

Matériels nécessaires : Thermomixer, Eppendorf
lprep Purification Instrument, Life Technologies
NanoVue

Réactifs nécessaires : iPrep™ ChargeSwitch® gDNA tissue Kit, Life Technologies, réf : IS-10004

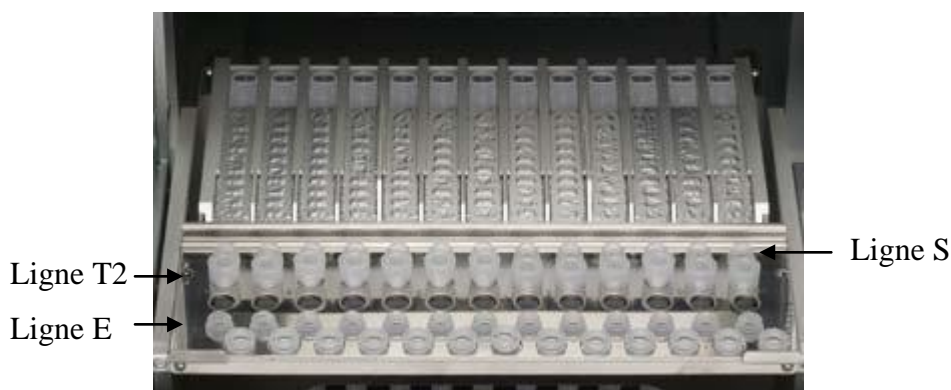
Procédure :

JOUR 1

1. Couper un morceau de tumeur (taille d'un grain de riz) et le placer dans un tube de 1.5mL annoté fourni dans le kit d'extraction
2. Déposer dans le tube, 1ml de tampon de lyse et 20µL de protéinase K, et vortexer.
3. Parafilmer le tube et le placer dans le thermomixeur réglé à 56°C, 450rpm et laisser incubé une nuit

JOUR 2

1. Vérifier la lyse complète de l'échantillon, en mélangeant plusieurs fois par reflux avec une pipette P1000.
2. Ajouter 10µL de RNase A, vortexer, et laisser incubé 5 min à température ambiante
3. Centrifuger brièvement les lysats afin d'éliminer tout liquide sur la paroi et dans le bouchon.
4. Allumer l'iPrep Purification Instrument.
5. Insérer la carte correspondant au kit iPrep™ ChargeSwitch® gDNA Tissue Kit, dans le lecteur.
6. Insérer le nombre de cartouche de réactifs nécessaire dans le portoir adéquat à raison de 1 cartouche par patient.
7. Déposer sur le portoir de devant sur la ligne E, les tubes d'élution iPrep annotés et ouverts ; sur la ligne T2, les portes cônes et les cônes ; sur la ligne S, les lysats ouverts



8. Fermer doucement la porte jusqu'à l'enclenchement de celle-ci.
9. Lancer le programme d'extraction en appuyant sur Start.
10. Vérifier que tous les outils nécessaires à l'extraction sont en place dans l'automate (cônes, portes cône, tubes d'élution, lysats et cartouches de réactifs), appuyer sur 1 pour valider.
11. Sélectionner le volume d'élution "200µL" en appuyant sur Start. Le programme d'extraction se lance.
12. A la fin du programme, ouvrir délicatement la porte, fermer les tubes d'ADN élué et les déposer sur un autre portoir.

13. Jeter les réactifs utilisés : cartouches, cônes et portes cônes.
14. Garder les lysats jusqu'au dosage des ADNs.
15. Doser les ADNs au NanoVue®. Jeter les lysats si les concentrations sont correctes.

Notes importantes :

- a. Ne jamais ouvrir la porte de l'iPrep pendant le programme d'extraction. En cas de problème pendant le programme, appuyer sur STOP.
- b. Les photos suivantes présentent l'aspect que doivent avoir les cartouches de réactifs avant et après extraction.

16.	Cartouche avant extraction	Cartouche après extraction
	