Protocole haute sensibilité - Chronos

Pour échantillons pré-filtrés | Temps de préparation < 10 min | Temps d'analyse 20 min

MATÉRIEL NÉCESSAIRE

Tubes d'équilibrage

Kit œnobiote :
1. Contrôle interne lyophilisé
2. Tampon de lyse
3. Réactif de RT- qPCR

A. Billes de verre
B. Tampon de lavage
C. Tube vide 2 mL

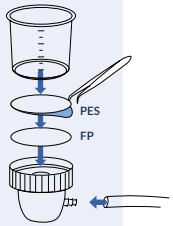
Vortex

Centrifugeuse

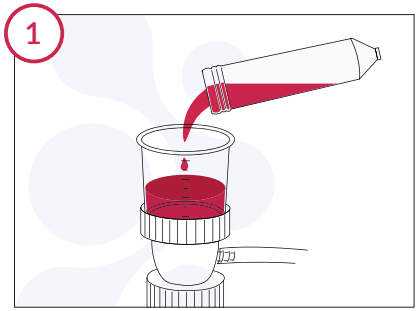
Kit MicroWave Lyser

AVANT DE DÉMARRER

- Centrifuger rapidement les **tubes** pour rassembler le produit au fond du tube.
- Préparer le **tube 25mL** avec **10 billes** + 1mL de tampon lyse. Garder le tube 2.
- Pour préparer la rampe placer dans le support de filtration :
  - le **filtre papier (FP),**
  - puis le **filtre 0,45µm 47mm (PES),** côté rugueux en haut et film bleu retiré
  - visser le gobelet et connecter la pompe.
- Ajouter 100 µL d'eau au contenu du **tube 1** et mélanger. Ajouter cette suspension à 100 mL de l'**échantillon de vin pré-filtré** puis agiter pour homogénéiser complètement.
- Mettre en route Chronos (cf. Manuel utilisateur).

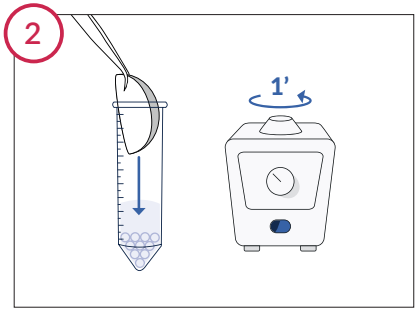


1



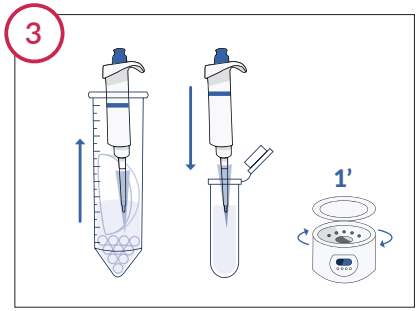
- Verser l'échantillon dans le gobelet, activer la pompe le temps de la filtration puis l'arrêter.
- Verser **20 mL de tampon de lavage**, attendre 10 secondes, activer la pompe le temps de filtrer.
- Rincer en faisant passer **100 mL d'eau distillée** (non fournie) puis arrêter la pompe.

2



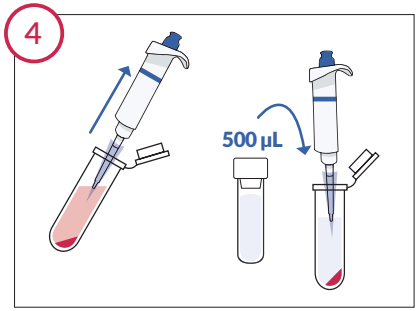
- Démonter la rampe.
- Récupérer le **filtre PES 0,45µm 47mm** et le placer plié en deux dans le **tube 25 mL** avec billes et tampon de lyse, préparé précédemment (cf. encart "Avant de démarrer").
- Vortexer pendant 1 minute.

3



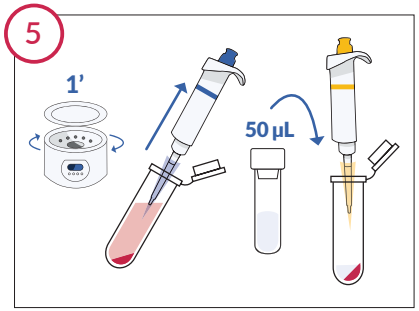
- Avec la **pipette P1000** et un nouveau **cône**, prélever tout le liquide et le transférer dans un **tube C.** Jeter le cône.
- Centrifuger le tube avec la charnière vers le haut pendant 1 minute.

4



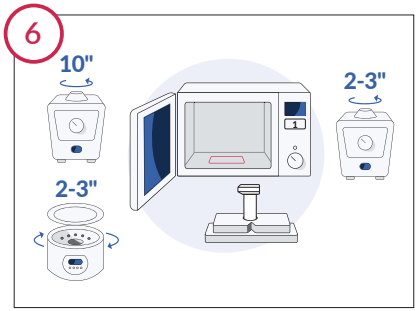
- Avec la **P1000** et un nouveau **cône,** retirer le surnageant sans perturber le culot. Jeter le cône.
- Ajouter 500 µL de tampon de lyse
- ⚠ **Garder le tube 2 pour l'étape 5**.

5



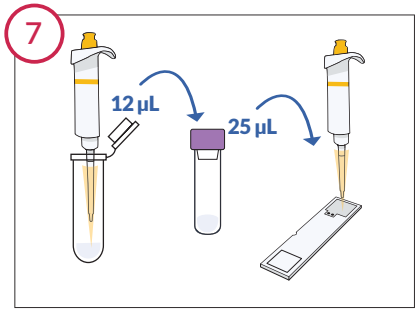
- Centrifuger pendant 1 minute avec la charnière vers le haut.
- Avec la **P1000** et un nouveau **cône**, retirer le surnageant sans perturber le culot. Jeter le cône.
- Avec la **pipette P100** et un nouveau **cône**, ajouter 50 µL de **tube 2** dans le **tube C**. Jeter le cône.

6



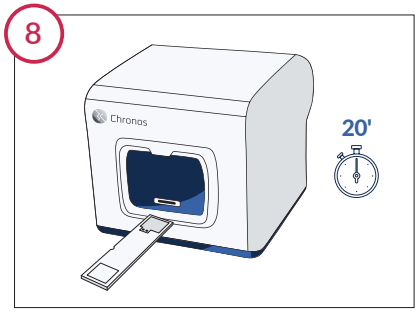
- Agiter le **tube C** pendant 10 secondes et centrifuger pendant 2-3 secondes.
- Ajouter un **clip** sur le tube pour le maintenir fermé.
- Placer le **support** dans le four à micro-ondes au niveau du marquage.
- Placer le **tube C** sur le support du **MicroWave Lyser**.
- Démarrer la lyse en appuyant sur le bouton **"1"**.
- Agiter le **tube C** pendant 2-3 secondes.

7



- Avec la **P100** et un nouveau **cône,** prélever 12 µL du **tube C** et les ajouter dans un **tube 3**. Garder le même cône.
- Faire 2-3 allers-retours avec la **P100** pour homogénéiser le mélange.
- Avec la **P100** et un nouveau **cône,** prélever 25 µL et les injecter dans la **puce** de réaction Chronos. Jeter le cône.

8



- Sceller la **puce** à l'aide du **film adhésif.**
- Insérer la puce dans **Chronos** lorsque le logiciel indique "Veuillez insérer la puce".
- 20 minutes après, retrouvez les résultats de l'analyse sur l'interface Chronos.

Pour plus d'informations se référer aux manuels utilisateur.

Une question ?
+33 6 95 21 95 16
support@oenobiote.com