



## Protocole du Bioanalyseur

À utiliser avec le kit ADN haute sensibilité Agilent pour le Bioanalyseur.

**Note :** Les colorants et les mélanges de colorants sont sensibles à la lumière et se décomposent lorsqu'ils sont exposés à la lumière. Conservez ces réactifs à l'abri de la lumière et n'enlevez les couvercles lumineux que pour le pipetage.

Les réactifs du bioanalyseur sont également sensibles à la température et doivent être réfrigérés à 4°C lorsqu'ils ne sont pas utilisés. On doit leur permettre d'atteindre la température ambiante avant de les utiliser dans le cadre du protocole.

**Note :** Veuillez consulter le guide de démarrage rapide du bioanalyseur ou le protocole de quantification détaillé pour obtenir de l'aide sur la mise en place de la station d'amorçage de la puce, y compris le remplacement de la seringue et l'ajustement de la plaque de base.

### Matériel :

- Système de bioanalyse Agilent 2100
- Station d'amorçage des puces
- Mélangeur vortex IKA
- Microcentrifugeuse (>13000g)
- Pipettes P10, P20, P200

### Consommables :

- Tubes de microcentrifugation de 1,5 ml à faible taux d'adsorption
- Embouts de pipette : P20, P200

### Réactifs :

- Agilent High Sensitivity DNA Kit

## Préparation du mélange Gel-Colorant

Cette étape n'est nécessaire que si vous n'avez plus de mélange gel-colorant, ou si cela fait plus de 6 semaines que vous n'avez pas préparé le mélange.

### Protocole :

1. Laisser le concentré de colorant ADN haute sensibilité (bleu) et la matrice de gel ADN haute sensibilité (rouge) s'équilibrer à température ambiante pendant 30 minutes.
2. Ajouter 15 µl de concentré de colorant ADN haute sensibilité (bleu) à un flacon de matrice de gel ADN haute sensibilité (rouge).
3. Bien agiter la solution au vortex et l'essorer. Transférer sur un filtre d'essorage.
4. Centrifuger à 2240 g (+/- 20 %) pendant 15 minutes. Protéger la solution de la lumière. Étiqueter le tube avec la date de préparation et le conserver à 4°C lorsqu'il n'est pas utilisé. Utiliser le mélange gel-colorant préparé dans les 6 semaines suivant sa préparation.



## Chargement du mélange gel-colorant

### Protocole :

1. Laisser le mélange gel-colorant s'équilibrer à la température ambiante pendant 30 minutes avant de l'utiliser.
2. Placer une nouvelle puce à ADN haute sensibilité sur la station d'amorçage de la puce.
3. Pipeter 9µL de mélange gel-colorant dans le puits marqué G.
4. S'assurer que le piston est positionné à 1mL et fermer la station d'amorçage de puce.
5. Appuyer sur le piston jusqu'à ce qu'il soit maintenu par le clip.
6. Attendez exactement 60 secondes, puis relâchez le clip.
7. Attendez 5 secondes, puis ramenez lentement le piston en position 1mL.
8. Ouvrir les stations d'amorçage de la puce et pipeter 9µL de mélange gel-colorant dans les puits marqués G.

## Chargement du marqueur, de l'échelle et des échantillons

### Protocole :

1. Pipeter 5µL de marqueur (vert) dans tous les puits d'échantillon et d'échelle. Ne pas laisser de puits vides.
2. Pipeter 1µL d'échelle d'ADN haute sensibilité (jaune) dans le puits marqué du symbole de l'échelle.
3. Dans chacun des 11 puits d'échantillon, pipeter 1µL d'échantillon (puits utilisés) ou 1µL de marqueur (puits non utilisés).

**Note :** Ce kit est optimisé pour des concentrations d'ADN de 100pg/µL à 10ng/µL. Si vous pensez que vos librairies ont des concentrations supérieures à 10ng/µL, diluez les échantillons avant de les charger sur le BioAnalyseur.

4. Placer la puce horizontalement dans l'adaptateur et vortexer pendant 1 min au réglage indiqué (2400 tr/min).
5. Passer la puce dans l'instrument Bioanalyseur Agilent 2100 dans les 5 minutes qui suivent.



## Démarrage d'un cycle de bioanalyse Agilent 2100

### Protocole :

1. Ouvrez le couvercle du Bioanalyseur Agilent 2100 et insérez soigneusement la puce. La puce ne s'insère que dans un seul sens.
2. Fermez soigneusement le couvercle et assurez-vous que l'écran du logiciel 2100 Expert (onglet **Instrument**) indique que vous avez inséré la puce dans l'appareil.
3. Dans l'onglet **Instrument**, sélectionnez le test approprié (dsDNA) dans le menu Assay.
4. Mettez à jour le préfixe de fichier pour qu'il corresponde à votre séquençage, au nom du lot et à la date d'exécution.
5. Sélectionnez le nombre approprié d'échantillons et saisissez les informations relatives à l'échantillon dans le tableau des noms d'échantillons ci-dessous.
6. Cliquez sur le bouton **Start** (Démarrer) en haut à droite de la fenêtre pour lancer l'exécution de la puce. Les signaux bruts entrants sont affichés dans l'onglet **Instrument**.
7. Après le passage de la puce, retirez *immédiatement* la puce du Bioanalyseur et jetez-la. Les puces ne doivent pas être laissées dans l'appareil pendant plus d'une heure.

## Nettoyage des électrodes après un cycle de BioAnalyseur

Nettoyez les électrodes du Bioanalyseur peu de temps après chaque utilisation. Le nettoyage doit être effectué rapidement après chaque utilisation afin de minimiser la contamination.

### Protocole :

1. Remplissez lentement l'un des puits du nettoyeur d'électrodes avec 350µL d'eau désionisée de qualité analytique. Assurez-vous d'utiliser un nouveau nettoyeur d'électrodes à chaque fois que vous ouvrez un nouveau kit de Bioanalyseur.

**Note :** Un nettoyage plus approfondi est nécessaire entre les analyses si vous utilisez le Bioanalyseur pour d'autres analyses.

2. Ouvrez le couvercle et placez le nettoyeur d'électrodes dans le Bioanalyseur, comme vous le feriez pour une puce.
3. Fermez les couvercles et laissez-les fermés pendant environ 10 secondes.
4. Ouvrez le couvercle et retirez le nettoyeur d'électrodes.
5. Attendez encore 10 secondes pour permettre à l'eau sur les électrodes de s'évaporer avant de refermer le couvercle.