



Nouvelle technique de purification et de préparation des échantillons depuis l'ADNg jusqu'à la séquence sans utiliser de tampons commerciaux.

Par Pall Life Sciences / Division Laboratoire - Pascal Zénoni / Directeur des Ventes

tél:+33 (0)1 30 61 38 36 - Portable +33 (0)6 85 83 72 64 - pascal_zenoni@europe.pall.com -www.pall.com/lab

Utilisation des plaques filtrantes AcroPrep pour la purification d'acide nucléique : de la purification d'ADN génomique jusqu'à la purification de séquences.



Les plaques filtrantes AcroPrep permettent aux techniciens de laboratoire de purifier de manière rapide et efficace les acides nucléiques. Cette méthode est robuste et peu onéreuse car elle ne nécessite aucun tampon commercial.

Par ailleurs, cette technologie permet l'utilisation des méthodes d'extractions déjà en place dans les laboratoires. En conséquence, aucune nouvelle validation n'est nécessaire.

Ci-dessous les références AcroPrep à utiliser en fonction des acides nucléiques à purifier:

1. ADNg (réf PALL5051)
2. Produits PCR (réf PALL5035)
3. Purification de Séquences (réf PALL5030+G50 ou réf PALL5034)

Purification de produits PCR (AcroPrep, réf PALL5035)

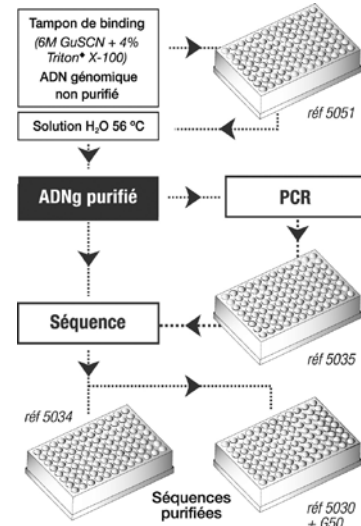
1. Transférer les produits PCR dans la plaque filtrante AcroPrep (volume maxi 300 µL).
2. Placer la plaque AcroPrep sur le manifold (réf PALL5017) et appliquer un vide de 20 inHg pendant 5 et 12 minutes. ou bien

centrifuger (500-3000g) pendant 10 minutes. jusqu'au séchage de la membrane.

3. Laver avec 40 µL d'eau
4. Appliquer le vide ou bien centrifuger pendant 5 minutes. jusqu'au séchage de la membrane
5. Ajouter 20 µL d'eau (ou TE) minimum pour resuspendre vos produits PCR en vortexant 15 minutes à 1 100 rpm ou bien en faisant une 10aine d'aller/retour avec un pipette.

Charte de purification depuis l'ADN génomique jusqu'à la purification de séquences

AcroPrep, réf 5051, 5035, 5034, 5030



Protocole d'extraction d'ADN de plante.

Matériel végétal : 6 disques de feuille jaune (6mm) à rajouter dans un deepwell de 2 mL > -80°C jusqu'à lyophilisation. Broyer le matériel dans le deepwell à l'aide de bille de verre. Utiliser la plaque AcroPrep GF 1 mL référence PALL5051.

Tampon d'extraction	Concentration
NaCl	0.5 M
Tris HCL, pH = 8.0	100 mM
EDTA, pH = 8.0	50 mM
SDS	1.25%
PVP40	1%
Metabisulfite sodium	1%
RNase A	10 µg/mL

Acétate de Potassium 5M/3M	
Tampon de binding	
GuSCN	6 M
Triton X-100	4% (w/v)

Tampon de lavage	
Tris HCL, pH = 8.0	22.5 mM
EDTA pH = 8.0	0.1 mM
Acétate de Potassium	160 mM
Ethanol	60%
TE 10/0.1 pH = 8.0	

2. Mélanger la plaque avec un vortex
3. Placer dans une étuve à 65 °C, 30 minutes
4. Ajouter Acétate de Potassium 3M/5M : V = 250 µL
5. Incubation : 4°C pendant 5 minutes
6. Centrifugation : 2 200g, 4°C pendant 15 minutes
7. Transférer le rétentat dans le deepwell 2 mL #2: V = 600 µL

Deepwell 2 mL #2

1. Tampon de Binding, V = 900 µL
2. Mélanger en faisant des aller/retour avec une pipette
3. Transférer #1 dans AcroPrep GF réf PALL5051, V = 750 µL

AcroPrep GF, référence 5051

1. Vide #1: 250 mm Hg, 30s maxi
2. Transférer #2, V = 750 µL
3. Vide #2: 250 mm Hg, 30s max
4. Tampon de lavage
5. Vide
6. Répéter l'étape de lavage
7. Sécher 20 minutes à 45°C
8. Eluer avec TE 10/0.1: V = 50 µL préchauffé
9. Incuber 5 minutes à température ambiante
10. Appliquer le vide pour éluer l'ADNg purifié dans un deepwell 1 mL #3
11. Répéter l'étape d'élution

Méthodes

Deepwell 2 mL #1

1. Tampon d'extraction à 65 °C : V = 800 µL

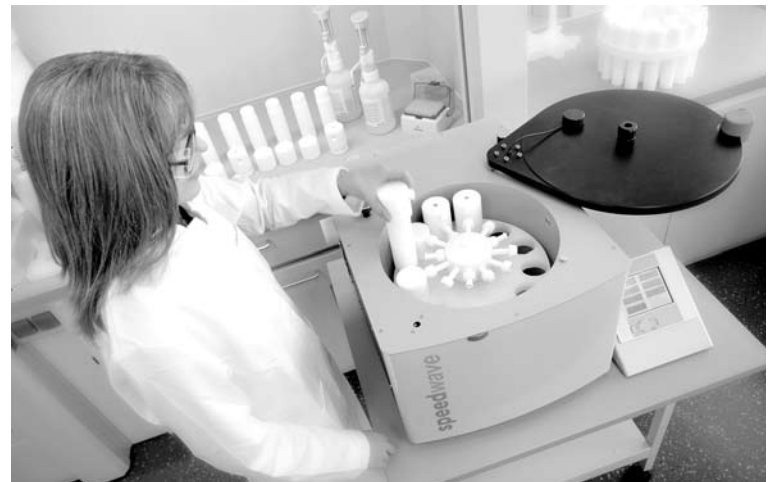
Pour l'extraction d'ADNg issu d'organismes autres que les végétaux, renseignez-vous

speedwave® four — Les frais d'utilisation les plus faibles en matière de minéralisation par micro-ondes

Berghof Products+Instruments GmbH - www.berghof.com

Contact / Auteur: Dr. Dieter Gutwerk- Tel.: +49 7121 894-202

Fax: +49 7121 894-300 - info@berghof-instruments.de



Système de minéralisation par micro-ondes speedwave® four

La minéralisation par micro-ondes est utilisée en routine pour la préparation d'échantillons en spectroscopie atomique. Les échantillons sont décomposés à des températures de 200 à 260°C dans des acides concentrés, à l'intérieur de réacteurs en polymère et ainsi dissous. La rentabilité de l'ensemble du système est définie par la rapidité de la manipulation et du temps nécessaire au travail ainsi que par les besoins en matériel consommable. À ce niveau, c'est sans aucun doute l'usure des réacteurs de minéralisation qui constitue de facteur de coût le plus important. Depuis plus de 10 ans, Berghof fabrique pour la minéralisation par micro-ondes des réacteurs en TFM™-PTFE dont la durée de vie est inégalée. La longévité

pendant l'utilisation en laboratoire étant supérieure à 3 ans, les frais d'exploitation diminuent à tel point que, chez Berghof, les réacteurs font partie intégrante de la garantie de l'appareil.

Le concept 'Top-Loading' de speedwave® four, assurant le chargement par le dessus, simplifie considérablement la manipulation. Plus besoin de soulever complètement le lourd plateau tournant pour le poser dans le four ! Le plateau reste dans le four et seuls les réacteurs sont placés individuellement et retirés de la même façon à l'issue de la minéralisation.

Les réacteurs chauffés sont retirés immédiatement après la minéralisation, de sorte que le système peut être aussitôt

Vos experts pour les technologies de l'ultra-propreté

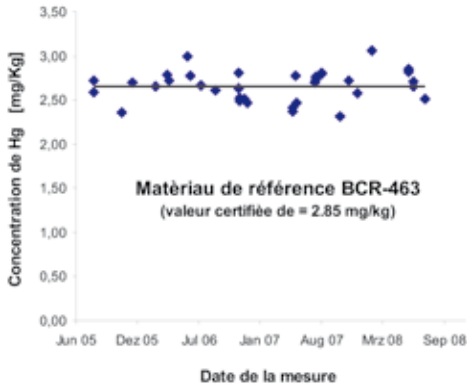
La sécurité grâce au confinement

SKAN AG
Binningerstrasse 116
CH-4123 Allschwil
T +41 61 485 44 44
F +41 61 485 44 45
info@skan.ch
www.skan.ch

elvetec
l'esprit de services

Ensemble, avec toujours une longueur d'avance

SKAN



Analyse de mercure dans du thon, après minéralisation avec DAP-60+ réacteurs (matière référentielle BCR-463, valeur certifiée de 2.85 mg/kg)

Le système d'aspiration de laboratoire compact VACUSAFE d'INTEGRA est la nouvelle solution de référence pour l'aspiration fiable et sans risque de déchets liquides.

Contrairement à nombre de systèmes d'aspiration « faits maison » assemblés à partir d'éléments non optimisés, le VACUSAFE est un produit spécialement adapté à l'élimination commode et sans risque de presque tous les déchets liquides. Le VACUSAFE dispose d'une série d'importantes fonctions de sécurité, parmi lesquelles une jauge fiable indiquant le niveau des déchets liquides afin de ne pas dépasser la capacité de la bouteille collectrice, ainsi que deux filtres hydrophobes empêchant les aérosols dangereux de pénétrer dans l'espace de travail du laboratoire. Les connecteurs rapides autobloquants

évitent les fuites après la déconnexion des tubes, et une poignée robuste permet de porter et de vider très facilement et sans effort la bouteille de déchets VACUSAFE. La large palette d'adaptateurs VACUBOY permet d'aspirer des liquides à partir de conteneurs de quasiment n'importe quel format. Grâce à une conception centrée sur l'utilisateur, l'aspiration de tous déchets liquides ou liquides dangereux à l'aide du VACUSAFE est un vrai plaisir plutôt qu'une tâche difficile.

Pour les laboratoires qui recherchent un système d'aspiration tout-en-un, le VACUSAFE comprend une pompe très silencieuse, une bouteille collectrice résistante aux chocs avec des connecteurs rapides et une poignée manuelle VACUBOY polyvalente. Le système est d'une utilisation très commode : il suffit de l'allumer, de définir l'aspiration désirée et de commencer à aspirer. VACUSAFE est un système d'aspiration de laboratoire idéal pour les très nombreuses situations où des déchets liquides doivent être retirés rapidement et de façon contrôlée.

Pour les laboratoires qui souhaitent utiliser une source d'aspiration existante tout en profitant au maximum des avantages de l'appareil, INTEGRA propose à présent un système VACUSAFE dépourvu de la pompe aspirante intégrée, à un prix qui le rend abordable pour presque tous les laboratoires.

Conçu pour être utilisé avec le système VACUSAFE, la poignée manuelle VACUBOY est un outil commode pour l'aspiration contrôlée de liquide sur simple pression d'un bouton. Connectée au système VACUSAFE, la poignée manuelle VACUBOY règle précisément le flux d'aspiration à l'aide d'une valve activée par pression d'un bouton et comprend différents adaptateurs d'aspiration s'adaptant à pratiquement tout type de conteneur ou de tube.

Retsch : la solution pour la préparation de vos échantillons !

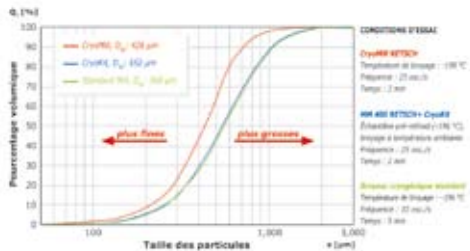
Par Retsch France - **Tel** : 01.34.64.29.53 - **Fax** : 01.34.64.44.50 - **info@retsch.fr** www.retsch.fr

Retsch France est une société du groupe Verder. Fondée en 1915, elle n'a cessé depuis d'innover dans le domaine du laboratoire. Son métier : trouver des solutions pour la préparation d'échantillons solides avec ses broyeurs. Ses tamisiers permettent des analyses reproductibles pour la répartition granulométrique de vos échantillons. La gamme est complétée par des diviseurs pour une meilleure représentativité de l'échantillon, des presses à pastiller pour la préparation à la fluorescence X et des sècheurs à lit fluidisé.

Retsch possède un **nouveau laboratoire d'essais** situé à Eragny-sur-Oise (95) permettant des essais d'échantillonnage, de broyage et de tamisage sur les produits les plus divers, tels que pierres, roches, verre, bois, papier, caoutchouc, cuir, textiles, céréales, épices, déchets ménagers et industriels, tabac, comprimés, etc....

Dans un contexte où le contrôle qualité prend une place de plus en plus importante dans le domaine de la production et du laboratoire et où la moindre erreur ne peut être permise, Retsch vous offre la possibilité de venir faire des essais dans son laboratoire ou de lui envoyer vos échantillons, afin de trouver une solution pour votre application.

Retsch met son expérience et ses compétences à votre service, en effet des **bus tours** et des séminaires sont organisés avec son **laboratoire mobile** en France afin de vous présenter les nouveautés : broyeur à couteaux SM100, SM200, GM200 et broyeur à rotor cyclone Twister.



Applications : broyer efficacement et simplement à -196°C

Le nouveau broyeur à bille Cryomill a été conçu pour rendre le broyage à l'azote liquide confortable et sécurisé. Avec ce broyeur, le bol de broyage est continuellement refroidi à l'azote liquide avant et pendant le broyage grâce au système de refroidissement intégré. L'échantillon est ainsi fragilisé et les composés volatils sont conservés.

Le Cryomill met moins de quelques minutes pour broyer avec une très grande efficacité, avec une fréquence de 25 Hz. Le principe de broyage est l'impact et la friction. Il permet d'obtenir des granulométries finales nettement plus fines que celles obtenues avec des broyeurs similaires pour le broyage cryogénique.

Exemple d'application : les polymères



Une analyse par fluorescence X requiert la préparation de divers échantillons. Pour ce faire, il faut commencer par broyer finement le matériau, une finesse d'au moins 500 µm devant être atteinte pour garantir un résultat fiable d'analyse. Des particules de petite taille sont préférables puisque les réflexions perturbatrices détectées sont moins nombreuses et que le matériau est par ailleurs plus homogène.

Broyeur à bille Cryomill

Les essais ont été réalisés avec trois broyeurs différents : le Cryomill Retsch, le vibro-broyeur MM400 Retsch avec le kit cryogénie et un broyeur standard pour le broyage cryogénique. L'échantillon utilisé était un morceau de pneu de voiture vendu dans le commerce. Pour le broyage dans le MM400, il a été pré-refroidi dans un récipient isolant (du kit cryogénie) rempli d'azote liquide puis broyé à température ambiante. La figure ci-dessus montre les résultats obtenus avec chacun des broyeurs. La quasi-similitude de ceux obtenus avec le MM400 combiné au kit cryogénie et ceux obtenus avec le broyeur standard est évidente alors que le Cryomill se distingue pour sa part, par une granulométrie finale nettement meilleure (>20% plus fine). D'autres polymères, comme par exemple la matière de rembourrage des sièges de voiture, sont très faciles à préparer dans le Cryomill. Normalement, ce type de matériau est broyé avec un broyeur à couteaux avec lequel il n'est toutefois guère possible d'obtenir des particules <1 mm, étant donné que l'échantillon s'échauffe beaucoup trop lors du processus de découpe. Le Cryomill se prête donc à ce genre d'applications puisqu'il s'avère d'une très grande efficacité, l'obtention de particules d'une finesse jusqu'à 200µm ne lui pose aucun problème.

Exemple d'application : le cuir

Un autre test consiste à broyer un gant en cuir. Le cuir est un matériau difficile à broyer. Un broyeur à couteaux serait le choix le plus judicieux, sachant toutefois que la granulométrie finale ne pourrait être que d'environ 1 mm. Afin d'obtenir une granulométrie plus fine, par exemple, pour l'extraction ou la digestion préalable à une analyse chromatographique ou spectrométrique, l'échantillon, a été préparé dans un broyeur cryogénique standard et dans le Cryomill. Le Cryomill est parvenu à une granulométrie finale d'env 250 µm tandis que le broyeur cryogénique standard n'a quasiment pas broyé le cuir. Les résultats de ces essais sont la preuve de l'efficacité du Cryomill.

Les applications concernées sont très diverses : aliments pour animaux, bois, boues, cheveux, comprimés, déchets, laine, plantes, os, papier, plastiques, produits chimiques, semences oléagineuses, sols, textiles, tissus, etc....



Lecteur de microplaques multi-mode

Synergy™

Nous ne développons pas seulement des lecteurs de microplaques multi-mode.

Nous proposons aussi des solutions sur mesure, précisément adaptées à vos différentes applications et à votre budget.

Contactez-nous, nous sommes à votre écoute.



BioTek France
BioTek Instruments GmbH
Bureau de Liaison France
50 avenue d'Alsace, 68025 Colmar Cedex
Tel: 03 89 20 63 29, Fax: 03 89 20 43 79
www.biotech.fr