



Protocole résumé du kit RNA High Sens.

! Sortir les réactifs RNA gel, RNA Stain, Loading buffer, Sensitivity Enhancer et le Ladder 15min avant utilisation pour un retour en température ambiante.

Stocker les réactifs contenant le colorant à l'abri de la lumière.

1. Préparation des puces de nettoyage des électrodes

Prendre deux puces de nettoyage et les nommer par ce qu'elles vont contenir : 'H₂O' et 'Electrode Cleaning'.

- Décontamination de la puce 'H₂O' si elle est neuve :

800 µl Electrode Cleaning Solution 5 min

800 µl H₂O DEPC 1 min

Répéter le rinçage à l'eau 4 autres fois.

2. Lavage des électrodes de la station d'électrophorèse

800 µl Electrode Cleaning Solution dans la puce 'Electrode Cleaning' 2 min

800 µl H₂O DEPC dans la puce 'H₂O DEPC' 5 min

800 µl H₂O DEPC dans la puce 'H₂O DEPC' 1 min

Capot ouvert 1 min pour laisser sécher les électrodes.

3. Préparation des réactifs

- Préparation de la matrice de séparation G :

Transférer 600 µl du tube G (vert) dans un spin filter.

Centrifuger 10 min à 1500 g jusqu'à passage complet du liquide.

La solution G est stable pendant 4 semaines, puis refiltrer.

- Préparation de la matrice de séparation GS (pour 1 puce) :

65 µl G + 1 µl Stain

Centrifuger 10 min à 13 000 g.

- Préparation du Ladder et des échantillons :

Echantillons >1.3 µl dans un tube RNase free

Ladder 1.3 µl dans un tube RNase free

Dénaturer 2 min 70°C.

Refroidir dans la glace 5 min.

Centrifuger.

Conserver dans la glace.

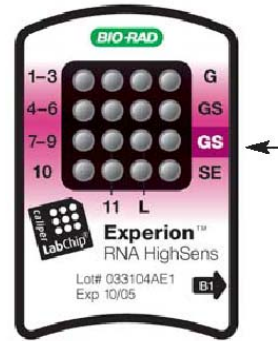
Pour le Ladder, le diluer : 1 µl + 159 µl H₂O DEPC

! Il est possible d'aliqoter le Ladder ainsi dilué en fractions stockées à -70°C. Ne pas re-chauffer une fraction aliqotée avant utilisation.

4. Amorçage de la puce

Déposer 9 μ l GS dans le puits d'amorçage GS.

Amorcer avec le code B1.



5. Dépôts

9 μ l de GS dans le second puits indiqué GS

9 μ l de G dans le puits indiqué G

6 μ l de Sensitivity Enhancer dans le puits indiqué SE

Préparer un tube contenant 70 μ l de Loading Buffer.

Déposer dans l'ordre :

5 μ l de Loading Buffer dans les puits 1 à 11 ainsi que dans le puits L

1 μ l d'échantillon dans les puits 1 à 11

1 μ l de Ladder dans le puits indiqué L

Déposer 1 μ l d'H₂O DEPC dans les puits non utilisés.

6. Vortexer

Insérer la puce dans l'adaptateur du vortex et démarrer l'agitation. Elle s'arrête automatiquement.

6. Electrophorèse

Insérer la puce dans la station d'électrophorèse et démarrer la séparation via le logiciel.

7. Lavage des électrodes après le run

800 μ l d'H₂O DEPC dans la puce de nettoyage 'H₂O DEPC'

Installer dans la station d'électrophorèse.

Fermer le capot 60 sec.

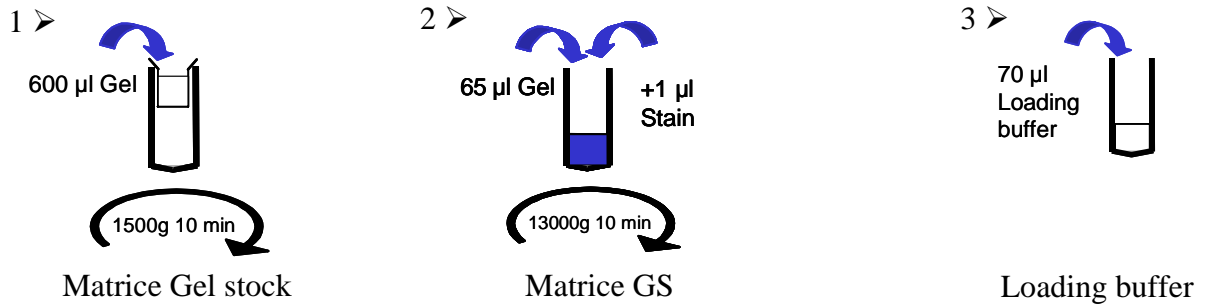
Ouvrir le capot 30 sec pour laisser sécher les électrodes.

En cas de migration anormale ou de contamination aux RNases suspectée, refaire un nettoyage comme décrit en 2.



Protocole résumé du kit RNA High Sens.

Préparation des réactifs



Préparation des échantillons



Dépôts sur la puce

