base (FW=121)

57,1 ml d'acide acétique glacial

100 ml EDTA 0,5M (pH 8,0)

Remplir d'eau distillée jusqu'à 1 litre.

1x TBE 89mM tris (pH 7.6), 89mM acide borique, 2mM EDTA.

10x (1L) dissoudre dans 750 ml d'eau distillée :

108 g de tris base (FW=121)

55 g d'acide borique (FW=61,8)

40 ml d'EDTA 0,5M (pH 8,0)

Remplir d'eau distillée jusqu'à 1 litre.

Colorant de chargement de l'échantillon

Le tampon de chargement 10x est composé de 50% de glycérol, 0,25% de bleu de bromophénol et 0,25% de xylène cyanol FF dans un tampon TAE 1x. Seuls 1 à 10 ml du colorant de chargement 10x doivent être préparés.

Solution de bromure d'éthidium

Ajouter 10 mg de bromure d'éthidium à 1 ml d'eau distillée.