

0.1 Protocole d'étirement des cellules

- Bien nettoyer toutes les pièces à l'alcool 70%
- Monter une lamelle de verre 30mm de diamètre enroulée dans du téflon entre les deux parties de la cuve
- Remplir la cuve avec le milieu qui était dans le puit où était la lamelle qu'on veut observer
- Ajouter 1,5 pour cent d'HEPES 1mM (donc 75micro l pour 5 ml)
- Monter la lamelle cellules vers le bas sur le support entre les deux anneaux de téflon et mettre rapidement dans la cuve
- S'assurer qu'il n'y a pas de bulles sous la lamelle
- prélever 1ml dans la cuve et le mettre au-dessus de la lamelle (pour réduire le frottement avec le plot
- Recouvrir avec le plot (tourner le pas de vis à l'envers jusqu'au clac d'enclenchement)
- NE PAS ETIRER IMMEDIATEMENT
- Prendre des images des cellules non étirées dans un dossier spécifique
- étirer (3 tours complets après l'alignement de la pièce du dessus et de la cuve)NOTER L'HEURE
- Chercher des cellules MRTF-A GFP et enregistrer leur position dans les différents protocoles 'zones'. Toutes les 5 minutes, reprendre des images des zones déjà repérées.
- Ordre des couleurs : Rouge profond, GFP, DAPI, BF
- Après 30 minutes d'étirement, arrêter de chercher de nouvelles zones et tourner entre les zones déjà repérées.