

KIT A LA RECHERCHE DE MON PERE

Réf. 910 201

Objectifs de l'expérience

Grâce à cette expérience, les étudiants comprendront comment l'électrophorèse sur gel d'agarose permet de séparer différentes molécules colorantes de tailles différentes représentant des fragments d'ADN. Ils apprendront également comment ces fragments forment des profils uniques d'ADN pour chaque être humain, ce qui est un fondement pour ensuite analyser des fragments d'ADN de l'identité maternelle et paternelle.

Table des matières

| | |
|---|---------|
| • Composants de l'expérience | Page 2 |
| • Equipements nécessaires | Page 3 |
| • Informations générales | Page 3 |
| • Procédures de l'expérience | |
| ○ Vue d'ensemble de l'expérience | Page 6 |
| ○ L'électrophorèse sur gel d'agarose | Page 8 |
| ○ Esprit critique et développement d'une hypothèse – Questions d'études | Page 10 |
| • Guide de l'instructeur | |
| ○ Vue d'ensemble des préparations préalables | Page 11 |
| ○ Préparations préalables | Page |
| ○ Résultats de l'expérience et Analyse | Page |
| ○ Réponses – Questions d'études | Page |
| • Annexes | |
| ○ A – Guide d'aide EDVOTEK® | Page |
| ○ B – Préparation des gels d'agarose | Page |
| ○ C – Entraînement pour la manipulation du gel | Page |

Composants de l'expérience

LES ECHANTILLONS READY-TO-LOAD™ POUR ELECTROPHORESE

Conservez les échantillons QuickStrip™ au réfrigérateur après la réception de ceux-ci. Tous les autres composants peuvent être conservés à température ambiante.

| Composants (format QuickStrip™) | Validation (✓) |
|--|--------------------------|
| A – Colorants étalons avec leur paire de base équivalente assignée | <input type="checkbox"/> |
| B – ADN de la Mère 1 | <input type="checkbox"/> |
| Conservez les échantillons QuickStrip™ au réfrigérateur | <input type="checkbox"/> |
| immédiatement après réception. Tous les autres composants peuvent être conservés à température ambiante. | <input type="checkbox"/> |
| F – Père | <input type="checkbox"/> |

Cette expérience est conçue pour la préparation de 10 gels.

All experiment components are intended for educational research only. They are not to be used for diagnostic or drug purposes, nor administered to or consumed by humans or animals.

REACTIFS ET FOURNITURES

| Composants | Validation (✓) |
|-------------------------------------|--------------------------|
| Solution pour le gel d'entraînement | <input type="checkbox"/> |
| UltraSpec-Agarose™ | <input type="checkbox"/> |
| Tampon d'électrophorèse (50X) | <input type="checkbox"/> |
| Pipete d'1 mL | <input type="checkbox"/> |
| Eprouvette graduée de 100 mL | <input type="checkbox"/> |
| Pipetes de transfert micro-tippées | <input type="checkbox"/> |

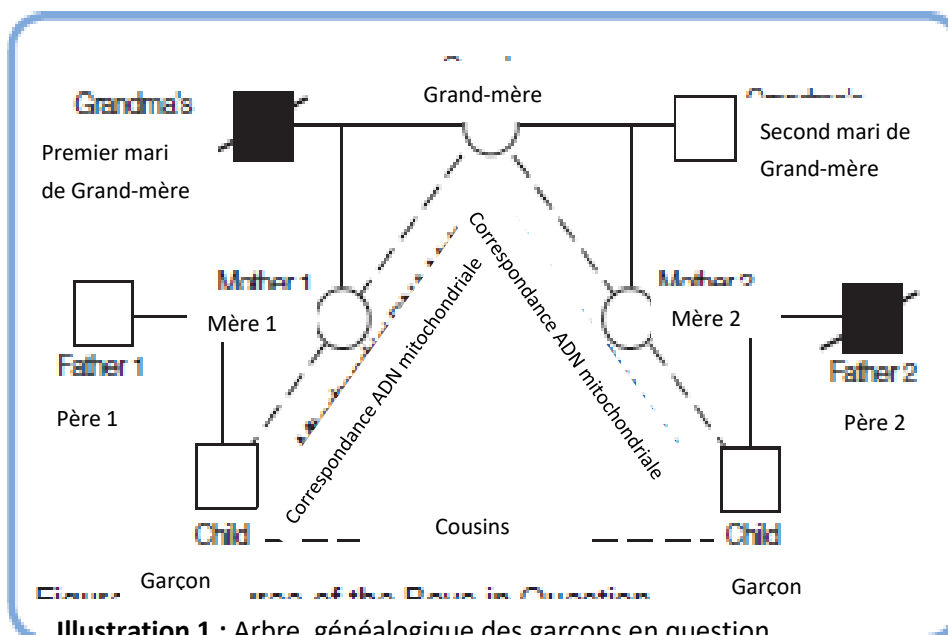
Tous les composants de l'expérience sont destinés à des recherches éducatives seulement. Ils ne conviennent pas à un usage diagnostic ou à titre médicamenteux et ne peuvent être administrés ou consommés par des humains ou des animaux

Equipements nécessaires

- Une cuve pour électrophorèse verticale.
- Une source d'alimentation
- Des micropipettes automatiques avec embouts
- Une balance
- Un four à micro-ondes, une plaque chauffante ou un bec électrique.
- Une poire à pipeter
- Des flacons ou béchers de 250ml
- Des gants de protection contre la chaleur
- Un appareil permettant la visualisation (une boîte à lumière blanche ou un transilluminateur)
- De l'eau distillée ou desionisée

Informations générales

Dans un pays meurtri par la guerre, deux jeunes enfants furent séparés de leurs parents respectifs, emprisonnés par le régime ennemi. Ces enfants étaient cousins, avaient deux mois de différence d'âge et se ressemblaient énormément. Leurs mères étaient des demi-sœurs : elles avaient la même mère (cf. Illustration 1). Après plusieurs années, le régime fut renversé et remplacé par un nouveau gouvernement, libérant donc tous les prisonniers de guerre. Les prisonniers ont réintégré leurs communautés respectives et



K11 A LA RECHERCHE DE MON PERE – Ref. 910 201

toutes les charges à leur encontre furent abandonnées.

Pendant cette période, les deux garçons étaient très proches puisqu'ils furent adoptés par un officier militaire de haut rang qui n'avait pas eu d'enfant. L'officier et sa femme décédèrent pendant une révolte et les enfants furent placés à l'orphelinat pendant plusieurs années. A leur dix-huitième anniversaire, les garçons prirent leur indépendance et commencèrent immédiatement leurs recherches pour découvrir qui étaient leurs parents.

Ils contactèrent plusieurs personnes âgées de leur village dont certains leur avaient répondu. Selon eux, après que leurs pères biologiques furent libérés de prison, un des pères fut assassiné par des opposants du nouveau gouvernement. Le deuxième père biologique vivait lui dans le village, mais il souffrait malheureusement d'amnésie. Deux femmes que l'on pouvait considérées comme leurs mères biologiques étaient dans un centre de rééducation qui accueillait près de 200 femmes. A leur arrivée dans le centre, il était indéniable que les patients n'avaient pas reçu de vrais soins médicaux pendant plusieurs années. En se basant sur leur âge et leur apparence, à peu près 10 femmes correspondaient au profil de leurs mères.

DETERMINATION DE LA FILIATION EN UTILISANT LES EMPREINTES GENETIQUES

Premièrement, les garçons ont cherché à déterminer qui, parmi les 10 femmes du centre, étaient leurs mères en réalisant une analyse de l'ADN mitochondrial des empreintes génétiques. Les mitochondries, que l'on surnomme la centrale énergétique de la cellule, sont des organites uniques qui contiennent un petit génome d'ADN. Ce génome est très utile dans l'identification de la maternité puisque les mitochondries ont hérité de la lignée féminine (maternelle). Avant la conception, un ovule humain contient grand nombre de mitochondries. En revanche, les spermatozoïdes humains ne contiennent que très peu de mitochondries. Après la fécondation de l'ovule humain grâce au spermatozoïde, les zygotes en développement contiennent des mitochondries appartenant à l'ovule de la mère.

Les analyses d'ADN mitochondrial grâce aux empreintes génétiques peuvent être utilisées comme une technique de pré-sélection puisqu'elles sont moins coûteuses que d'autres tests comme l'analyse de l'ADN chromosomique dont les résultats sont disponibles peu de temps après le test. Dans ce cas, puisque les garçons sont cousins (leurs mères sont demi-sœurs et elles ont la même mère), les résultats de l'analyse mitochondriale serait la même pour les deux garçons. L'analyse a pu identifier deux

femmes dont l'ADN mitochondrial des empreintes génétiques était similaires à celui des garçons.

Pour que les garçons puissent identifier leurs pères, des tests d'ADN chromosomal ont été commandé pour les garçons, leurs mères et le père survivant. L'ADN chromosomal présent dans le noyau de chaque cellule vivante est un matériel génétique qui agit comme un calque de toutes les protéines synthétisées par cette cellule. Contrairement à l'ADN mitochondrial, l'ADN chromosomal est composé grâce aux deux parents à niveau égal. Dans chaque paire de chromosomes, l'un est hérité du père tandis que le second est hérité de la mère. Même si la plupart de l'ADN est identique entre les individus, il existe des petites séquences différentes ou des polymorphismes à des endroits précis du génome. Ces polymorphismes comprennent des changements de paires de base simples et des éléments répétitifs d'ADN. En examinant plusieurs zones polymorphiques, nous pouvons générer une empreinte unique d'ADN.

Les empreintes génétiques nous ont permis de distinguer un individu d'un autre. Du fait que les polymorphismes sont hérités, les empreintes génétiques peuvent aussi être utilisées pour déterminer la paternité ou la maternité (et autres relations familiales). Pour déterminer la filiation, les empreintes des garçons ont été comparées avec les empreintes du père survivant et des deux mères. Puisque l'ADN chromosomal est hérité des deux parents, l'empreinte génétique d'un enfant contient un mélange des polymorphismes de ses deux parents. Le modèle est donc facilement reconnaissable sur l'appariement des bandes d'ADN sur le gel et peut être démontré dans une expérience de simulation.

Vue d'ensemble de l'expérience

LES OBJECTIFS DE L'EXPERIENCE :

Grâce à cette expérience, les étudiants comprendront comment l'électrophorèse sur gel d'agarose permet de séparer différentes molécules colorantes de tailles différentes représentant des fragments d'ADN. Ils apprendront également comment ces fragments forment des profils uniques d'ADN pour chaque être humain, ce qui est un fondement pour ensuite analyser des fragments d'ADN de l'identité maternelle et paternelle.

HYPOTHESE DE TRAVAIL :

Les échantillons d'ADN collectés des mères et des pères sont examinés dans des zones polymorphiques variables, ensuite il sera possible de déterminer si l'ADN des enfants correspond à celui de leur mère et potentiellement de leur père en réalisant une méthode d'analyse d'ADN par empreinte génétique.

LA SECURITE DU TRAVAIL EN LABORATOIRE :

- Portez des gants et des lunettes de protection dans le laboratoire.
- Faites attention lorsque vous manipulerez dans le laboratoire : vous utiliserez des équipements qui ont été chauffés et des composants qui ont fondu.
- Ne jamais pipeter les réactifs avec la bouche, utilisez les paires à pipeter !
- Faites attention lorsque vous utiliserez des équipements électriques dans le laboratoire.
- Lavez-vous bien les mains avec de l'eau et du savon après avoir réalisé l'expérience.

LES CARNETS DE LABORATOIRE :

Les scientifiques documentent et expliquent tout ce qu'il se passe lors d'une expérience, comme les conditions expérimentales mais aussi les pensées et différentes observations lors du déroulé de celle-ci, et, bien entendu, les informations scientifiques récoltées. Aujourd'hui vous documenterez cette expérience dans un carnet de laboratoire ou sur une feuille vierge.

Avant de commencer l'expérience :

- Lisez attentivement l'introduction et le protocole. Utilisez ces informations pour formuler une hypothèse sur cette expérience.
- Estimez quels seront les résultats de votre expérience.

Pendant l'expérience : Notez vos observations.

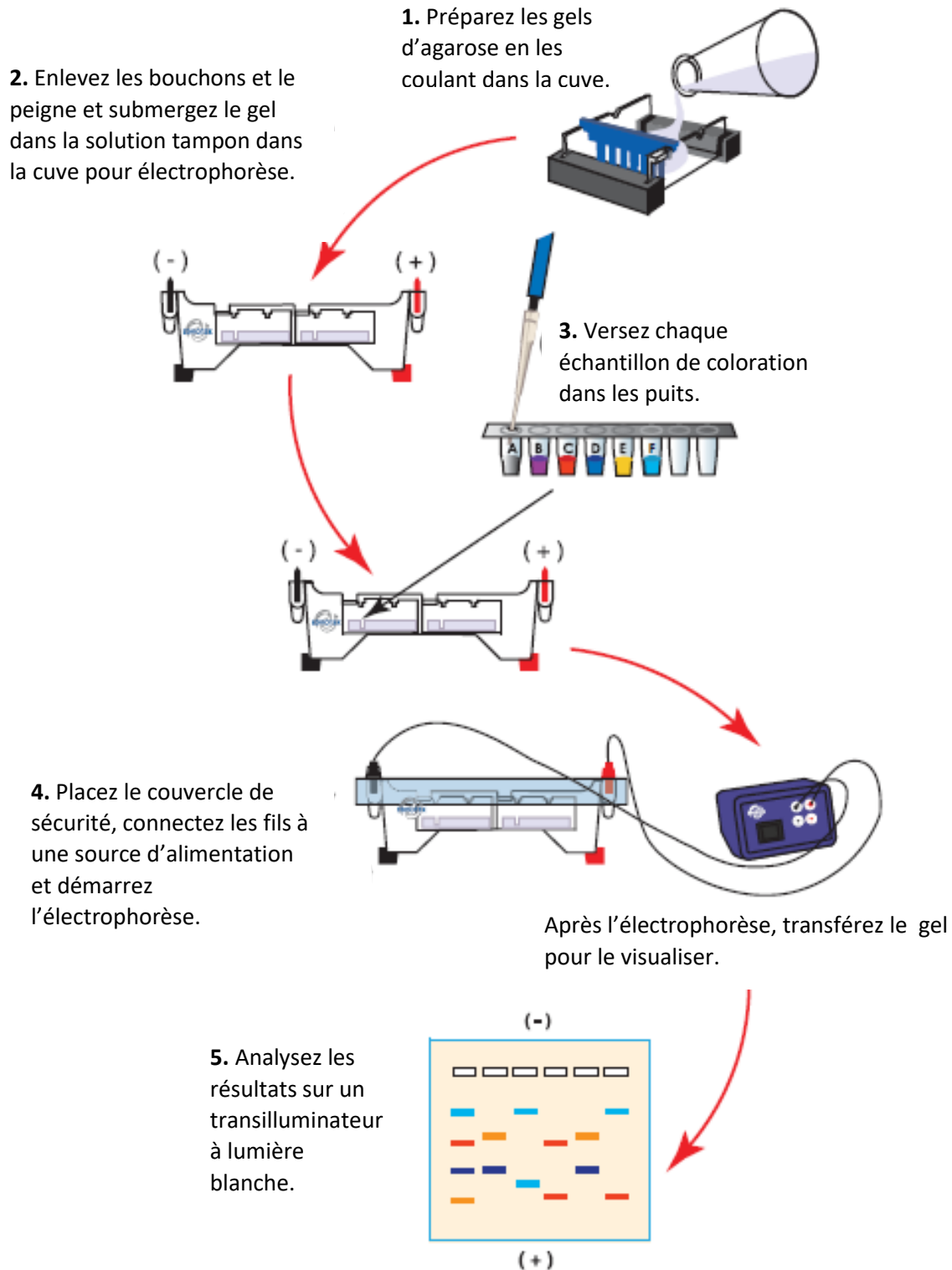
Après l'expérience :

- Interprétez les résultats : est-ce que vos données collectées appuient ou contredisent votre hypothèse ?
- Si vous deviez recommencer cette expérience, que changeriez-vous ? Corrigez



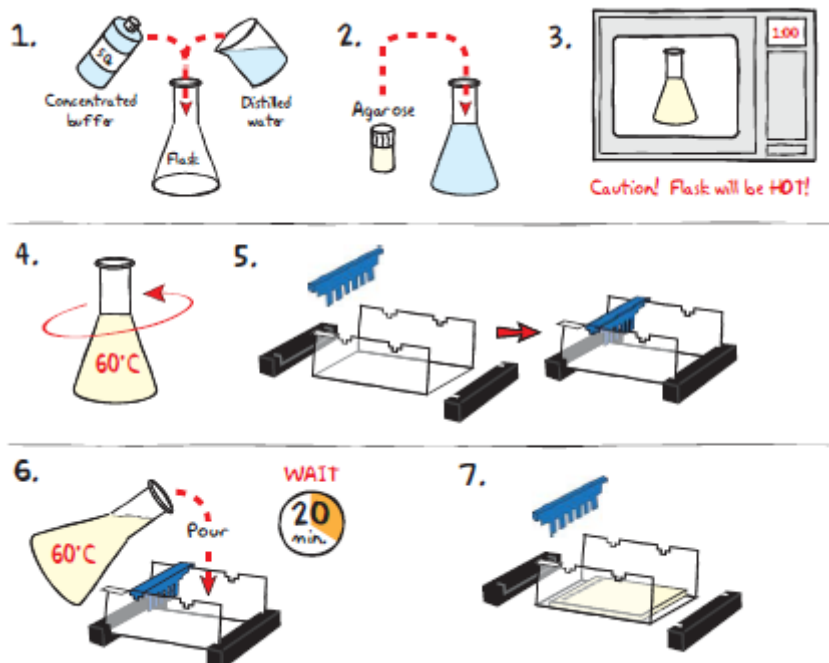
vosre hypothèse pour expliquer ce changement.

Vue d'ensemble de l'expérience



Les gels électrophorétiques différeront selon l'expérience réalisée.

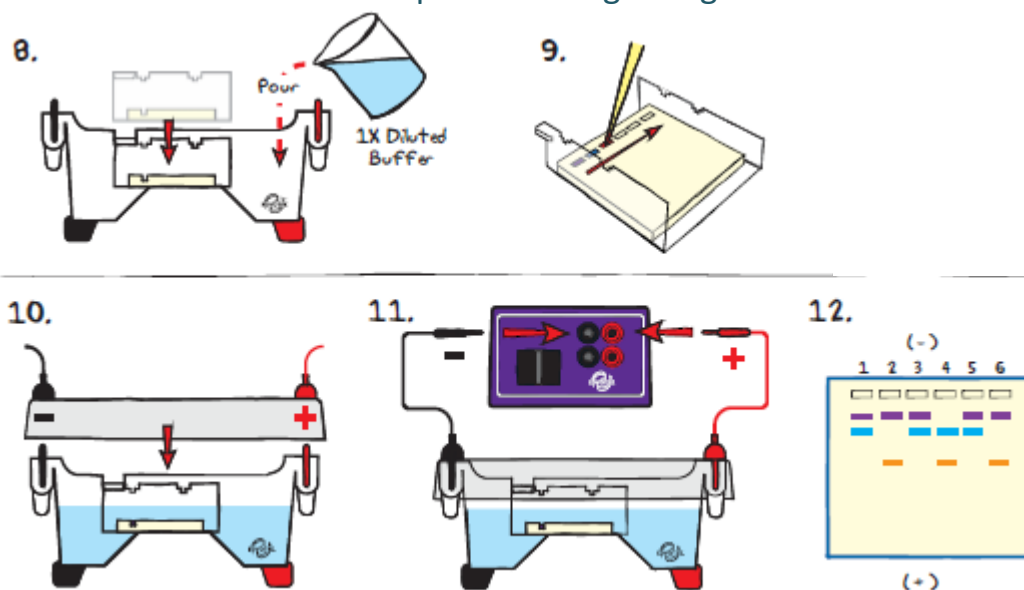
L'électrophorèse sur gel d'agarose



- Diluez** le tampon concentré (50X) avec de l'eau distillée pour créer un nouveau tampon (1X) (cf. Tableau A).
- Mélangez** la poudre d'agarose avec le nouveau tampon (1X) dans un flacon de 250 mL (cf. Tableau A).
- Dissolvez** la poudre d'agarose en faisant bouillir la solution. **Réchauffez** la solution dans le four à micro-ondes pendant une minute à la plus haute puissance. **Enlevez** avec précaution le flacon du four et **mélangez** en agitant celui-ci. Continuez à **réchauffer** la solution pendant 15 secondes jusqu'à ce que l'agarose se dissolve (la solution doit être aussi transparente que de l'eau claire).
- Refroidissez** l'agarose jusqu'à 60°C en agitant le flacon avec précaution afin de dissiper la chaleur.
- Pendant que l'agarose refroidit, **fermez** les extrémités du bac de gel avec les embouts en caoutchouc. **Placez** le peigne dans l'encoche appropriée.
- Versez** la solution d'agarose refroidie dans le bac de gel. Le gel devrait se solidifier en moins de 20 minutes. Le gel va donc durcir et devenir de moins en moins transparent.
- Enlevez** les embouts en caoutchouc et le peigne. Faites très attention lorsque vous enlèverez le peigne afin de ne pas endommager les puits.

| Tableau A | Gel individuel d'agarose (0,8%) | | | VOLUME TOTAL |
|----------------------|---------------------------------|---------------|--------------------|--------------|
| Taille du bac de gel | Tampon concentré (50x) | Eau distillée | Quantité d'agarose | |
| 7 x 7 cm | 0.6 mL | 29.4 mL | 0.23 g | 30 mL |
| 7 x 10 cm | 1.0 mL | 49.0 mL | 0.39 g | 50 mL |

L'électrophorèse sur gel d'agarose



RAPPEL

Si vous n'avez jamais coulé de gel, nous vous conseillons de réaliser l'activité optionnelle que vous trouverez dans l'annexe C avant de réaliser cette expérience.

Avant de prélever vos échantillons, assurez-vous que le gel soit bien orienté dans la cuve pour électrophorèse.

8. **Placez** le gel dans la cuve d'électrophorèse. **Recouvrez** le gel avec un tampon d'électrophorèse (1X) (cf. Tableau B pour les volumes recommandés). Le gel doit être entièrement recouvert.
9. **Percez** le film protecteur de l'échantillon QuickStrip™ avec l'embout de votre pipete. **Déposez** le contenu de chaque échantillon (35-38 μ L) dans les puits l'un après l'autre. Vous trouverez les désignations de chaque échantillon dans le Tableau 1.
10. **Placez** le couvercle de sécurité. **Assurez-vous** que le gel soit bien stable. N'oubliez pas que les prélèvements d'ADN doivent migrer jusqu'à l'électrode positive (l'électrode rouge).
11. **Connectez** les fils à la source d'alimentation et **démarrez** l'électrophorèse (cf. Tableau C pour connaître les indications de temps et de tension).
12. Après l'électrophorèse, **enlevez** le gel et le bac de la cuve d'électrophorèse afin visualiser les résultats. La coloration de ce gel n'est pas nécessaire.

| Tableau 1 | Chargement du gel | |
|-----------|-------------------|-------------------|
| 1 | Tube A | Colorants étalons |
| 2 | Tube B | Mère 1 |
| 3 | Tube C | Mère 2 |
| 4 | Tube D | Garçon 1 |
| 5 | Tube E | Garçon 2 |
| 6 | Tube F | Père |

| Tableau B | Chargement du gel | | |
|-------------------|-------------------|------------------------|---------------|
| Modèle EDVOTEK | VOLUME TOTAL | Dilution | |
| | | Tampon concentré (50X) | Eau distillée |
| M6+ | 300 mL | 6 mL | 294 mL |
| M12 | 400 mL | 8 mL | 392 mL |
| M36 (bleu) | 500 mL | 10 mL | 490 mL |
| M36 (transparent) | 1000 mL | 20 mL | 980 mL |

| Tableau C | Indications de temps et de tension | |
|------------------------------|------------------------------------|--|
| Electrophorèse des colorants | | |
| Tension (V) | Temps recommandé | |
| 125 | 20 min | |
| 70 | 45 min | |
| 50 | 90 min | |

Esprit critique et développement d'une hypothèse

1. Quelle est la variable dans cette expérience ?
2. Quel est le contrôle dans cette expérience ?
3. Que pourrait-on modifier dans cette expérience si l'on devait la recommencer ?
4. Formulez une hypothèse sur ce que permettrait ce changement.
5. En se basant sur les résultats obtenus de l'analyse du gel, quel enfant a retrouvé son père et sa mère ? Justifiez votre réponse.

Questions d'études

1. Que représentent les différents colorants étalons qui ont été séparés par l'électrophorèse ?
2. Pourquoi des individus différents, tels que des frères et sœurs, ont des empreintes génétiques différentes ?
3. Quel est le fondement de l'analyse de l'ADN mitochondrial des empreintes génétiques ?
4. Quelle est la différence entre les analyses de l'ADN mitochondrial et de l'ADN chromosomal ?

Guide de l'instructeur

VUE D'ENSEMBLE GENERALE DE LA PREPARATION DU LABORATOIRE

Cette partie présente les différentes préparations recommandées du laboratoire et le temps requis pour réaliser chaque activité.

| Que faire ? | Quand? | Temps approximatif |
|--|---|--------------------|
| Préparer les échantillons QuickStrip™ | Au maximum 24 heures avant le début de l'expérience | 40 minutes |
| Préparer le tampon dilué pour électrophorèse | | |
| Préparer l'agarose fondue et couler le gel | | |

NOTE

Il est indispensable d'utiliser les quantités exactes recommandées afin de réussir cette expérience. Si vos étudiants ne sont pas habitués à utiliser les micropipettes, nous vous recommandons de réaliser l'activité optionnelle de l'annexe C avant de réaliser l'expérience.

Préparations préalables

SEPARATION DES PRODUITS PCR PAR L'ELECTROPHORESE DU GEL D'AGAROSE

Pour cette expérience, chaque groupe d'étudiants doit avoir un gel d'agarose 0.8%. Vous pouvez choisir de préparer ces gels à l'avance ou alors de laisser vos étudiants préparer leur gel individuel. Prévoyez entre 30 et 40 minutes pour réaliser cette préparation.

La préparation du gel individuel

Chaque groupe d'étudiants peut s'occuper de la préparation du gel qu'il utilisera pour réaliser cette expérience. Référez-vous à la partie réservée aux étudiants. Vos étudiants auront besoin de tampon concentré (50X), de l'eau distillée et de la poudre d'agarose.

La préparation du gel par lot

Pour gagner du temps, une plus large quantité de solution d'agarose peut être préparée pour ensuite être partagée à l'ensemble de la classe. Référez-vous à l'annexe B.

Chaque groupe d'étudiant doit avoir du tampon concentré (50X), de l'eau distillée, de la poudre d'agarose et des échantillons Ready-to-Load™.

Préparer les gels à l'avance

Les gels peuvent être préparés à l'avance et conservés pour une utilisation ultérieure. Les gels solidifiés peuvent être conservés immergés de tampon au réfrigérateur pendant deux semaines maximum.

Ne congelez pas vos gels à -20°C puisque cela les détruirait.

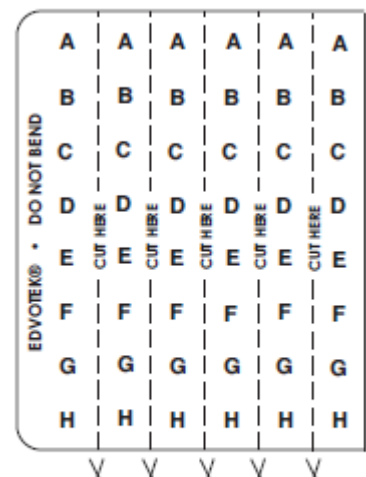
Les gels qui ont été retirés des cuves pour une conservation au réfrigérateur doivent être mouillés avec quelques gouttes d'agarose fondue avant de les replacer dans leur cuve. Cela empêchera les gels de glisser dans la cuve et dans l'appareil pour électrophorèse.

PREPARER LES ECHANTILLONS QUICKSTRIP™

Les tubes QuickStrip™ sont constitués d'une plaque de microtitrage protégée par un film de protection. Chaque puit contient les colorants pré-aliquotés.

En utilisant des ciseaux à bouts pointus, séparer les tubes de la plaque en bandes individuelles en coupant avec précaution les lignes le long des colonnes (cf. diagramme). Assurez-vous de ne pas abîmer le film protecteur lorsque vous séparerez les échantillons.

Chaque groupe de travail doit recevoir un lot de tubes. Avant de charger les gels, rappelez à vos étudiants de tapoter les tubes pour que l'échantillon ne reste pas bloqué au fond du tube.



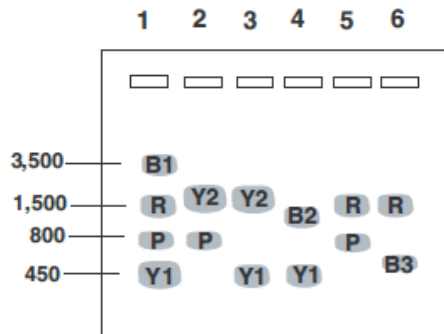
Coupez avec précaution entre chaque lot de tubes.



Résultats de l'expérience et Analyse

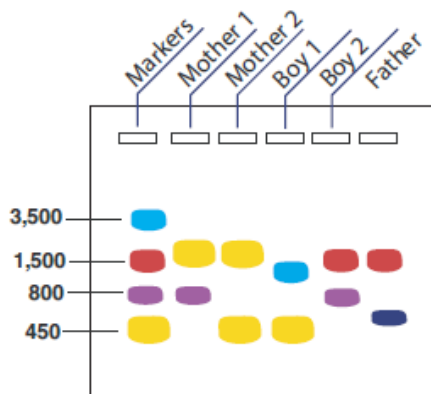


S-49 gel result photo



Color legend

| | |
|----|----------|
| B1 | Blue 1 |
| B2 | Blue 2 |
| B3 | Blue 3 |
| P | Purple 1 |
| R | Red |
| Y1 | Yellow 1 |
| Y2 | Yellow 2 |



Dans les deux schémas idéalisés, les positions relatives des molécules colorantes sont montrées mais ne sont pas représentées à l'échelle.

| NUMERO | TUBE | ECHANTILLON |
|--------|------|-------------------|
| 1 | A | Colorants étalons |
| 2 | B | Mère 1 |
| 3 | C | Mère 2 |
| 4 | D | Garçon 1 |
| 5 | E | Garçon 2 |
| 6 | F | Père |

La bande mauve du Garçon 2 ressemble à la bande mauve de la Mère 1. La bande rouge du Garçon 2 ressemble à la bande rouge du Père. On peut en conclure que le Garçon 2 est l'enfant de la Mère 1 et du Père dans ce scénario.

La bande jaune la plus basse du Garçon 1 correspond à la bande jaune de la Mère 2. Aucune des bandes jaunes du Garçon 1 ne ressemble à celle du père. On peut en conclure que le Garçon 1 est l'enfant de la Mère 2 et du père décédé.

Les réponses aux questions d'études se trouvent à l'intérieur du kit.

Annexes

A – Guide d'aide EDVOTEK®

B – Réaliser l'expérience PCR avec deux bains-marie

C – Préparation du tampon d'électrophorèse et des gels d'agarose

Annexe A – Le guide d'aide EDVOTEK®

| Problème ? | Cause ? | Réponse |
|--|--|---|
| Les bandes ne sont pas visibles sur le gel. | Le tampon pour électrophorèse n'a pas été bien préparé. | Assurez-vous que le tampon pour électrophorèse soit dilué entièrement. |
| | Les colorants ont migré du gel car les fils de connexion ont été inversés. | Assurez-vous que les fils de connexion soient correctement connectés. |
| | Mauvais fonctionnement de l'appareil pour électrophorèse ou de la source d'alimentation. | Rapprochez-vous de votre fournisseur en question. |
| Je ne vois qu'une bande colorée très pâle après l'électrophorèse. | Il y a eu une erreur dans le pipetage. | Assurez-vous que les étudiants pipètent 35 µL d'échantillon de coloration par puit. |
| Il y a peu de séparation de bandes. | Le gel n'a pas été préparé correctement. | Assurez-vous de préparer un gel d'agarose 0.8%. |
| Les bandes de coloration ont disparu après que les gels aient été conservés à 4°C. | Les molécules colorantes sont petites et ne vont pas s'intégrer au gel. | Les résultats doivent être analysés à la fin de l'électrophorèse. |

Annexe B – Préparation des gels d'agarose

Pour gagner du temps, il est possible de préparer le tampon pour électrophorèse et la solution de gel d'agarose en grande quantité pour les partager ensuite à la classe. Le tampon restant pourra être utilisé ultérieurement et la solution solide de gel d'agarose pourra être fondue à nouveau.

PREPARATION DU TAMPON POUR ELECTROPHORESE

La quantité de préparation pour 3 litres de tampon pour électrophorèse (1X) est indiquée dans le Tableau D.

PREPARATION DES GELS D'AGAROSE (0.8%)

La quantité de préparation pour les gels d'agarose (0.8%) est indiquée dans le Tableau E.

1. Utilisez un flacon de 500 mL pour préparer le tampon dilué pour gel.
2. Versez 3 grammes de poudre d'agarose dans le tampon préparé. Agitez celui-ci afin de disperser les résidus.
3. Avec un marqueur, indiquez le niveau du volume de la solution à l'extérieur du flacon.
4. Réchauffez la solution d'agarose comme indiqué précédemment pour la préparation de gel individuel. Le temps de chauffage doit être ajusté vis-à-vis du volume total de la solution.
5. Laissez refroidir la solution d'agarose à 60°C en agitant le flacon pour permettre la dissipation de la chaleur. S'il y a eu une évaporation, ajoutez de l'eau distillée pour ramener la solution à son volume initial indiqué grâce au trait de marqueur.
6. Préparez le volume recommandé de solution d'agarose refroidie pour couler chaque gel. Le volume recommandé dépend du bac de gel que vous utiliserez et du type de coloration ADN que vous choisirez. Référez-vous à l'annexe A ou B pour les indications.
7. Laissez le gel se solidifier complètement. Il deviendra alors froid et dur au toucher en 20 minutes. Ensuite, commencez la préparation du gel pour électrophorèse.

| Tableau D | Préparation du tampon pour électrophorèse | |
|------------------------|---|--------------|
| Tampon concentré (50X) | Eau distillée | VOLUME TOTAL |
| 60 mL | 2,940 mL | 3000 mL (3L) |

| Tableau E | Préparation du lot de gel d'agarose (0.8%) | | |
|--------------------|--|---------------|--------------|
| Quantité d'agarose | Tampon concentré (50X) | Eau distillée | VOLUME TOTAL |
| 3,0 g | 7,5 mL | 382,5 mL | 390 mL |

Les composants du kit UltraSpec-Agarose™ sont étiquetés avec leurs quantités exactes. Veuillez lire l'étiquette avec attention. Si la quantité d'agarose n'est pas spécifiée ou si le bouchon de la bouteille est cassé, pesez l'agarose pour afin d'être sûr d'utiliser les quantités exactes.

Annexe C – Entraînement pour la manipulation du gel

Une technique de distribution d'échantillons très précise assure la réussite de l'expérience et de meilleurs résultats de visualisation du gel. Les erreurs de pipetage peuvent permettre à l'échantillon de se diluer avec le tampon ou encore d'endommager les puits avec l'embout pour pipete en préparant le gel.

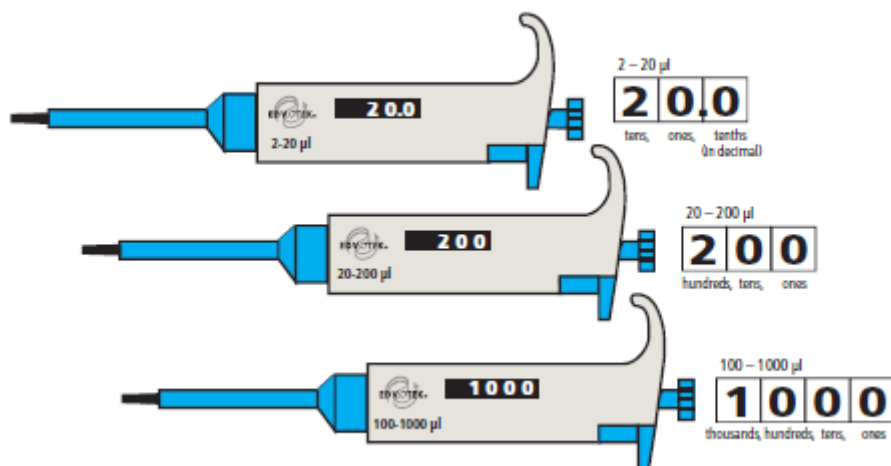
Si vous n'avez pas l'habitude de travailler avec des échantillons et du gel d'agarose, nous vous recommandons de vous entraîner avant de réaliser cette expérience. Les expériences d'électrophorèse par EDVOTEK contiennent un tube de solution de gel d'essai pour cette utilisation. Nous vous recommandons donc de vous entraîner comme indiqué ci-dessous :

1. Coulez un gel avec un nombre maximal de puits possibles.
2. Après la solidification du gel, placez-le en dessous du tampon dans une cuve pour électrophorèse.
Alternative : votre instructeur a peut-être coupé le gel en différentes sections entre les rangées de puits. Placez un bout de gel avec des puits dans une petite cuve peu profonde et submergez-le de tampon ou d'eau.
3. Procédez ensuite au versement de la solution de gel dans les puits d'échantillons. Assurez-vous de ne pas endommager ou percer les puits avec l'embout pour pipete.
 - a. Pour une électrophorèse des colorations, versez 35 à 38 μL de l'échantillon dans le puit à échantillon.
 - b. Si vous utilisez des pipetes de transfert, remplissez chaque puit d'échantillon jusqu'à ce qu'il soit plein.
4. Si vous avez besoin de vous exercer encore, enlevez la solution de gel en injectant du tampon dans les puits avec une pipete de transfert.
5. Remplacez le gel d'entraînement par un nouveau gel pour réaliser l'expérience.

Le gel d'agarose est aussi appelé « gel sous-marin » puisqu'il est submergé de tampon pour le prélèvement des échantillons et pour la séparation des produits par électrophorèse.

Note : si vous utilisez du gel d'entraînement dans la cuve pour électrophorèse, la solution de gel doit se diluer avec le tampon dans l'appareil. Cela n'empêchera pas le bon fonctionnement de votre expérience, donc il n'est pas nécessaire de préparer un nouveau tampon.

Annexe C – Entraînement pour la manipulation du gel



REGLER LE VOLUME D'UNE MICROPIPETTE AJUSTABLE

1. Choisissez la micropipette appropriée pour le volume que vous voulez mesurer. Assurez-vous que le volume à mesurer n'excède pas plus ou moins le réglage de volume de la micropipette.
2. Déterminez les unités mesurées par la micropipette en regardant le réglage de volume. Le réglage apparaîtra sur la fenêtre à côté de la micropipette. N'oubliez pas que les différentes micropipettes utilisent différentes échelles de mesure. Certaines sont précises pour un dixième de microlitre, tandis que d'autres sont précises au microlitre près.
3. Réglez le volume en ajustant le piston. En règle générale, ajuster le piston réduit ou augmente le volume.

Nous contacter:

sav@sciencethic.com

www.sciencethic.com