

RÉALISATION D'UNE ÉLECTROPHORÈSE A L'AIDE DE FLASHGEL

(Cuve à électrophorèse LONZA « Flashdock » et alimentation en courant continu, cassette « Flashgel »)

Préparation de la cuve

- **Préparer la cassette** : enlever l'autocollant de protection blanc recouvrant la cassette.
- **Inonder** les puits avec de l'eau distillée, incliner la cassette pour éliminer l'excès d'eau et essuyer avec un papier absorbant, sans toucher les puits,
- **Placer la cassette sur l'appareil**, les fils doivent rester débranchés lors de la manipulation suivante.

Dépôt d'ADN

ATTENTION Il faut réaliser les dépôts en stabilisant le mouvement par calage des coudes sur la paillasse et veiller à ne pas percer le fond du puits et à changer les embouts entre chaque dépôt.

- **Déposer avec** une micropipette une solution d'ADN dans un puits sans débordement : la cuve utilisée nécessite un volume d'ADN de 4 μ L.
 - **Déposer**, de la même manière, dans un deuxième puits à côté du précédent la deuxième solution d'ADN.
- Si le dépôt ne paraît pas satisfaisant (débordement par exemple), un second essai peut être réalisé dans les puits situés à côté. Dans ce cas, bien repérer les puits conservés pour l'électrophorèse.

Mise en route de l'électrophorèse et migration (la migration doit avoir lieu juste après les dépôts)

- **Brancher** la cuve au générateur et faire migrer de 160 à 270 volts suivant le temps de migration souhaité (5 à 8 minutes). Le pôle négatif (= cathode) doit être du côté du dépôt.
- **Mettre en route** l'éclairage et observer la migration. La source de lumière possède sa propre alimentation (fiche à l'arrière de l'appareil - ne jamais éclairer en absence de cassette sur l'appareil) : les divers fragments de chaque tube se séparent rapidement.
- **Débrancher** les fils d'alimentation avant de retirer la cassette.