

00_{PCR}

Aliquoter de l'eau ppi injectable. Echantillons conservés au congélateur.

01_{PCR}

Ajouter un tube avec l'ADN de référence

Ajouter un tube avec de l'eau ppi

02_{PCR}

Tous les réactifs sont identifiés ; tous les lots pour chaque réactifs sont identifiés

Préparer à l'avance le mix eau amorce 1 et 2

1_{PCR}

Dans un microtube PCR :

2 μ L d'extrait d'ADN

+

2_{PCR}

13 μ L de mix eau ppi amorce 1 amorce 2

3_{PCR}

15 μ L GREEN TAq

4_{PCR}

Thermocycleur :

94°C pdt 5 mn 1 cycle

94°C 50secondes 55°C 50 secondes 72°C 60 à 90 sec → 30cycles

72°C 5 minutes 1 cycle

12°C 15h 1 cycle

5_{PCR}

Gestion des échantillons (voir tableau)

1

controle PCR par électrophorèse

Peser 1.5 g d'agarose pour 100 mL de solution TBE1X

2

controle PCR par électrophorèse

Porter le gel d'agarose à ébullition au micro onde

3 controle PCR par électrophorèse

Ajouter l'intercalant selon fabricant dans les 100 mL de solution d'agarose

GANTS OBLIGATOIRES

4 controle PCR par électrophorèse

Couler la solution d'agarose dans les moules+ peignes

Laisser solidifier

5 controle PCR par électrophorèse

Disposer les gels dans les cuves à électrophorèse immergée de tampon TBE 1X

6 controle PCR par électrophorèse

Déposer directement 10 μ L de chaque mélange PCR dans les puits

Réserver un ou 2 puits du gel pour marqueur de taille

7

controle PCR par électrophorèse

Mise sous tension de la cuve...POLARITE

Contrôle Visuel.....30 mn

8

controle PCR par électrophorèse

Récupérer le gel