Cuve à électrophorèse ADN / protéines

Réfs. CUV2G et CUV6G

COMPOSITION DU COLIS :

Pour la référence CUV2G :

- 1 cuve avec électrodes en platine intégrées
- 1 couvercle avec 2 fils électriques
- 2 moules à gel d'agarose gradués (70 x 70 mm) transparents
- 1 moule à gel d'agarose gradué (70 x 140 mm) transparent
- 4 cales en caoutchouc noires
- 2 peignes bleu pour gel à 6 puits
- 2 peignes blanc pour gel à 8 et 10 puits

Pour la référence CUV6G :

- 1 cuve avec électrodes en platine intégrées
- 1 couvercle avec 2 fils électriques
- 6 moules à gel d'agarose gradués (70 x 70 mm) transparents
- 12 cales en caoutchouc noires
- 6 peignes bleu pour gel à 6 puits

MATERIEL NECESSAIRE :

- Agarose, tampon de préparation du gel et micro-ondes ou bandes d'acétate de cellulose et pinces fines
- ADN et tampon de charge ou protéines à déposer
- Tampon salin (TBE pour l'ADN et tampon TRIS 10x Glycine pour les protéines)
- Matériel pour réaliser les dépôts
- Produits pour révélation et facilitation de lecture (colorants, UVs, solution de transparisation…)
- Générateur pour réaliser la migration (70V à 110V pour l'électrophorèse d'ADN et 135V voire plus pour l'électrophorèse de protéines) : nous vous conseillons nos générateurs parfaitement adaptés à nos cuves.

MATERIEL CONSEILLE :

- Micropipettes
- Pelles à gel pour les manipulations
- Kits de travaux pratiques fournis avec des notices d'utilisation (« Electrophorèse de l'ADN : digestion et carte de restriction », « Electrophorèse de l'ADN : Digestion et localisation de sites de coupure », « Electrophorèse de l'ADN : Carte de restriction, et dépistage génétique », « Détection des anticorps par électrophorèse », « Drépanocytose : Electrophorèse des Hémoglobines A et S »)

UTILISATION DU MATERIEL

Les cuves CUV2G et CUV6G permettent l'électrophorèse sur gel d'agarose. La cuve CUV2G permet aussi l'électrophorèse sur bande d'acétate (nécessite l'utilisation du support de bandes d'acétate (ref. SBAC)).
Ces cuves sont à compléter par des générateurs (voltage compris entre 70 et 110 V pour la migration de l'ADN et 135V pour les protéines)

⬚NB⬚ : Nos kits de travaux pratiques sont fournis avec des notices explicatives détaillées. Cette présente fiche n'a pas le but de décrire des TPs mais seulement l'utilisation de la cuve.

Utilisation de la cuve pour électrophorèse sur gel d'agarose (réf CUV2G, CUV6G) :

Préparation des gels d'agarose :

Préparer un gel au pourcentage voulu d'agarose dans du tampon salin
Faire fondre ce gel
Attendre un refroidissement partiel (jusqu'à environ 55-60°C)

Monter le moule en utilisant le moule en plastique transparent gradué (7 x 7 cm) en emboitant les 2 cales noires pour rendre le moule étanche

Disposer le peigne du nombre de puits voulus à l'un des deux emplacements prévus sur le moule : au milieu pour une électrophorèse de protéines et sur un bord pour l'électrophorèse d'ADN

Couler le gel :
- environ 25 à 30 mL de gel sont nécessaires pour les moules 70x70mm
- environ 50 à 60 mL de gel sont nécessaires pour les moules 70x140mm

⬚NB⬚ : Le gel mesure quelques mm d'épaisseur et va se solidifier en refroidissant pour revenir plus solide et prendre une teinte très légèrement blanche (moins transparent que le gel encore chaud)

Dépôt sur le gel :

Enlever délicatement le peigne du gel solidifié
Retirer les cales noires

Placer le gel avec son support dans la cuve (un seul sens est possible) et remplir la cuve de tampon salin jusqu'à ce que le gel soit recouvert de quelques mm

⬚NB⬚ : les puits du gel doivent être immergés et remplis de liquide

👁👁 ATTENTION 👁👁 : il ne faut pas conserver le gel hors du tampon une fois que le gel est solidifié, il pourrait se dessécher et donner de mauvais résultats

Réaliser les dépôts dans les puits (20 microL pour le peigne à 6 puits, 12 microL pour le peigne à 8 puits et 10 microL pour le peigne à 10 puits)

👁👁 ATTENTION 👁👁 : une fois les dépôts réalisés, il faut mettre en route la migration assez rapidement pour éviter la diffusion des dépôts

Lancement de l'électrophorèse :

Fermer le couvercle de la cuve (le noir sur les connections noires et le rouge sur les connections rouges)
Vérifier que le générateur est éteint ou hors tension
Connecter les fils du couvercle au générateur
Brancher le générateur au secteur
Mettre le générateur en marche sur le voltage choisi (70 V à 110 V pour l'ADN et 135 V pour les protéines)

⬚NB⬚ : La formation de petites bulles du côté de l'électrode noire (cathode) est un témoin de bon fonctionnement

Arrêt de l'électrophorèse : (lorsque les marqueurs de migration utilisés sont à la position voulue)

Eteindre le générateur et le déconnecter du courant
Débrancher les fils du couvercle
Ouvrir la cuve
Sortir le gel sur son support

NB : la durée de l'électrophorèse dépend de plusieurs facteurs : le générateur utilisé, l'épaisseur du gel, la quantité de tampon utilisée, sa dilution…

Révélation du gel :

ATTENTION : le gel est fragile et peut glisser du support ou bien se casser lors des manipulations, vous pouvez utiliser des pelles à gel pour faciliter les déplacements

Utilisation de la cuve pour électrophorèse sur bandes d'acétate de cellulose (réf CUV2G) :

Préparation des bandes d'acétate de cellulose :

Mettre des gants et des lunettes
Laver les bandes dans le tampon de migration
Les sécher sur du papier filtre
Placer les bandes d'acétate de cellulose à l'aide de pinces fines sur le support blanc (ref. SBAC) avec précaution en respectant le sens
Tendre les bandes à l'aide des élastiques sur les côtés du support

Réalisation des dépôts : avec des pasteurettes ou des micro-capillaires.

Lancement de l'électrophorèse de protéines :

ATTENTION : une fois les dépôts réalisés, il faut mettre en route la migration assez rapidement pour éviter la diffusion des dépôts

Déposer le support de bande d'acétate (ref. SBAC) sur le fond plat de la cuve
Verser du tampon TRIS 10x Glycine dans la cuve en prenant bien soin d'immerger les pieds de support de bande de quelques millimètres. La bande d'acétate doit tremper de part et d'autre mais surtout ne pas être complètement immergée.
Fermer le couvercle de la cuve (le noir sur les connections noires et le rouge sur les connections rouges)
Vérifier que le générateur est éteint ou hors tension
Connecter les fils du couvercle au générateur
Brancher le générateur au secteur
Mettre le générateur en marche sur le voltage choisi (135 V)

NB : La formation de petites bulles du côté de l'électrode noire (cathode) est un témoin de bon fonctionnement

Arrêt de l'électrophorèse :(lorsque les marqueurs de migration utilisés sont à la position voulue)

Eteindre le générateur et le déconnecter du courant
Débrancher les fils du couvercle
Ouvrir la cuve
Sortir les bandes avec leur support

NB : la durée de l'électrophorèse dépend de plusieurs facteurs : le générateur utilisé, la quantité de tampon utilisée, sa dilution…

Révélation des bandes : coloration, décoloration (éventuellement transparisation)

FICHE SECURITE (guide non exhaustif)

Lorsque vous manipulez la cuve et que vous faites les dépôts, veillez à ce que les fils du couvercle ne soient pas connectés au générateur, lui-même hors tension ou éteint.
Lorsque vous connectez les fils du couvercle au générateur, prenez garde à ce que le générateur soit hors tension ou en position éteinte. N'allumez le générateur que lorsque la cuve est bien fermée par le couvercle et que le fils sont correctement connectés : rouge sur borne rouge et fil noir sur borne noire.
Lorsque vous voulez arrêter l'électrophorèse, arrêtez d'abord le générateur, déconnectez le du secteur puis enlevez le couvercle de la cuve.

FICHE TRI ET RECUPERATION

Les cuves à électrophorèse sont garanties à vie sauf en cas d'utilisations non conformes.

Les pièces en plastique de la cuve peuvent être jetées dans les bacs de récupération du plastique et les électrodes de métal dans les containers pour le métal.