

MODE D'EMPLOI

CUVES ELECTROPHORESE

LN4000 (MSMINI)

LN4100 (MSMIDI)

LN4200 (MSCHOICE)

LN4300 (MSMAXI)

LN4400 (MSSCREEN)

LN4500 (FMMS10)

MSCHOICEST

MSBGEL

MSMIDI96

MSMIDI96ST

MULTISUB4

PRÉCAUTIONS DE SÉCURITÉ



BIEN UTILISÉS, CES APPAREILS NE POSENT AUCUN RISQUE POUR LA SANTÉ.
TOUTEFOIS, CES APPAREILS PEUVENT PRODUIRE DES NIVEAUX
DANGEREUX D'ELECTRICITÉ ET NE DOIVENT ÊTRE UTILISÉS QUE PAR UN
PERSONNEL QUALIFIÉ SELON LES GUIDELINES SPÉCIFIÉS DANS CE
MANUEL D'INSTRUCTIONS.

QUICONQUE DÉSIRE UTILISER CET ÉQUIPEMENT DOIT LIRE
ATTENTIVEMENT L'INTÉGRALITÉ DE CE MANUEL.

IL NE FAUT JAMAIS UTILISER L'APPAREIL SI LE COUVERCLE DE SÉCURITÉ
N'EST PAS BIEN POSITIONNÉ.

L'APPAREIL NE DOIT PAS ÊTRE UTILISÉ S'IL PRÉSENTE DES SIGNES DE
DOMMAGES AU RÉSERVOIR EXTERNE OU AU COUVERCLE.

CES APPAREILS SONT CONFORMES AUX DIRECTIVES STATUTAIRES DE
SÉCURITÉ CE :

73/23/EEC : DIRECTIVE BASSE TENSION : IEC 1010-1:1990 plus
AMENDEMENT 1:1992
EN 61010-1:1993/BS EN 61010-1:1993

Guide et restrictions d'utilisation :

- Altitude maximale 2.000 m.
- Gamme de températures entre 4°C et 65°C.
- Humidité relative maximale 80% pour les températures jusqu'à 31°C, avec diminution linéaire jusqu'à 50% d'humidité relative à 40°C.
- Pas pour utilisation à l'extérieur.

Cet appareil est classé DEGRÉ DE POLLUTION 2 selon la norme IEC 664. Le DEGRÉ DE POLLUTION 2 spécifie que "Normalement, il ne survient qu'une pollution non-conductrice."

A l'occasion, toutefois, il faut s'attendre à une conductivité temporaire causée par de la condensation".

Entretien et Maintenance :

Nettoyage des unités horizontales

Les appareils se nettoient au mieux à l'eau tiède avec un détergent doux. **L'eau au-dessus de 60° C peut endommager l'appareil et ses composants.**

La cuve doit être rincée à fond à l'eau tiède ou à l'eau distillée pour prévenir la formation de sels, mais il faut prendre soin de ne pas endommager l'électrode incluse, et un nettoyage vigoureux n'est ni nécessaire, ni conseillé.

On préférera un séchage à l'air avant utilisation.

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

De l'eau tiède avec une faible concentration de savon ou d'un autre détergent doux.

Les détergents compatibles incluent le liquide de vaisselle, l'hexane et les hydrocarbures aliphatiques.

Les appareils ne doivent pas être exposés aux détergents plus de 30 minutes.

Les appareils ne doivent jamais entrer en contact avec les agents nettoyants suivants : ils provoqueraient des dommages irréversibles et cumulatifs :

acétone, phénol, chloroforme, tétrachlorométhane, méthanol, éthanol, alcool isopropylique, bases.

Décontamination des ribonucléases

On peut l'effectuer en suivant le protocole suivant :

Nettoyez les appareils avec un détergent doux comme décrit plus haut.

Lavez au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 3% pendant 10 minutes.

Rincez avec de l'eau distillée traitée à 0,1% DEPC (diéthyl pyrocarbonate).

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

Vous pouvez aussi utiliser RNaseZAP™ (Ambion). Consultez les instructions d'utilisation sur les cuves de gel acrylique.

Mise en place des cuves de gel horizontales :

Instructions de mise en place des câbles d'électrode (hors MSBGEL)

1. Notez la position du couvercle de l'appareil. Elle indique la bonne polarité et la bonne orientation des câbles : noir est négatif, rouge est positif.
2. Enlevez le couvercle de l'appareil. Notez que si le couvercle n'est pas enlevé, mettre les câbles en place peut entraîner le desserrage de la prise dorée et l'endommagement de l'électrode.
3. Vissez les câbles dans les orifices filetés autant que possible pour qu'il ne reste aucun intervalle entre le couvercle et le bord avant du raccordement de câble.
4. Remettez le couvercle en place.

Instructions de mise en place des guides de chargement (hors FMMS10)

Vous pouvez les mettre en place pour améliorer la visibilité des puits si vous le désirez. Vous pouvez les adapter à la plateforme de vinyle blanche ou à l'appareil lui-même.

1. Amenez la plaque dans l'appareil et notez la position des fentes des peignes. Les échantillons courent du noir au rouge mais les plaques peuvent s'utiliser à l'avant ou à l'arrière, aussi assurez-vous que les fentes de peigne les plus proches de l'électrode noire sont bien marquées.
2. Enlevez la plaque.
3. Détachez l'arrière du guide de chargement et appliquez-le avec soin sur la plateforme à gel.

L'appareil est maintenant prêt à l'emploi.

Préparation de gel :

1. Le tableau 1 ci-dessous montre le volume de solution d'agarose nécessaire pour fabriquer le gel d'agarose désiré pour chaque taille de plaque de l'appareil. Pour un gel d'agarose standard de 0,7%, ajoutez 0,7 g d'agarose à 100 ml de solution 1x TAE ou TBE. La même solution 1x doit s'utiliser dans la solution tampon de la cuve.

Tableau 1.

Multi Sub Mini		Multi Sub Midi		Multi Sub Choice		Multi Sub Maxi	
Plaque	Volume de gel pour un gel de 5 mm d'épaisseur	Plaque	Volume de gel pour un gel de 5 mm d'épaisseur	Plaque	Volume de gel pour un gel de 5 mm d'épaisseur	Plaque	Volume de gel pour un gel de 5 mm d'épaisseur
7x7 cm	25 ml	10x7 cm	35 ml	15x7 cm	52,5 ml	20x10 cm	100 ml
7x10 cm	35 ml	10x10 cm	50 ml	15x10 cm	75 ml	20x15 cm	150 ml
				15x15 cm	112,5 ml	20x20 cm	200 ml
						20x25 cm	250 ml

Multi Sub Screen		Mini Rapide	Battery
Plaque	Volume de gel pour un gel de 5 mm d'épaisseur	Volume de gel pour un gel de 5 mm d'épaisseur	Volume de gel pour un gel de 5 mm d'épaisseur
26 x 16 cm	208 ml	40 ml	25 ml
26 x 24 cm	312 ml		
26 x 32 cm	416 ml		

Multi Sub Midi 96		Multi Sub Midi 96 Stretch		Multi Sub-4	
Volume de gel pour un gel de 5 mm d'épaisseur	Volume de gel pour un gel de 5 mm d'épaisseur	Plaque	Volume de gel pour un gel de 4x5 mm d'épaisseur		
60 ml	120 ml	8 x 6 cm	96 ml		
		8 x 12 cm	192 ml		
		8 x 18 cm	288 ml		

2. Versez la poudre d'agarose dans une fiole conique.
3. Versez la quantité appropriée de solution 1x TAE ou TBE selon le tableau ci-dessus. Pour prévenir l'évaporation pendant les étapes de dissolution ci-dessus, il faut couvrir la fiole conique par du parafilm.
4. Dissolvez la poudre d'agarose en chauffant l'agarose soit sur une plaque chauffante avec un barreau magnétique, soit dans un four à micro-ondes. Si vous utilisez un four à micro-ondes, il faut le régler à environ 400 watt ou au réglage médian, et il faut agiter la fiole toutes les minutes. Il faut chauffer la solution jusqu'à ce que tous les cristaux aient été dissous. On le voit mieux sur un arrière-plan clair. Les cristaux apparaissent translucides. Ils interféreront avec la migration de l'échantillon s'ils ne sont pas complètement dissous.

Il faut refroidir le gel entre 50°C et 60°C avant de le verser.

Déversement du gel :

La gamme d'appareils CSL Multi Sub autorise trois différentes méthodes de coulage de gel :

Barrières

Flexicaster

Bande traditionnelle

Utilisation de plaques avec Casting Dams (hors FMMS10, Battery ou MultiSUB4) :

1. Placez les barrières au-dessus de chaque extrémité de la plaque et disposez l'ensemble sur une surface horizontale. Les barrières doivent être disposées de façon à éviter tout intervalle entre les côtés de la plaque et la fente dans les barrières. Cela garantira l'impossibilité de toute fuite du gel.
2. Placez le(s) peigne(s) dans les fentes. Chaque plaque comporte plusieurs fentes de peigne, de sorte qu'il est possible d'utiliser plusieurs peignes. Utiliser plusieurs peignes augmente le nombre d'échantillons disponibles par gel mais augmente la durée de la séparation et il faut prendre soin de vérifier que les échantillons du premier puits ne vont pas migrer dans les bandes du deuxième puits.
3. Versez avec précautions l'agarose de façon à ne pas générer de bulles. Toute bulle qui surviendrait peut être lissée, expulsée vers les bords du gel et dispersée par la pointe d'une pipette.
4. Laissez l'agarose reposer en veillant à ce que rien ne vienne le perturber.
5. Enlevez avec précautions les barrières de déversement du gel et le peigne et transférez la plaque contenant le gel dans la cuve principale.

Utilisation du Flexicaster :

1. Assurez l'horizontalité de la base du Flexicaster en réglant les pieds, de façon que la bulle soit exactement au centre.

2. Insérez la plaque de longueur désirée dans le Flexicaster de façon qu'une extrémité de la plaque soit poussée et assure l'étanchéité tout contre le coussinet de silicone de l'extrémité permanente du Flexicaster.
3. Positionnez l'extrémité mobile du Flexicaster de façon que le coussinet de silicone soit poussé contre l'autre extrémité de la plaque.
4. Tournez la came pour que le coussinet en silicone assure l'étanchéité sur le côté de la plaque. Versez avec précautions l'agarose de façon à ne pas générer de bulles. Toute bulle qui surviendrait peut être lissée, expulsée vers les bords du gel et dispersée par la pointe d'une pipette.
5. Laissez l'agarose reposer en veillant à ce que rien ne vienne le perturber.
6. Enlevez avec précautions les barrières de déversement du gel et le peigne et transférez la plaque contenant le gel dans la cuve principale.

Par la méthode de la bande traditionnelle :

1. Il faut utiliser une bande d'autoclave ou une bande à support plastique. Il faut couper une longueur 5 cm plus longue que la largeur de chaque extrémité de la plaque. Une longueur doit être placée sur une extrémité de la plaque et coller sur 1 cm à l'intérieur de la plaque. Il faut ensuite la plier et assurer l'étanchéité des bords. Répétez pour l'autre extrémité et placez l'ensemble sur une surface horizontale pour verser le gel.
2. Placez le(s) peigne(s) dans les fentes. Chaque plaque comporte plusieurs fentes de peigne, de sorte qu'il est possible d'utiliser plusieurs peignes. Utiliser plusieurs peignes augmente le nombre d'échantillons disponibles par gel mais augmente la durée de la séparation et il faut prendre soin de vérifier que les échantillons du premier puits ne vont pas migrer dans les bandes du deuxième puits.
3. Versez avec précautions l'agarose de façon à ne pas générer de bulles. Toute bulle qui surviendrait peut être lissée, expulsée vers les bords du gel et dispersée par la pointe d'une pipette.
4. Laissez l'agarose reposer en veillant à ce que rien ne vienne le perturber.

5. Enlevez avec précautions les barrières de déversement du gel et le peigne et transférez la plaque contenant le gel dans la cuve principale.

Versement dans les unités Mini Rapide et Battery :

1. Disposez les barrières dans les fentes de l'appareil situées à 10 mm du fil de platine. Assurez-vous qu'elles sont enfoncées aussi profondément que possible. Cela assurera une bonne étanchéité et l'impossibilité de toute fuite de gel. Une petite quantité de Vaseline ou de graisse d'étanchéité en bas et sur les côtés des barrières augmentera encore la protection contre les fuites.
2. Placez le(s) peigne(s) dans les fentes. Chaque plaque comporte plusieurs fentes de peigne, de sorte qu'il est possible d'utiliser plusieurs peignes. Utiliser plusieurs peignes augmente le nombre d'échantillons disponibles par gel mais augmente la durée de la séparation et il faut prendre soin de vérifier que les échantillons du premier puits ne vont pas migrer dans les bandes du deuxième puits.
3. Versez avec précautions l'agarose de façon à ne pas générer de bulles. Toute bulle qui surviendrait peut être lissée, expulsée vers les bords du gel et dispersée par la pointe d'une pipette.
4. Laissez l'agarose reposer en veillant à ce que rien ne vienne le perturber.
5. Enlevez avec précautions les barrières de déversement du gel et le peigne.

Utilisation du gel :

1. Mélangez l'échantillon à charger avec le tampon d'échantillon – reportez-vous aux solutions pour tampons d'échantillon courants. D'habitude, 3 µl de tampon d'échantillon conviennent, mais on peut en utiliser moins avec des volumes d'échantillon de moins de 10 µl.
2. Remplissez l'appareil de tampon jusqu'à ce que le gel soit juste plongé dans le tampon. Cela donnera la meilleure résolution en temps. Pour améliorer la qualité

de résolution de l'échantillon, remplissez l'appareil jusqu'à 5 mm au-dessus du gel.

3. Chargez les échantillons dans les puits avec des pipettes. Vous pouvez utiliser des pipettes multicanales (MC) pour charger des échantillons avec des peignes compatibles MC. Reportez-vous au listing des accessoires pour les identifier.

4. Placez avec soin le couvercle sur la cuve et connectez l'appareil à une alimentation électrique (hors CSL-HBSET, glissez la section de base dans la section du couvercle : l'appareil se lancera automatiquement).

5. Typiquement, on utilise les gels entre 90 et 150 volts. Toutefois, les tensions maximales sont indiquées sur l'étiquette de série de chaque appareil. Il faut noter que des tensions plus fortes donnent généralement des résolutions plus rapides mais de moins bonne qualité de l'échantillon.

Coloration et visualisation du gel :

Les plaques Multi Sub et l'appareil Mini Fast permettent d'effectuer une coloration sans enlever le gel de la plaque pour Fast Mini) si on le préfère.

1. Transférez le gel dans un récipient contenant le volume approprié de 0,5 µg/ml de bromure d'éthidium pour 15–30 minutes. Reportez-vous aux concentrations des solutions de colorant et ajustez le volume utilisé en conséquence. Il faut couvrir tout le gel.

NOTE : On suspecte le bromure d'éthidium d'être cancérigène et les précautions de sécurité nécessaires doivent être prises.

2. Décolorez le gel pendant 10–30 minutes dans l'eau distillée en vous assurant que le gel est complètement immergé.

3. Rincez le gel deux fois pendant quelques secondes à l'eau distillée.

4. Transférez le gel sous un Transilluminateur UV.

5. Les échantillons apparaîtront souvent sous forme de bandes claires et lumineuses quand on les photographie ou vues avec un système de documentation de gel. Toutefois, si les bandes de gel sont trop floues, il faut adapter la procédure de coloration pour réduire la décoloration. S'il y a trop de

bruit de fond, il faut adapter la procédure de coloration pour augmenter la décoloration.