

PCR et biologie moléculaire

Produits de qualité certifiés pour la (q)PCR





Depuis 1961, SARSTEDT développe et fabrique des produits de haute qualité pour la médecine et la science.

Découvrez dans les pages suivantes notre vaste gamme de produits et profitez également de précieuses recommandations pour optimiser le processus de réaction par PCR.

Afin de garantir le niveau de qualité élevé et constant de nos produits, nous mettons l'accent sur :

- ✓ La conception d'articles et d'outils sophistiquée pour une épaisseur de paroi homogène
- ✓ Le choix de matières premières de haute qualité (par ex. matériaux de qualité médicale)
- ✓ La production automatisée dans des conditions de salle blanche
- ✓ Des contrôles qualité exhaustifs (par ex. contrôle intégral de l'étanchéité)
- ✓ Un système de gestion de la qualité certifié conforme à la norme ISO 13485
- ✓ Des collaborateurs très bien formés

C'est ainsi que nous pouvons proposer l'excellente qualité de nos produits « Made in Germany ».

Outre notre gamme standard, nous proposons aussi des produits de haute performance fabriqués selon les techniques les plus modernes qui offrent, par exemple, une faible adsorption de certaines biomolécules ou présentent un degré de pureté optimal et constant. Nous fabriquons aussi des produits spécifiques à la demande de nos clients. N'hésitez pas à nous contacter directement si vous êtes intéressé(e).

L'équipe SARSTEDT

Table des matières

Se lancer immédiatement – à un niveau de pureté optimal !	4
La qualité des plastiques pour PCR est importante – des performances fiables dans le cadre de toutes les applications de (q)PCR permises par des normes de production innovantes.....	4
Une pureté et une fiabilité maximales pour des analyses hautement sensibles	
PCR Performance Tested	5
Biosphere® plus – Notre plus en matière de sécurité	5
Sensibilité optimisée et reproductibilité améliorée	6
Faible adsorption d'ADN et de protéines – pour une récupération d'échantillon optimale.....	7
Plaques PCR Multiply® SARSTEDT – une fiabilité maximale	
Plaques PCR avec jupe – une efficacité maximale et une variabilité réduite.....	9
Plaques PCR avec jupe et à faible adsorption de protéines	11
Plaques PCR avec demi-jupe – High Profile	13
Plaques PCR avec demi-jupe – Low Profile.....	15
Plaques PCR sans jupe – High Profile	17
Plaques PCR sans jupe – Low Profile.....	19
Plaques PCR 384 puits	21
Plaques PCR Multiply® – Tableau de compatibilité	22-23
Barrettes de bouchons pour PCR	25
Films de scellage adhésifs.....	26
Pré-insertion pratique - l'alternative aux plaques PCR à 2 composants à cadre de polycarbonate.....	29
Barrettes de tubes PCR avec barrette de bouchons séparée - High Profile	31
Barrettes de tubes PCR avec barrette de bouchons séparée - Low Profile.....	32
Barrettes de tubes PCR avec bouchons attachés	33
Microtubes PCR avec bouchons attachés	35
Systèmes de rack et de pipettage intelligents.....	36
Le RackSystem SARSTEDT – le poste de conservation et de pipettage flexible	37
Recommandations / directives pour des réactions de PCR réussies	38
«Check-list» de résolution de problèmes liés à la PCR.....	39

Se lancer immédiatement – à un niveau de pureté optimal !

Des conditions de salle blanche, un personnel formé et équipé de combinaisons de protection ainsi que des processus de production automatisés constituent les conditions préalables à la satisfaction des normes de qualité certifiées de SARSTEDT.

Des contrôles qualité exhaustifs, que nous faisons réaliser par un laboratoire indépendant, nous permettent de proposer des consommables qui peuvent être utilisés de manière fiable sans surcroît de travail.

Aujourd'hui, le processus d'autoclavage de consommables est encore courant. De nombreux utilisateurs confondent les produits stériles avec ceux exempts d'ADN. Mais une stérilisation n'élimine pas les biomolécules indésirables,

comme l'ADN, les RNases ou les pyrogènes. Et le pire, c'est que l'autoclavage peut s'accompagner d'une contamination des produits. La séparation cohérente des autoclaves destinées à la stérilisation de déchets de laboratoire, d'une part, et de consommables propres, d'autre part, fonctionne rarement à long terme. Dans l'atmosphère saturée de vapeur d'eau des autoclaves, les plasmides ou RNases de déchets de laboratoire autoclavés sont facilement transférés vers les consommables propres.

Épargnez-vous donc ce surcroît de travail risqué et lancez immédiatement vos analyses avec nos consommables de haute pureté certifiée.

La qualité des plastiques pour PCR est importante – nos normes de produit innovantes garantissent des performances fiables dans toutes les applications de (q)PCR.

Dans le cadre de l'ensemble de notre processus de fabrication axé sur la PCR, nous tenons compte de paramètres essentiels qui influencent la qualité des consommables PCR en plastique. Cela commence par le façonnage de précision, le design et la fabrication. Seuls des outils de précision permettent de produire des articles de plastique extrêmement uniformes dont la régularité des puits minimise la variabilité des données. Les produits sont fabriqués dans le cadre de processus automatisés au sein de sites de production à haute pureté. Nous suivons des procédures de nettoyage exhaustives, car même les traces résiduelles de produits chimiques les plus minimes sont susceptibles d'inhiber l'amplification par PCR. Notre processus de production, du façonnage au conditionnement final, a lieu de manière hautement automatisé dans des conditions contrôlées et au sein d'installations complexes à flux laminaire.

Seules des matières premières hautement pures et de grande qualité répondant aux directives et normes internationales (principalement des matériaux de qualité médicale) sont choisies pour la fabrication d'articles SARSTEDT. Nous ne choisissons que des fournisseurs qui souscrivent à notre philosophie de qualité optimale. Bien entendu, aucun additif, comme le bisphénol ou un quelconque biocide, n'est ajouté. Tous les matériaux ont été choisis avec soin en fonction des applications et spécifiquement qualifiés afin de tirer le meilleur parti de nos produits.

Nos normes de production sont complétées par des contrôles qualité efficaces, comme les tests de l'étanchéité de chaque puits ou la vérification de la forme géométrique des produits. La constance de notre qualité, selon laquelle nous proposons des épaisseurs de paroi toujours homogène, vous garantit d'obtenir des résultats de PCR toujours précis et reproductibles.

Une pureté et une fiabilité maximales pour des analyses hautement sensibles

PCR Performance Tested



Notre certification de pureté « PCR Performance Tested » a été spécifiquement développée pour l'analyse d'acides nucléiques. Tous les articles certifiés « PCR Performance Tested » sont testés par un laboratoire indépendant. Ils sont exempts

d'ADN humain et bactérien, de DNases et de RNases, ainsi que d'inhibiteurs de PCR. Le dépistage supplémentaire d'inhibiteurs de PCR nous tient à cœur car les additifs utilisés dans le cadre de la fabrication de consommables peuvent exercer un effet d'inhibition sur la PCR.

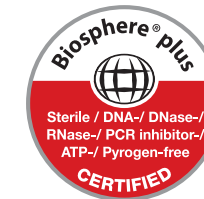
Diverses substances pouvant facilement se retrouver dans vos précieux échantillons font office d'inhibiteurs puissants de la réaction de PCR. Parmi les exemples connus figurent l'hémoglobine ou l'éthanol qui sert souvent, par exemple, pour isoler les acides nucléiques. De nombreux d'inhibiteurs de PCR restent néanmoins inconnus. Des échantillons de salive présentent souvent un effet d'inhibition de la PCR, mais les agents responsables n'ont pas encore été identifiés. Les inhibiteurs de PCR ont un effet particulièrement grave lorsque l'effet d'inhibition prend une étendue différente sur différents gènes cibles (par ex. lorsque l'amplification d'un gène domestique est affectée de manière plus ou moins importante par rapport à l'amplification d'un gène d'intérêt parallèlement analysé). Nous vous recommandons donc de n'utiliser que des consommables pour lesquels l'absence d'inhibiteurs de PCR a été vérifiée.

Dans le cadre de travaux sur l'ARN, les RNases ubiquitaires représentent un véritable challenge. Contrairement aux DNases apparentées, les RNases ne nécessitent d'aucun co-facteur comme le Mg^{2+} pour être activées. Les RNases sont, par ailleurs, très stables et présentent la capacité à retrouver leur conformation d'origine suite à une exposition à la chaleur.

Nous garantissons que nos produits « PCR Performance Tested » respectent les valeurs seuils suivantes :

ADN humain	<0,5 pg/μl
ADN bactérien	<0,02 pg/μl
DNase	<1 x 10 ⁻⁵ U/μl
RNase	<1 x 10 ⁻⁹ unités Kunitz /μl
Inhibiteurs de PCR	<0,5 cycle
	Décalage de la valeur C _t

Biosphere® plus – Notre plus en matière de sécurité



Toujours plus d'applications exigent l'absence absolument fiable d'ADN ou d'autres biomolécules. C'est la raison pour laquelle les produits certifiés Biosphere® plus sont soumis en supplément à une procédure de décontamination validée. Un traitement

à l'oxyde d'éthylène (EtO) permet de détruire l'ensemble des ADN et autres biomolécules, éventuellement présentes, tout en assurant une stérilisation des produits. D'autres tests permettant de s'assurer de l'absence d'agents pyrogènes et d'ATP (recommandation : important pour les essais par luminescence) complètent notre certification Biosphere® plus.

Pour pouvoir exclure de manière fiable même des contaminations infimes, nous vous garantissons que les valeurs limites suivantes sont respectées pour nos produits certifiés Biophère® plus :

ADN humain	<5,0 fg/μl
ADN bactérien	<0,2 fg/μl
Stérilité validée selon	La norme ISO 11 135
ATP	<1 x 10 ⁻¹² mmol/μl
Pyrogènes / Endotoxines	<0,002 UE/ml
DNase	<5 x 10 ⁻⁷ U/μl
RNase	<5 x 10 ⁻¹¹ unités Kunitz /μl
Inhibiteurs de PCR	<0,5 cycle
	Décalage de la valeur C _t

Sensibilité optimisée et reproductibilité améliorée

Les applications reposant sur la fluorescence, comme la PCR en temps réel (qPCR), avec des faibles quantités d'échantillons, bénéficient des propriétés de réflexion fortement améliorées des consommables de PCR blancs. La coloration opaque empêche par ailleurs toute perte de la lumière fluorescente à travers les parois; la réflexion du coloris blanc optimisé permet de mieux maintenir la quantité de lumière fluorescente qui atteint le détecteur par rapport à des produits transparents. Dans les cas d'expériences répétées ou d'applications avec duplicat et triplicat, il est possible d'obtenir une moindre dispersion.

Le niveau de fluorescence supérieur de consommables de PCR blancs et la stabilité des effets de fond du fluorophore utilisé permettent aussi une amélioration du rapport signal-fond. La couleur blanche opaque empêche également la détection de la lumière fluorescente diffusée par les puits voisins et, par conséquent, la détection de faux-positif.

Cependant, le principal avantage des consommables de PCR de couleur blanche réside dans la sensibilité fortement améliorée par rapport au matériau transparent. La Fig. 1 démontre que l'intensité de la fluorescence mesurée à quantité de matrice et d'enzyme égale dans des tubes blancs est bien plus importante que dans les tubes transparents. La valeur Ct est aussi réduite de $24,87 \pm 0,08$ (transparent) à $23,40 \pm 0,07$ (blanc), ce qui démontre que la détection des 1000 molécules de matrice peut avoir plus rapidement lieu dans des puits blancs. Lorsque d'infimes quantités de substances sont disponibles au départ, c'est un avantage important.

Le passage de consommables PCR transparents à des consommables blancs permet, par conséquent une réduction économique des volumes d'essais. La quantité de réactifs utilisés (enzyme, sonde, amorce, etc.) peut ainsi être nettement réduite, entraînant ainsi une diminution des coûts de réactifs.

L'usage de consommables PCR blancs s'accompagne donc d'avantages significatifs. Ne compromettez donc pas vos résultats juste pour pouvoir procéder à un contrôle optique des puits par le côté ou le dessous.

Comparaison du niveau de fluorescence de puits blancs et transparents

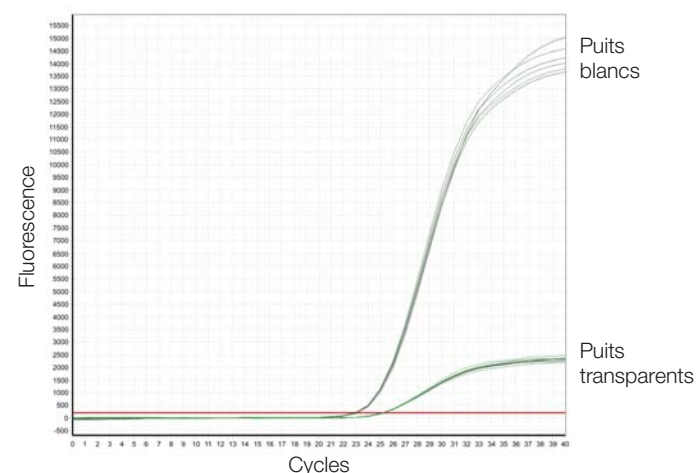


Fig. 1 : Comparaison des valeurs de fluorescence des articles 72.985.002 (transparent) et 72.985.092 (blanc), chacun fermé à l'aide de la barrette de couvercles à haute transparence 65.989.002. Un fragment de 100 bp du plasmide EmGFP (quantité de matrice : 1000 molécules) est amplifié dans un volume de 20 µl avec le cycleur thermique realplex 4S d'Eppendorf (n=8).

Faible adsorption d'ADN et de protéines – pour une récupération d'échantillon optimale

La tendance à la réduction croissante des volumes d'échantillon renforce l'importance de la minimisation des éventuelles interactions des analytes avec les tubes utilisés. Le recours croissant à des consommables PCR pour d'autres applications exige souvent une récupération maximale de l'échantillon. Une attention toute particulière est accordée à ce que toutes les biomolécules puissent être récupérées à partir des cavités, notamment dans le cadre de la préparation et de la conservation d'échantillons d'acide nucléique (à faible concentration), ainsi que lors de la réalisation de séries de dilution.

Une perte de peptides et de protéines est un phénomène connu dans le secteur de l'analyse de protéines ou de peptides par spectrométrie de masse lorsque l'on a généralement recours à des flacons en verre et des tubes en PP normaux. L'utilisation de produits à faible adsorption de protéines peut permettre de récupérer nettement plus de protéines ou de peptides pour les analyses suivantes. Les enzymes éventuellement utilisées restent elles aussi

actives. La surface des produits à faible rétention de protéines réduit également la dénaturation d'enzymes par l'interaction avec la paroi du tube. En utilisant des tubes standards et avec une concentration de protéines critique, il est difficile de réaliser une analyse fiable. Le recours à des produits à faible adsorption de protéines assure aussi une fiabilité maximale dans le cadre de l'immunoprécipitation, de la purification ou de l'isolement de protéines et de la conservation d'échantillons de protéines, de peptides ou d'anticorps.

Les faibles propriétés de liaison de nos produits pour les acides nucléiques ou les peptides/protéines résultent du recours à des matières premières spécifiques et à un traitement physique particulier. Evidemment, aucun revêtement de silicone ou de substance similaire n'est utilisé afin de préserver ces propriétés particulières.

Nous vous proposons des produits à faible adsorption d'ADN et de protéines fabriqués selon les techniques les plus récentes.

Faible adsorption protéique – comparaison des pertes moyennes de protéines :

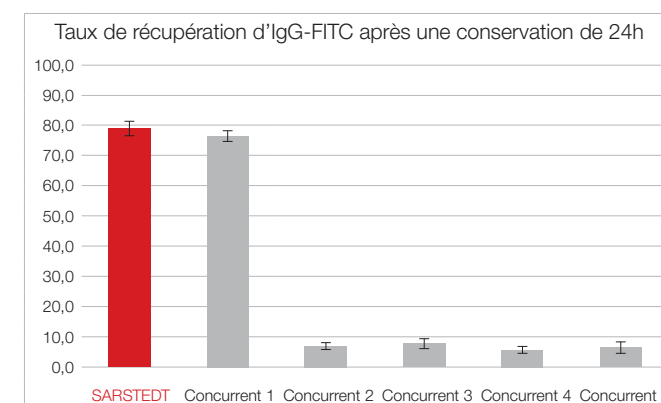


Fig. 2 : 8 x 125 µl d'une solution de conjugué d'IgG-FITC (1,0 µg/ml dans un tampon de PBS ; Sigma Aldrich, réf. F9636) ont été conservés pendant 24 heures dans des articles à faible adsorption de protéines de SARSTEDT ainsi que 5 produits concurrents. Suite à l'incubation, 100 µl de la solution ont été transférés dans des plaques ELISA noires (SARSTEDT, réf. 82.1581.220) ayant été auparavant bloquées pendant au moins 2h avec 1 x Roti Block (Carl Roth, réf. A151.4) avant de mesurer la solution dans le lecteur de plaques Infinite 200 pro (Tecan). L'essai est répété pendant 3 jours consécutifs. La conservation dans des articles SARSTEDT à faible adsorption de protéines ne se traduit, au contraire de la plupart des produits concurrents testés, par aucune perte significative. Un produit concurrent a également présenté un taux de récupération élevé.

Faible adsorption d'ADN – comparaison des pertes moyennes d'ADN :

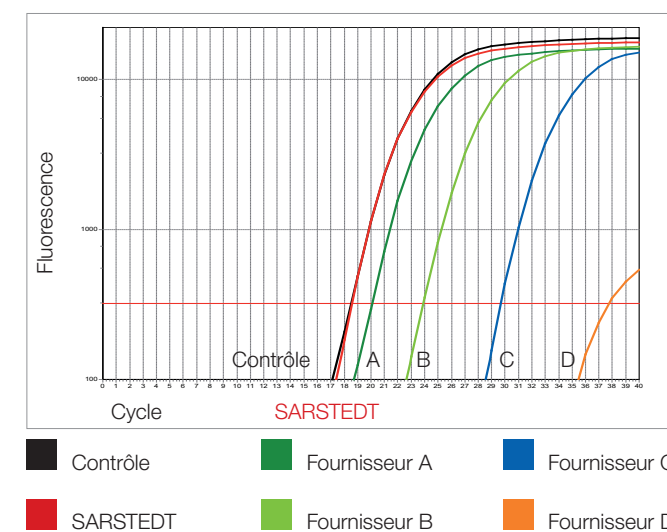


Fig. 3 : 10 microtubes d'essai de différents fournisseurs ont été remplis d'une solution d'ADN plasmidique de 100 µl (concentration : 10^4 copies/µl) et agités à 37 °C.

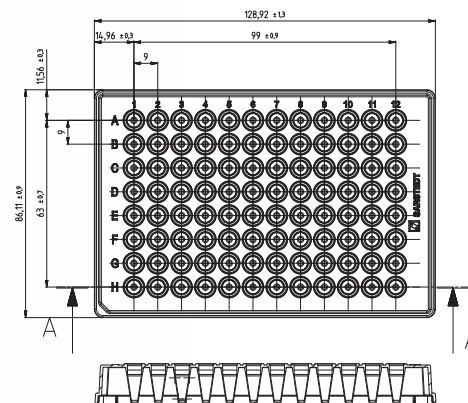
Après 3 h d'incubation, la teneur en ADN a été mesurée par PCR en temps réel.

À titre d'exemple, ce graphique représente une des 10 séries d'essai.

Plaques PCR Multiply® SARSTEDT – une fiabilité maximale



Plaques PCR avec jupe – une efficacité maximale et une variabilité réduite



Informations produit :

Profil : Low Profile

Volume maximal des puits : 0,1 ml

Coin découpé : H1

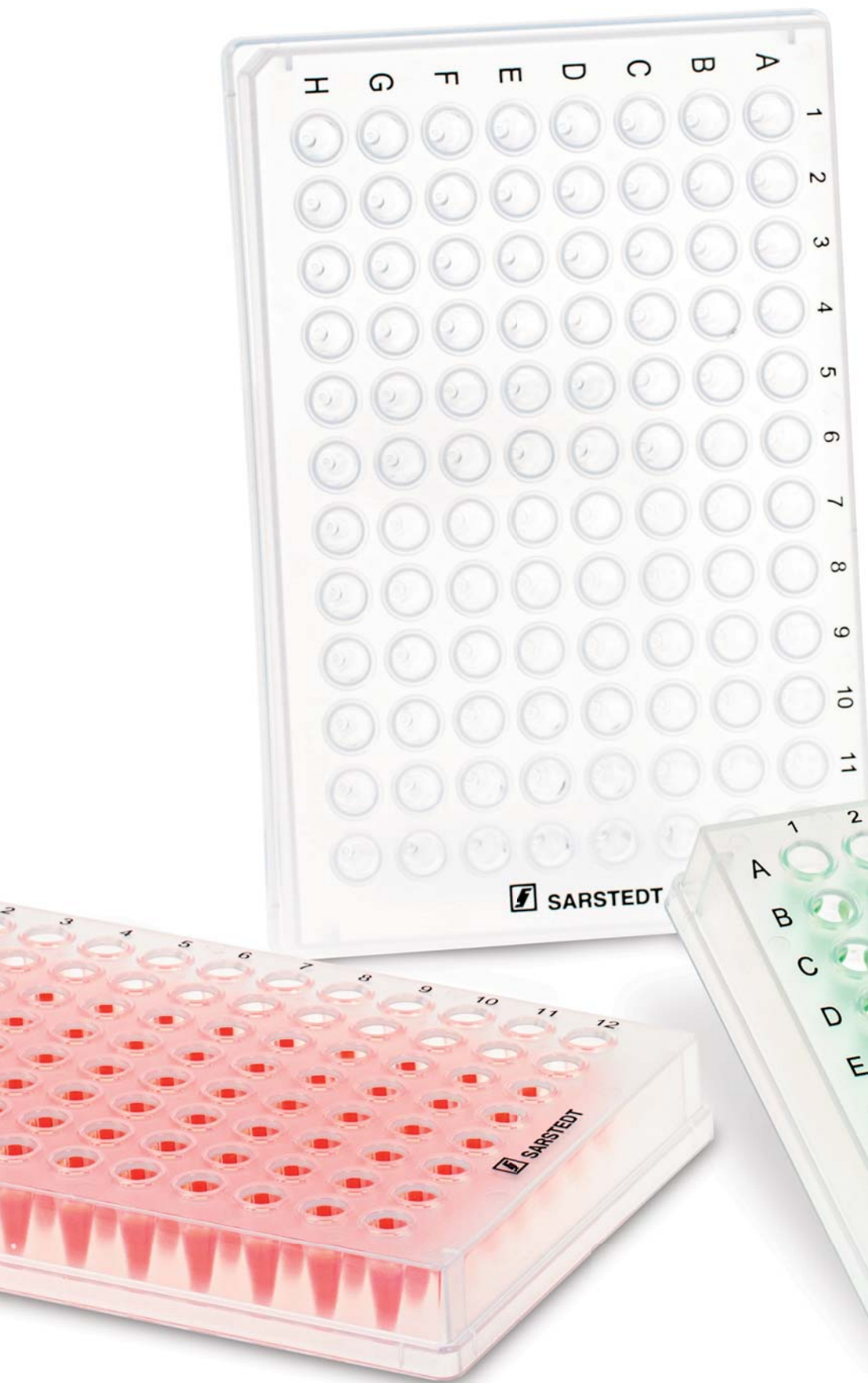
Caractéristiques et bénéfices :

- Des parois de puits extrêmement homogènes et fines permettent un transfert de chaleur uniforme et d'une rapidité maximale. Des résultats fiables et hautement reproductibles sont ainsi garantis.
- Les dimensions conformes aux normes ANSI permettent un usage sur des systèmes automatisés.
- Le bord relevé entourant chaque puits protège des contaminations croisées, permet une étanchéité sûre par des films et offre ainsi une protection contre les pertes par évaporation.
- Un marquage alphanumérique noir facilite l'identification des échantillons et la traçabilité dans le cadre du remplissage manuel.
- La production dans des conditions de salle blanche et les contrôles biologiques indépendants permettent les excellentes certifications de pureté « PCR Performance Tested » et Biosphere® plus.
- Contrôle de l'étanchéité à 100 % de chaque puits pour une sécurité optimale dans le traitement des échantillons précieux.
- Facile à empiler de manière sécurisée pour une exploitation optimale d'un espace de rangement le cas échéant limité.

Désignation	Coloris	Pureté	Conditionnement	Référence
Plaque PCR 96 puits avec jupe	transparent		10 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1980
Plaque PCR 96 puits avec jupe	transparent		1 unité / sachet et 20 unités / carton	72.1980.201
Plaque PCR 96 puits avec jupe	blanc (optimisé pour la qPCR)		10 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1980.010
Plaque PCR 96 puits avec jupe, faible adsorption d'ADN	transparent		10 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1980.700

Autres coloris et variantes à code-barres sur demande.

Des barrettes de bouchons et des films d'étanchéité appropriés sont disponibles aux pages 24 à 27.

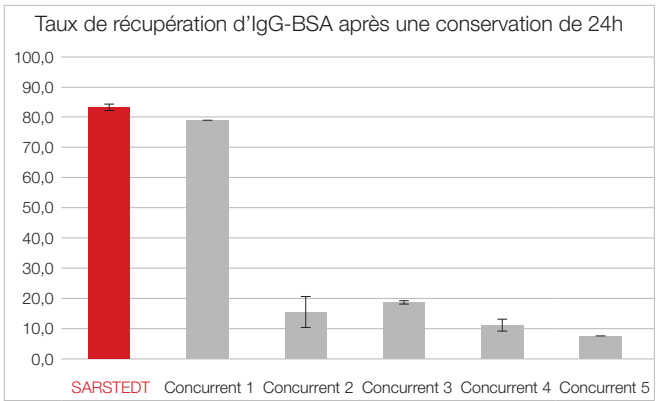


Plaques PCR avec jupe et à faible adsorption de protéines



Une perte de peptides et de protéines est un phénomène connu dans le domaine de l'analyse de protéines ou de peptides par spectrométrie de masse lorsque l'on a généralement recours à des flacons en verre et des tubes de PP normaux. Dès que la concentration de protéines descend en dessous d'un niveau critique, il n'est généralement plus possible d'effectuer une analyse fiable des protéines avec des récipients de réaction standard. C'est la raison pour

laquelle nous proposons des plaques 96 puits à jupe et faible adsorption de protéines pour la préparation, le transfert et la conservation d'échantillons de faible volume à des températures négatives (-20 °C à -80 °C). Par ailleurs, les plaques conviennent idéalement à l'immunoprécipitation, la purification ou l'isolement de protéines et à la préparation ou la conservation d'échantillons de protéines, de peptides ou d'anticorps.

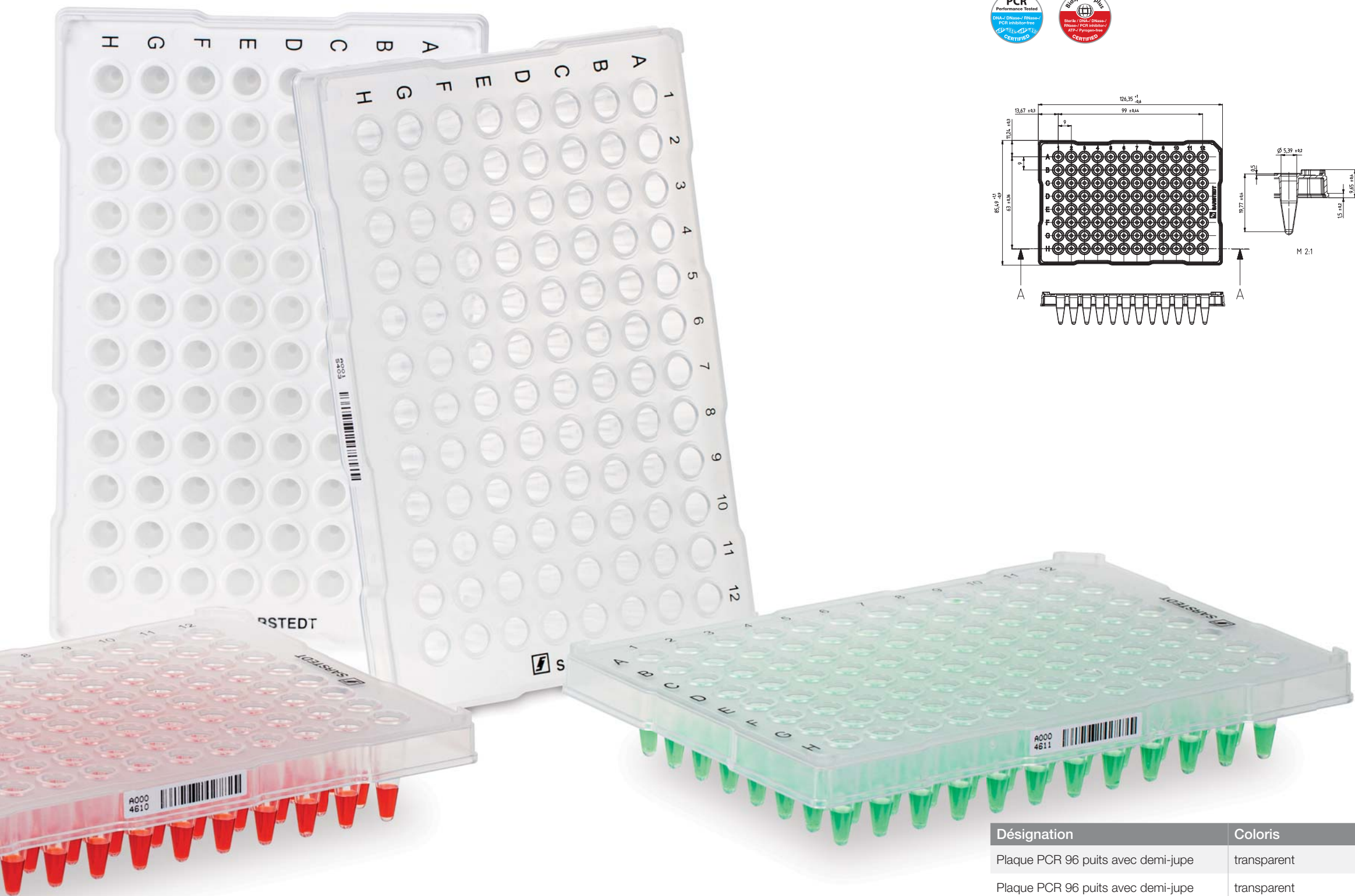


8 x 125 µl d'une solution de conjugué de BSA-FITC (1,0 µg/ml dans un tampon de PBS ; ThermoFisher Scientific, réf. A23015) ont été conservés pendant 24 heures dans des articles à faible adsorption de protéines de SARSTEDT ainsi que 5 produits concurrents. Suite à l'incubation, 100 µl de la solution ont été transférés dans des plaques ELISA noires (SARSTEDT, réf. 82.1581.220) ayant été auparavant bloquées pendant au moins 2h avec 1 x Roti Block (Carl Roth, réf. A151.4) avant de mesurer la solution dans le lecteur de plaques Infinite 200 pro (Tecan). L'essai est répété pendant 3 jours consécutifs. La conservation dans des articles SARSTEDT à faible adsorption de protéines ne se traduit, au contraire de la plupart des produits concurrents testés, par aucune perte significative. Un produit concurrent a également présenté un taux de récupération élevé.

Conseil : Dans le cadre de la conservation d'échantillons, nous recommandons la fermeture au moyen de barrettes de bouchons compatibles (REF. 65.989.002).

Désignation	Coloris	Pureté	Conditionnement	Référence
Plaque PCR 96 puits à jupe, faible adsorption de protéines	transparent		10 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1980.600
Barrette de bouchons pour PCR	à haute transparence		120 unités / sachet et 480 unités / carton	65.989.002

Plaques PCR avec demi-jupe – High Profile



Informations produit :

Profil : High Profile
Volume maximal des puits : 0,2 ml
Coin découpé : A12

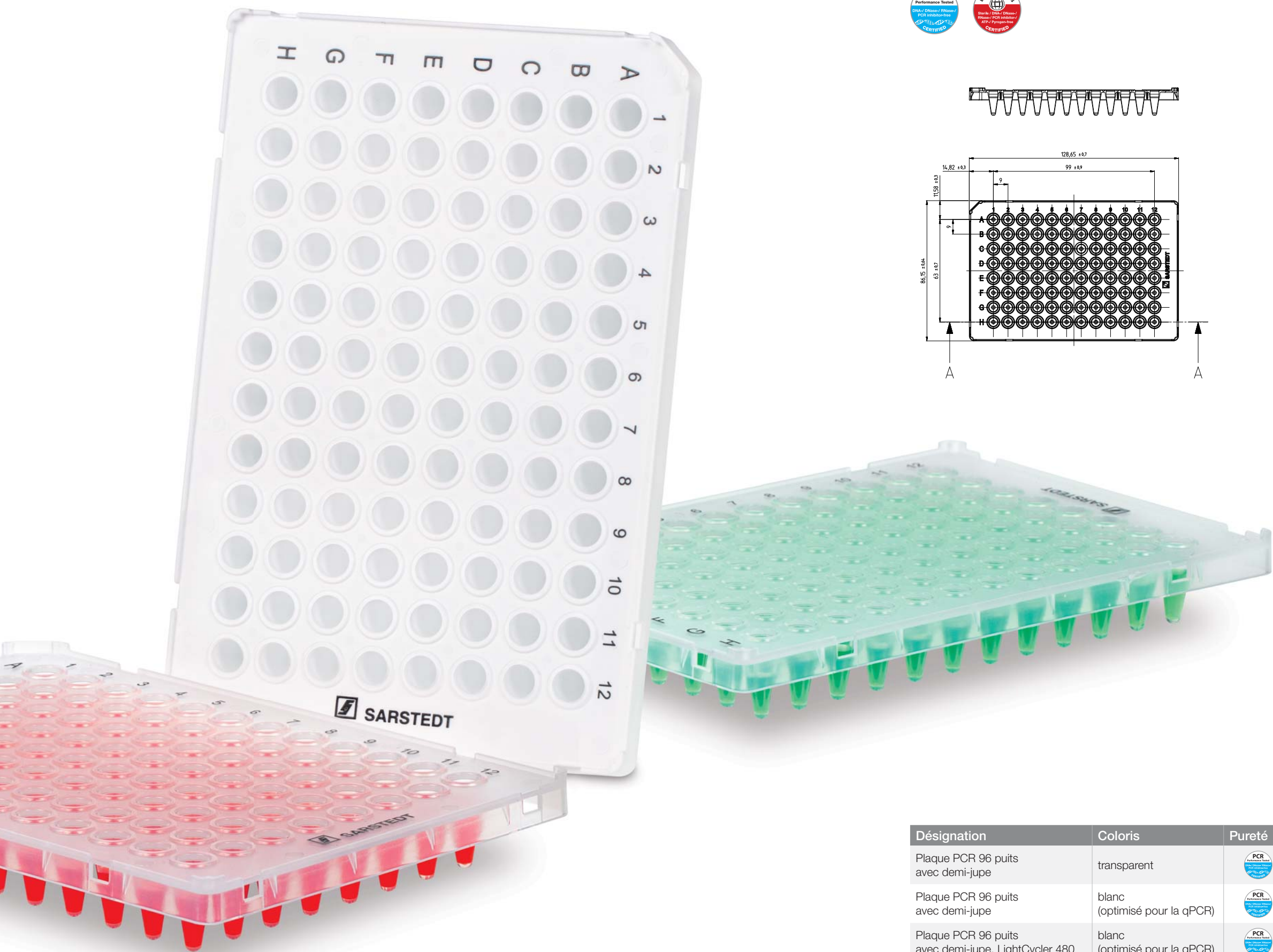
Caractéristiques et bénéfices :

- Des parois de puits extrêmement homogènes et fines permettent un transfert de chaleur uniforme et d'une rapidité maximale. Des résultats fiables et hautement reproductibles sont ainsi garantis.
- Le bord relevé entourant chaque puits protège des contaminations croisées, permet une étanchéité sûre par des films et offre ainsi une protection contre les pertes par évaporation.
- Un marquage alphanumérique noir facilite l'identification des échantillons et la traçabilité dans le cadre du remplissage manuel.
- La production dans des conditions de salle blanche et les contrôles biologiques indépendants permettent les excellentes certifications de pureté « PCR Performance Tested » et Biosphere® plus.
- Contrôle de l'étanchéité à 100 % de chaque puits pour une sécurité optimale dans le traitement de des échantillons précieux
- Facile à empiler de manière sécurisée pour une exploitation optimale d'un espace de rangement le cas échéant limité.

Désignation	Coloris	Pureté	Conditionnement	Référence
Plaque PCR 96 puits avec demi-jupe	transparent		10 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1979
Plaque PCR 96 puits avec demi-jupe	transparent		1 unité / sachet et 20 unités / carton	72.1979.201
Plaque PCR 96 puits avec demi-jupe	blanc (optimisé pour la qPCR)		10 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1979.010
Plaque PCR 96 puits avec demi-jupe , demi rebord, code barres	transparent		10 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1979.003
Plaque PCR 96 puits avec demi-jupe demi-rebord, faible adsorption d'ADN	transparent		10 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1979.700
Plaque PCR 96 puits avec demi-jupe et surface plate	transparent		5 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1979.102
Plaque PCR 96 puits avec demi-jupe et surface plate	blanc (optimisé pour la qPCR)		5 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1979.132

Autres coloris et variantes à code-barres sur demande.
Des barrettes de bouchons et des films d'étanchéité appropriés sont disponibles aux pages 24 à 27.

Plaques PCR avec demi-jupe – Low Profile



Informations produit :

Profil : Low Profile
Volume maximal des puits : 0,1 ml
Coin découpé : A1

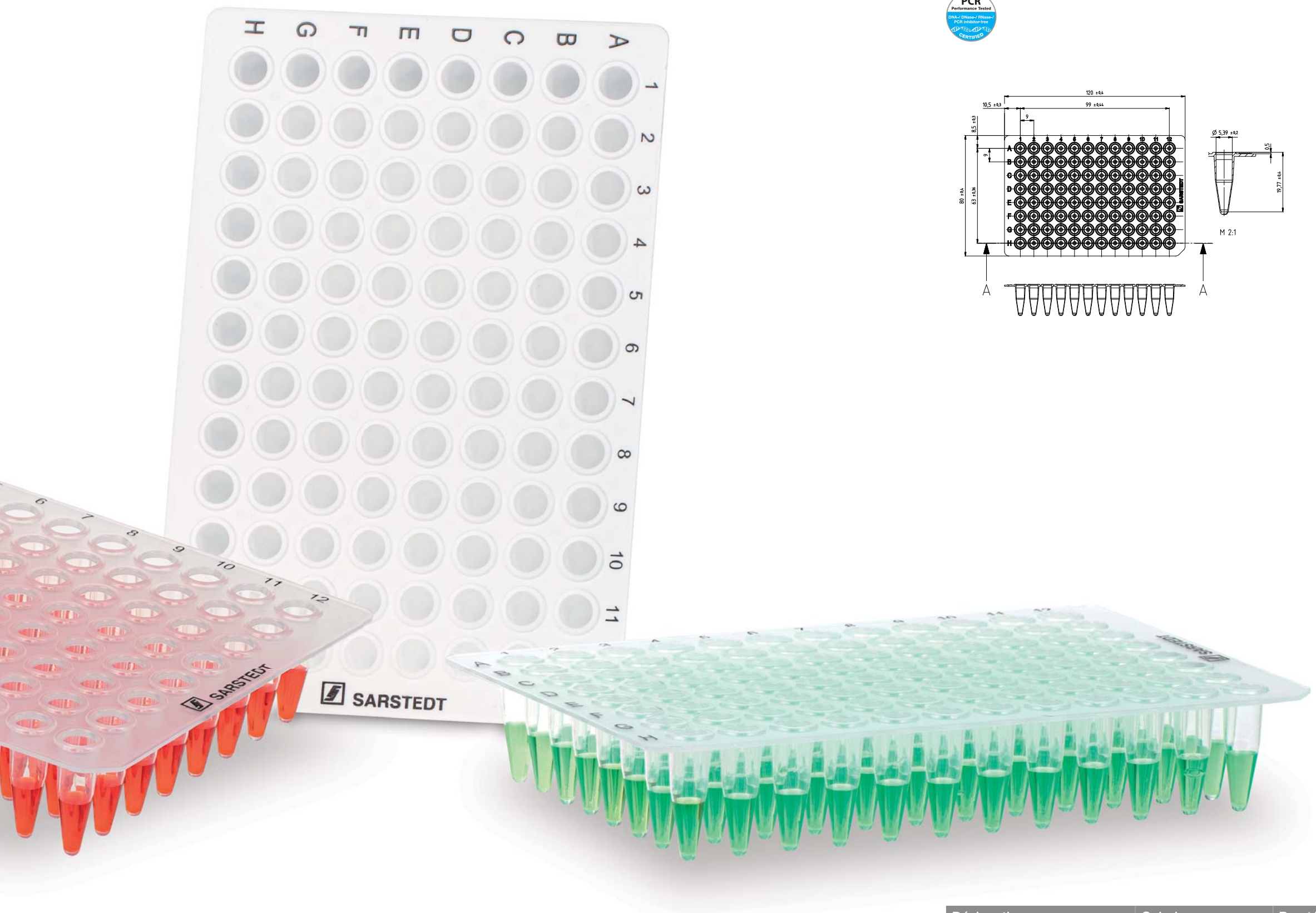
Caractéristiques et bénéfices :

- Des parois de puits extrêmement homogènes et fines permettent un transfert de chaleur uniforme et d'une rapidité maximale. Des résultats fiables et hautement reproductibles sont ainsi garantis.
- Les dimensions conformes aux normes ANSI permettent un usage sur des systèmes automatisés.
- Le bord relevé entourant chaque puits protège des contaminations croisées, permettent une étanchéité sûre par des films et offre ainsi une protection contre les pertes par évaporation.
- Un marquage alphanumérique noir facilite l'identification des échantillons et la traçabilité dans le cadre du remplissage manuel.
- La production dans des conditions de salle blanche et les contrôles biologiques indépendants permettent l'excellente certification de pureté « PCR Performance Tested ».
- Contrôle de l'étanchéité à 100 % de chaque puits pour une sécurité optimale dans le traitement des échantillons précieux
- Facile à empiler de manière sécurisée pour une exploitation optimale d'un espace de rangement le cas échéant limité.

Désignation	Coloris	Pureté	Conditionnement	Référence
Plaque PCR 96 puits avec demi-jupe	transparent		10 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1981
Plaque PCR 96 puits avec demi-jupe	blanc (optimisé pour la qPCR)		10 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1981.010
Plaque PCR 96 puits avec demi-jupe, LightCycler 480	blanc (optimisé pour la qPCR)		25 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1982.202

Autres coloris et variantes à code-barres sur demande.
Des barrettes de bouchons et des films d'étanchéité appropriés sont disponibles aux pages 24 à 27.



Plaques PCR sans jupe – High Profile



Informations produit :

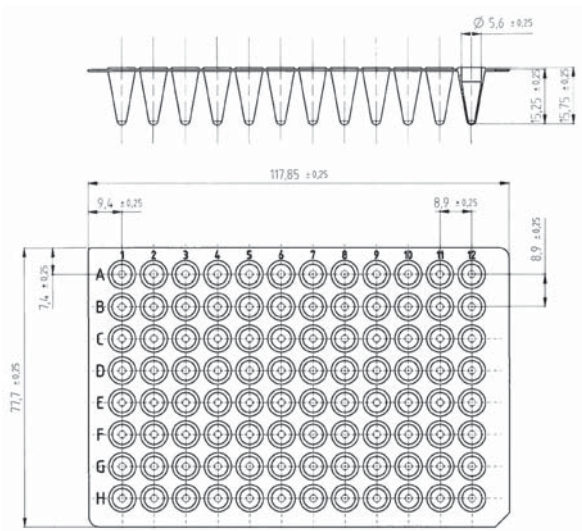
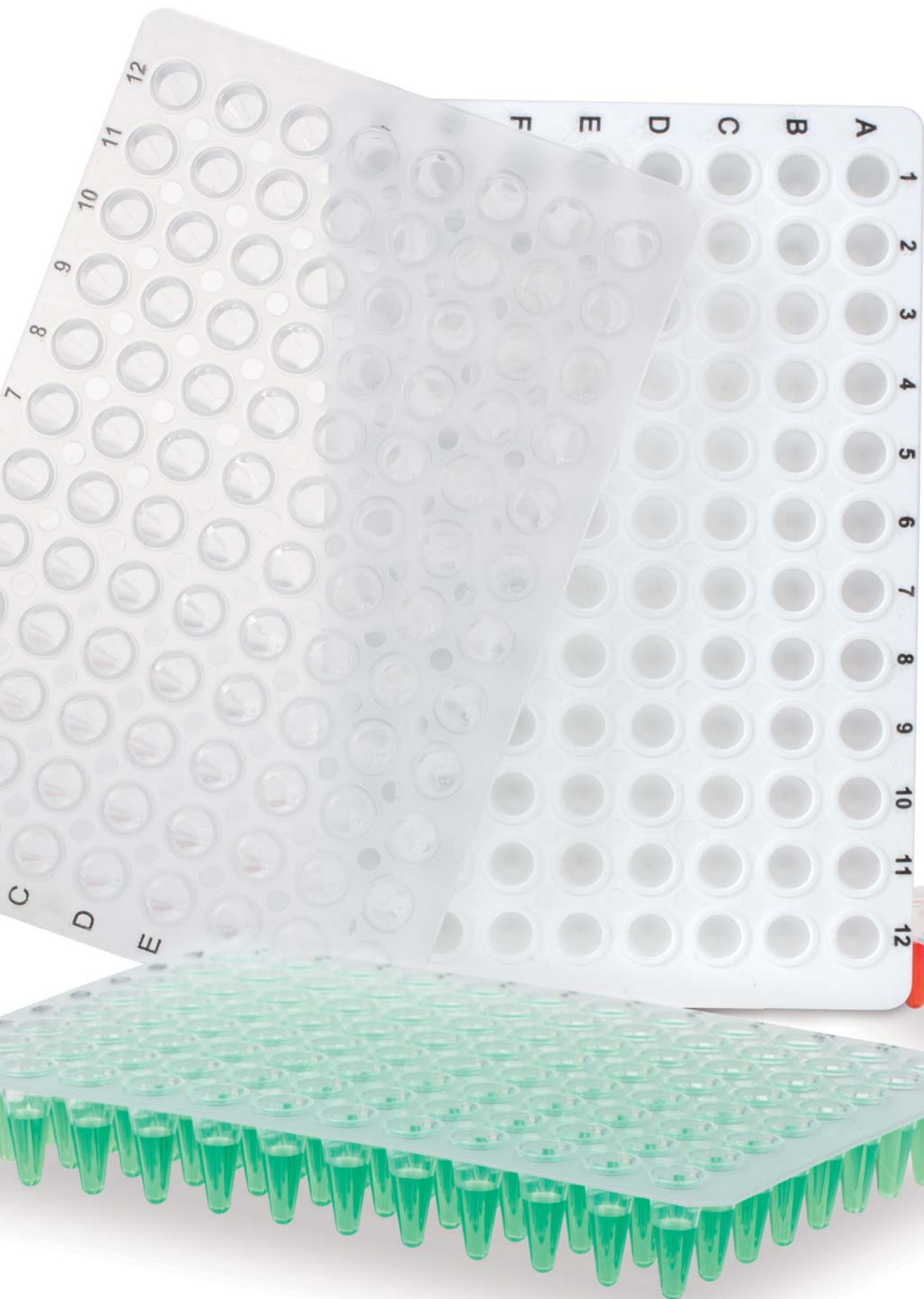
Profil : High Profile
Volume maximal des puits : 0,2 ml
Coin découpé : H12

- Caractéristiques et bénéfices :**
- Facile à découper en présence d'une faible quantité d'échantillons ou si un format à 24 ou 48 puits est requis.
 - Des parois de puits extrêmement homogènes et fines permettent un transfert de chaleur uniforme et d'une rapidité maximale. Des résultats fiables et hautement reproductibles sont ainsi garantis.
 - Les dimensions conformes aux normes ANSI permettent un usage sur des systèmes automatisés.
 - Le bord relevé entourant chaque puits protège des contaminations croisées, permettent une étanchéité sûre par des films et offre ainsi une protection contre les pertes par évaporation.
 - Un marquage alphanumérique noir facilite l'identification des échantillons et la traçabilité dans le cadre du remplissage manuel.
 - La production dans des conditions de salle blanche et les contrôles biologiques indépendants permettent l'excellente certification de pureté « PCR Performance Tested ».
 - Contrôle de l'étanchéité à 100 % de chaque puits pour une sécurité optimale dans le traitement d'échantillons précieux
 - Facile à empiler de manière sécurisée pour une exploitation optimale d'un espace de rangement le cas échéant limité.

Désignation	Coloris	Pureté	Conditionnement	Référence
Plaque PCR 96 puits sans jupe	transparent		10 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1978
Plaque PCR 96 puits sans jupe	blanc (optimisé pour la qPCR)		10 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1978.010

Autres coloris sur demande.
Des barrettes de bouchons et des films d'étanchéité appropriés sont disponibles aux pages 24 à 27.

Plaques PCR sans jupe – Low Profile



Informations produit :

Profil : Low Profile
Volume maximal des puits : 0,1 ml
Coin découpé : H12

Caractéristiques et bénéfices :

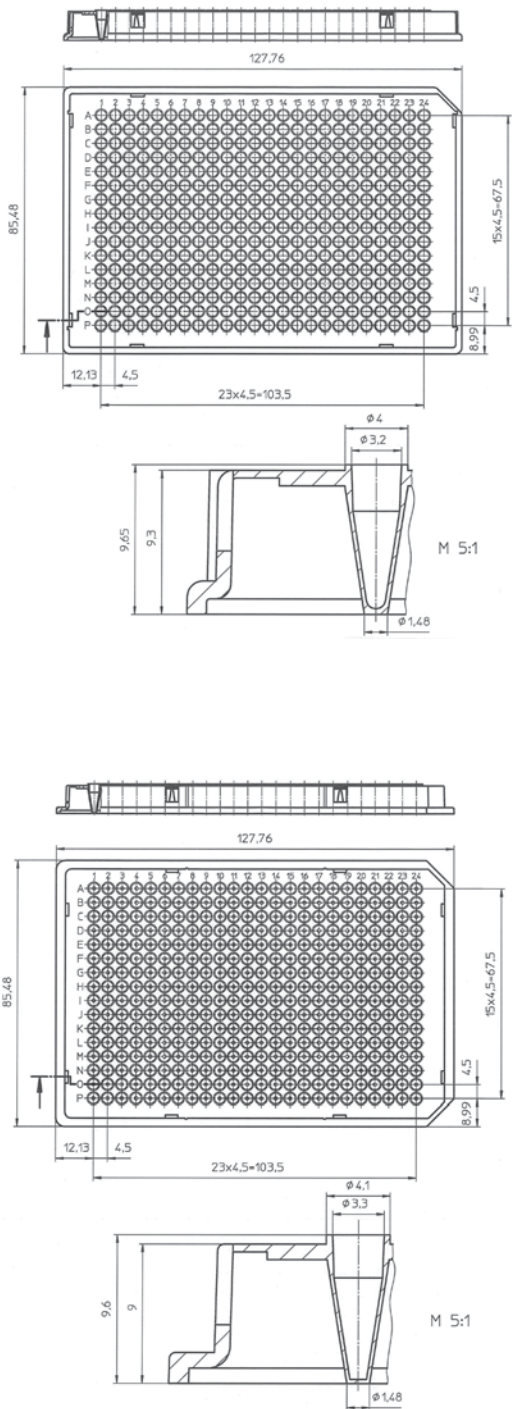
- Facile à découper en présence d'une faible quantité d'échantillons ou si un format à 24 ou 48 puits est requis.
- Des parois de puits extrêmement homogènes et fines permettent un transfert de chaleur uniforme et d'une rapidité maximale. Des résultats fiables et hautement reproductibles sont ainsi garantis.
- Les dimensions conformes aux normes ANSI permettent un usage sur des systèmes automatisés.
- Le bord relevé entourant chaque puits protège des contaminations croisées, permettent une étanchéité sûre des films et offre ainsi une protection contre les pertes par évaporation.
- Un marquage alphanumérique noir facilite l'identification des échantillons et la traçabilité dans le cadre du remplissage manuel.
- La production dans des conditions de salle blanche et les contrôles biologiques indépendants permettent l'excellente certification de pureté « PCR Performance Tested ».
- Facile à empiler de manière sécurisée pour une exploitation optimale d'un espace de rangement le cas échéant limité.



Désignation	Coloris	Pureté	Conditionnement	Référence
Plaque PCR 96 puits sans jupe	transparent		20 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1977.202
Plaque PCR 96 puits sans jupe	blanc (optimisé pour la qPCR)		20 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1977.232



Plaques PCR 384 puits



Informations produit :

Profil : Low Profile
Volume maximal des puits : 40 µl
Coin découpé : A24 ou A24 et P24

Caractéristiques et bénéfices :

- Des parois de puits extrêmement homogènes et fines permettent un transfert de chaleur uniforme et d'une rapidité maximale. Des résultats fiables et hautement reproductibles sont ainsi garantis.
- Les dimensions conformes aux normes ANSI permettent un usage sur des systèmes automatisés.
- Le bord relevé entourant chaque puits protège des contaminations croisées, permettent une étanchéité sûre des films et offre ainsi une protection contre les pertes par évaporation.
- Un marquage alphanumérique noir facilite l'identification des échantillons et la traçabilité dans le cadre du remplissage manuel.
- La production dans des conditions de salle blanche et les contrôles biologiques indépendants permettent l'excellente certification de pureté « PCR Performance Tested ».

Désignation	Coloris	Pureté	Conditionnement	Référence
Plaque PCR 384 puits avec jupe	transparent		25 unités / sachet et 50 unités / carton	72.1984.202
Plaque PCR 384 puits avec jupe	blanc (optimisé pour la qPCR)		50 unités / sachet et 100 unités / carton	72.1985.202

Plaques de PCR Multiply® – Tableau de compatibilité

Nombre de puits	96	96	96	96	96	384
Demi-Jupee/Jupee intégrale	sans	sans	Demi	Intégrale	Demi	Intégrale
Profile	High	High	High	Low	Low	-
Réf. plaques de PCR	72.985	72.1978 72.1978.010	72.1979 72.1979.010 72.1979.003 72.1979.201 72.1979.700 72.1979.102 72.1979.132	72.1980 72.1980.010 72.1980.201 72.1980.600 72.1980.700	72.1981 72.1981.010	72.1984.202

Amersham Biosciences® / GE Healthcare®

Système d'analyse ADN MegaBace 500/1000						
Système d'analyse ADN MegaBace 4000						

Analytik Jena® / Biometra®

FlexCycler® 96 puits						
qTOWER 2.0/2.2 SP						
SpeedCycler® 96 puits SP & SPR						
TAdvanced						
TOne						
TOptical						
TRobot 96 puits						
TRobot 384 puits						
Famille TProfessional 96 puits (hors TRIO)						
Famille TProfessional 384 puits (hors TRIO)						

Applied Biosystems® / Life Technologies®

GeneAmp® 2700, 2720						
GeneAmp® 7500 / 5700						
GeneAmp® 9600						
GeneAmp® 9700						
GeneAmp® 9800 FAST Block						
PE 2700						
PE 9600						
PE 9700						
Prism® 2720						
Prism® 7000 / 7700						
Prism® 7300 / 7500						
Prism® 7500 Fast						
Prism® 7900HT						
Prism® 7900 Fast						
Prism® 7900HT Fast						
QuantStudio™ (3, 5, 6, 7 et 12)						
StepOne Plus™						
Veriti® 96 puits / 384 puits						
Veriti® Fast 96 puits						
ViiA7™						
310 Genetic Analyser						
3100 / 3130 Genetic Analyser						
3500 / 3500XL Genetic Analyser						
3700 / 3730 / 3730XL Genetic Analyser						

PeqLab®

peqSTAR 96						
peqSTAR 384						

Thermo Fisher Scientific®

Système MultiBlock						
PCR Sprint						

Légende : = recommandé = aucun contrôle réalisé * avec adaptateur ABI correspondant

Le tableau de compatibilité constitue une recommandation d'utilisation pour les produits indiqués. Nous tenons à préciser que nous n'effectuons pas de tests de routine pour la compatibilité des articles avec les dispositifs mentionnés. Il ne s'agit donc pas d'une propriété garantie du produit.

Nombre de puits	96 prémontés	96	96	96	96	384	96	384
Demi-Jupee/Jupee intégrale	sans	sans	Demi	Intégrale	Demi	Intégrale	Intégrale	Intégrale
Profile	High	High	High	Low	Low	-	« Lightcycler »	« Lightcycler »
Réf. plaques de PCR	72.985	72.1978 72.1978.010	72.1979 72.1979.010 72.1979.003 72.1979.201 72.1979.700 72.1979.102 72.1979.132	72.1980 72.1980.010 72.1980.201 72.1980.600 72.1980.700	72.1981 72.1981.010	72.1984.202	72.1982.202	72.1985.202

BioRad® / MJ Research®

CFX96 Touch™ PCR en temps réel								
CFX384 Touch™ PCR en temps réel								
Système d'automatisation CFX II								
Cycleur thermique T100™								
Cycleur thermique S1000™								
Cycleur thermique C1000Touch™								
Cycleur thermique iCycler iQ™								
Cycleur thermique iQ4™								
Cycleur thermique iQ5™								
Cycleur thermique MyCycler™								
Chromo4™								
Opticon™, Opticon2™								
BaseStation™								

Corbett Research® / Qiagen®

Palm Cycler 96 puits								
Palm Cycler 384 puits								

Eppendorf®

Mastercycler® nexus								
Mastercycler® ep realplex								
Mastercycler® gradient								
Mastercycler® ep gradient								
Mastercycler® pro								

Ericom®

Deltacycler								
SingleBlock								
TwinBlock								

MWG®

Primus 96 puits								
Primus 384 puits								
Q-Lifecycler								

Roche®

Système Lightcycler® 96								
Système Lightcycler® 480								

Stratagene® / Agilent®

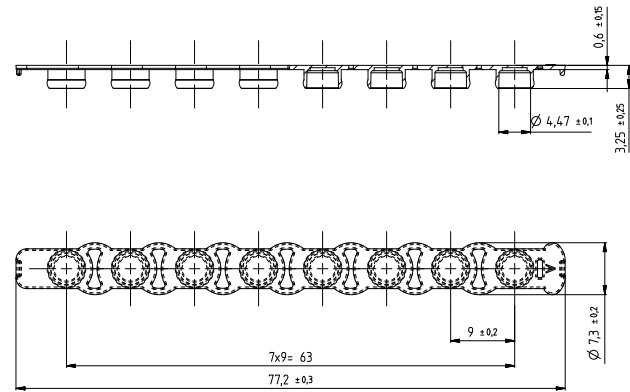
Système AriaMx PCR en temps réel								
Mx3000P™								
Mx3005P™								
Mx4000™								
Cycleur à gradient								
Robocycler 384 puits								

Techne®

Cyclogene								
Flexigene								
Genius / Genius Quad								
OMN-E								
PCR Express								
Primus 96								
Px2 / PxE								
Quantica								
TC412 / TC512								
Touchgene / Touchgene Gradient								



Barrettes de bouchons pour PCR



Conseil :
Dans le cadre de la conservation d'échantillons
sur des plaques PCR, nous recommandons
de les fermer au moyen de barrettes de
bouchons afin de permettre une ouverture
et une fermeture aisées.

Caractéristiques et bénéfices :

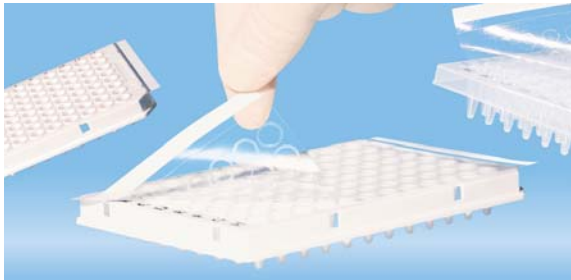
- Convient à la fermeture de plaques et de barrettes PCR.
- Barrettes de bouchons à haute transparence sur mesure pour PCR en temps réel et autres applications reposant sur la fluorescence.
- Barrettes de bouchons optimisées et compatibles avec plaques et barrettes de tubes PCR afin de garantir une fermeture étanche.
- Orientation aisée par le biais de marquages d'orientation des extrémités des barrettes de bouchons.
- Compatibilité universelle des barrettes bouchons aussi bien avec des barrettes que des plaques PCR.
- La production dans des conditions de salle blanche et les contrôles biologiques indépendants permettent les excellentes certifications de pureté « PCR Performance Tested » et Biosphere® plus.

Désignation	Coloris	Pureté	Compatible avec	Conditionnement	Référence
Barrette de bouchons pour PCR	à haute transparence		72.1978 72.1978.010 72.1979 72.1979.010 72.1979.003 72.1979.201 72.1979.700 72.1980 72.1980.010 72.1980.201 72.1980.600 72.1980.700 72.1981 72.1981.010 72.985.002 72.985.092 72.985.992	12 unités / sachet et 240 unités / carton	65.989
Barrette de bouchons pour PCR	à haute transparence		72.1979.102 72.1979.132 72.1982.202	120 unités / sachet et 480 unités / carton	65.989.002
Barrette de bouchons pour PCR	transparent		72.1979.102 72.1979.132 72.1982.202	12 unités / sachet et 1200 unités / carton	65.1998.400

Films de scellage adhésifs

La fermeture hermétique des plaques de microtitration en polypropylène, polystyrène et polycarbonate nécessite des matériaux de film sur mesure pour empêcher toute évaporation et pour protéger les échantillons pendant l'application, le stockage et l'envoi.

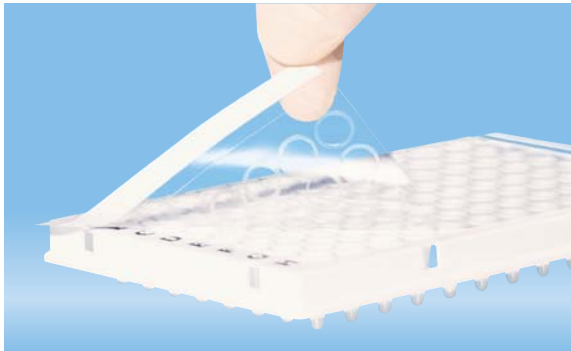
Différents films de scellage SARSTEDT sont disponibles. Ils sont mis au point tout spécialement pour répondre aux exigences strictes de la PCR, du stockage de substances actives et du criblage à haut débit. Tous les films sont produits dans des conditions stériles, pour éviter toute contamination par la DNase/RNase et les acides nucléiques. Tous les films sont compatibles avec des solutions aqueuses et des solvants organiques comme le DMSO, l'acétonitrile et le méthanol.



Film adhésif haute transparence pour PCR quantitative (qPCR) • REF 95.1999

Le film de 50 µm d'épaisseur est revêtu d'une colle, transparente et sans trace, affichant une adhérence légère à température ambiante qui simplifie ainsi sa manipulation. Une forte adhérence n'est obtenue qu'après avoir appuyé sur le film n'entraînant que des pertes infimes par évaporation.

- Film haute transparence sur mesure pour PCR en temps réel (qPCR) et autres applications reposant sur la fluorescence.
- Un colle innovante assure un scellage sûr.
- Lors de l'application du film, il n'y a aucune adhérence gênante avec les gants.



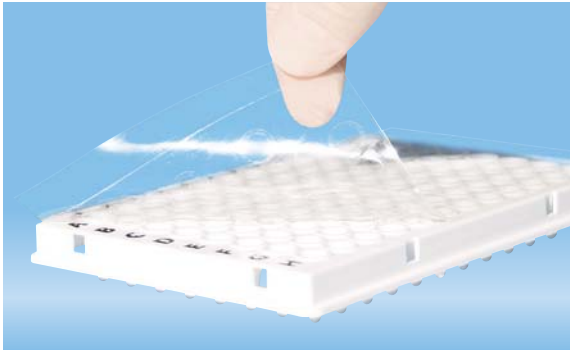
Film adhésif transparent pour PCR quantitative en temps réel (qPCR) • REF 95.1993

Le film se compose d'un film polyester de 50 µm d'épaisseur particulièrement transparent recouvert d'une fine couche de colle.

- Haute transparence
- Haute protection contre l'évaporation



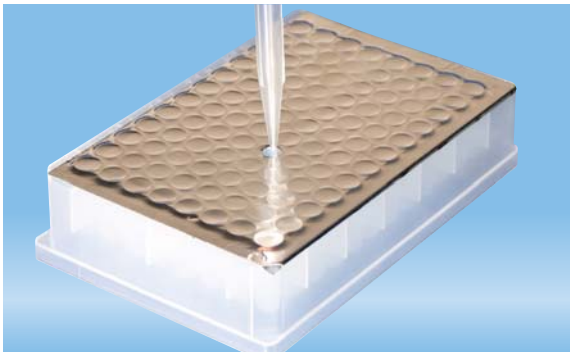
Film adhésif transparent pour PCR • REF 95.1994



Film translucide pour la PCR standard et la PCR en temps réel (qPCR).

- Idéal pour le stockage d'échantillons jusqu'à -70 °C.

Film adhésif d'aluminium pour PCR et stockage d'échantillons • REF 95.1995



Le film d'aluminium de 38 µm d'épaisseur, résistant à la chaleur, robuste et perforable, se distingue par une grande protection contre l'évaporation et une bonne résistance aux solvants. Les bandes d'application latérales perforées se séparent aisément après leur mise en place.

- Le film d'aluminium est facile à perforer à l'aide des pointes de pipette.
- Idéal pour le stockage d'échantillons/substances actives jusqu'à -70 °C.

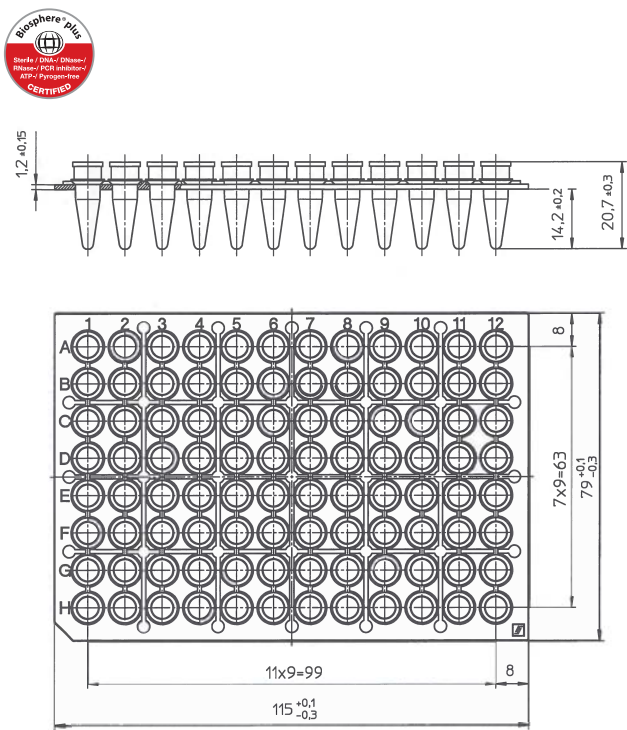
Description de produit	Application	Caractéristiques spécifiques	Optique	Perforable	Plage fonctionnelle de température	Conditionnement	Référence
Film qPCR haute transparence adhésif	qPCR, analyses par fluorescence	Haute transparence, colle thermosensible, taux de condensation minimale	+	non	-80 °C à 100 °C	100 films / carton intérieur	95.1999
Film PCR transparent	PCR, qPCR	Matériau fin, haute transparence optique	+	non	-40 °C à 120 °C	100 films / carton intérieur	95.1993
Film PCR transparent	PCR, stockage d'échantillons	Forte adhérence, haute résistance chimique	+	non	-70 °C à 105 °C	100 films / carton intérieur	95.1994
Film d'aluminium adhésif	Stockage d'échantillons, PCR	Perforable, protection des échantillons à la lumière, grande résistance chimique	-	oui	-70 °C à 105 °C	100 films / carton intérieur	95.1995

Quel film convient à mon application ?

		Propriétés du film		Référence
PCR en temps réel (qPCR)	→	Collant encapsulé	→	95.1999
	→	Film standard	→	95.1993
PCR en point final	→	Aluminium, perforable	→	95.1995
	→	transparent, haute adhérence	→	95.1994
Conservation d'échantillons	→	Aluminium, perforable	→	95.1995
	→	transparent, haute adhérence	→	95.1994



Pré-insertion facile - l'alternative aux plaques PCR à 2 composants avec cadre en polycarbonate





Informations produit :

Profil : High Profile
Volume maximal des puits : 0,2 ml

12 barrettes PCR pré-empoîtées sur un plateau de travail avec une certification de pureté maximale

- Caractéristiques et bénéfices :**
- Version Biosphere® plus, conditionnement individuel stérile
 - Refermable par une barrette de bouchons à haute transparence
REF 65.989
 - Cadre en polycarbonate
 - Utilisable dans le RackSystem (voir page 37)



Désignation	Coloris	Pureté	Conditionnement	Référence
Barrette PCR 96 puits sur plateau de travail	transparent		Conditionnement individuel en sachet et 20 unités / carton	72.985
Barrette de bouchons pour PCR, Biosphere® plus	à haute transparence		12 unités / sachet et 240 unités / carton	65.989

Barrette de tubes PCR avec barrette de bouchons séparée – High Profile



Informations produit :

Profil : High Profile
Volume maximal des puits : 0,2 ml

Caractéristiques et bénéfices :

- Des barrettes de bouchons et de tubes PCR compatibles et optimisées pour assurer une fermeture étanche.
- Aucune torsion, ni pliage ou rupture – des barres de liaison renforcées évitent tout affaissement des barrettes PCR.
- Orientation aisée par le biais de marquages d'orientation des extrémités des barrettes de bouchons (encoche unilatérale).
- Des parois de tubes extrêmement homogènes et fines permettent un transfert de chaleur uniforme et d'une rapidité maximale. Des résultats fiables et hautement reproductibles sont ainsi garantis.
- Compatibilité universelle des barrettes de bouchons aussi bien avec des barrettes de tubes que des plaques PCR.
- La production dans des conditions de salle blanche et les contrôles biologiques indépendants permettent les excellentes certifications de pureté « PCR Performance Tested » et Biosphere® plus.



Désignation	Coloris	Pureté	Conditionnement	Référence
Barrette de 8 tubes PCR sans bouchons attachés	transparent		120 unités / sachet et 480 unités / carton	72.985.002
Barrette de 8 tubes PCR sans bouchons attachés	blanc (optimisé pour la qPCR)		120 unités / sachet et 480 unités / carton	72.985.092
Barrette de 8 tubes PCR sans bouchons attachés	Coloris mixte (rouge, vert, bleu, violet)		120 unités par coloris / sachet et 480 unités / carton	72.985.992
Barrette de bouchons à haute transparence	transparent		120 unités / sachet et 480 unités / carton	65.989.002

Autres coloris sur demande.

Barrette de tube PCR avec barrette de bouchons séparée – Low Profile

Informations produit :

Profil :Low Profile
Volume maximal des puits :0,1 ml



Caractéristiques et bénéfices :

- Des barrettes de bouchons et de tubes PCR compatibles et optimisées pour assurer une fermeture étanche
- Des parois de puits extrêmement homogènes et fines permettent un transfert de chaleur uniforme et d'une rapidité maximale. Des résultats fiables et hautement reproductibles sont ainsi garantis.
- La production dans des conditions de salle blanche et les contrôles biologiques indépendants permettent l'excellente certification de pureté « PCR Performance Tested ».
- Pack combiné avec barrette de couvercles.



Désignation	Coloris	Pureté	Conditionnement	Référence
Barrette de 8 tubes PCR sans bouchons attachés.	transparent		125 unités par coloris / sachet et 1250 unités / carton	72.982.002
Barrette de 8 tubes PCR sans bouchons attachés	blanc (optimisé pour la qPCR)		125 unités par coloris / sachet et 1250 unités / carton	72.982.092

Barrette de tubes PCR avec bouchons attachés

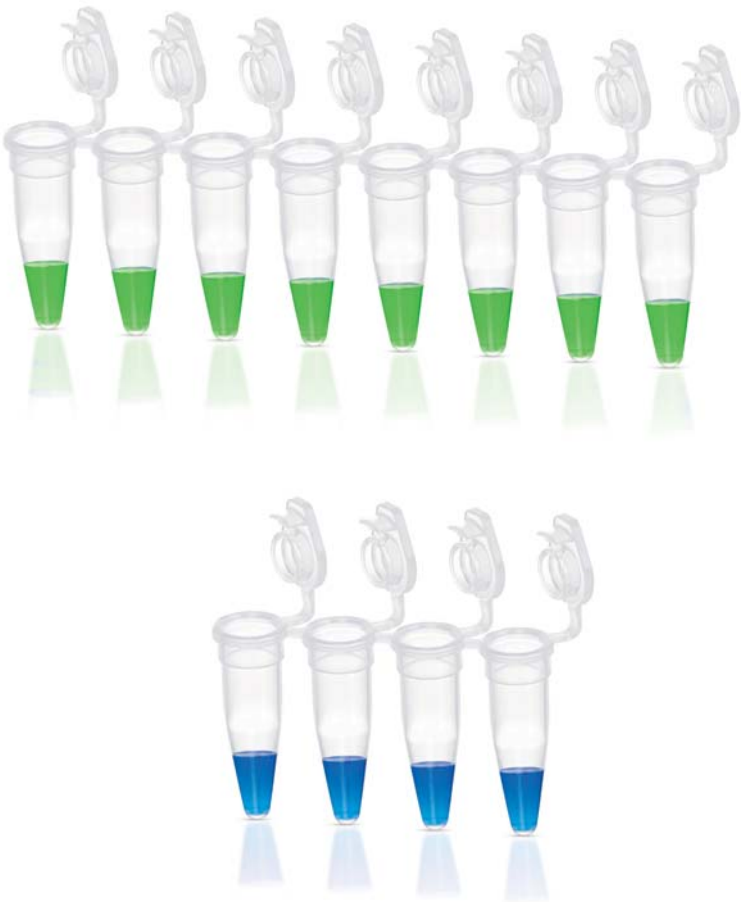


Informations produit :

Profil :High Profile
Volume maximal des puits :0,2 ml

Caractéristiques et bénéfices :

- Une sécurité améliorée sans altération de la facilité de manipulation – la protection anti-contamination intégrée prévient le contact accidentel avec la surface interne du couvercle.
- Aucune torsion, ni pliage ou rupture - des barres de liaison renforcées évitent tout affaissement des barrettes PCR.
- Couvercle plat avec grande surface d'inscription.
- Des parois de puits extrêmement homogènes et fines permettent un transfert de chaleur uniforme et d'une rapidité maximale. Des résultats fiables et hautement reproductibles sont ainsi garantis.
- La production dans des conditions de salle blanche et les contrôles biologiques indépendants permettent les excellentes certifications de pureté « PCR Performance Tested » et Biosphere® plus.



Désignation	Coloris	Pureté	Conditionnement	Référence
Barrette de 8 tubes PCR sans bouchons attachés	transparent		120 unités / sachet et 480 unités / carton	72.991.002
Barrette de 8 tubes PCR avec bouchons attachés	Coloris mixte (rouge, vert, bleu, violet)		120 unités par coloris / sachet et 480 unités / carton	72.991.992
Barrette de 4 tubes PCR avec bouchons attachés	transparent		120 unités / sachet et 480 unités / carton	72.990.002
Barrette de 4 tubes PCR avec bouchons attachés	transparent		50 unités / sachet et 400 unités / carton	72.990
Barrette de 4 tubes PCR avec bouchons attachés	Coloris mixte (rouge, vert, bleu, violet)		120 unités par coloris / sachet et 480 unités / carton	72.990.992

Barrettes de PCR Low Profile (0,1 ml) avec couvercles attachés

Désignation	Coloris	Pureté	Conditionnement	Référence
Barrette de 8 tubes PCR avec bouchons attachés	transparent		12 unités / sachet et 1200 unités / carton	72.991.103

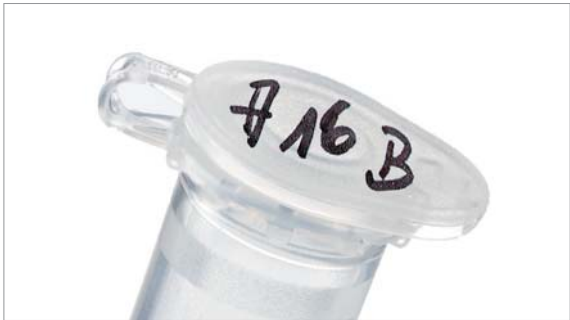


Microtubes PCR avec bouchon attaché



Informations produit :

Profil : High Profile
Volume maximal des puits : 0,2 ml et 0,5 ml



Caractéristiques et bénéfices :

- Une sécurité améliorée sans altération de la facilité de manipulation – la protection anti-contamination intégrée prévient le contact accidentel avec la surface interne du couvercle.
- Microtubes de 0,5 ml convenant à un usage sur le fluoromètre Qubit™
- Bouchon plat avec grande surface d'écriture.
- Des parois de tubes extrêmement homogènes et fines permettent un transfert de chaleur uniforme et d'une rapidité maximale. Des résultats fiables et hautement reproductibles sont ainsi garantis.
- La production dans des conditions de salle blanche et les contrôles biologiques indépendants permettent les excellentes certifications de pureté « PCR Performance Tested » et Biosphere® plus.

Conseil :
Le bloc du thermocycleur doit normalement toujours être rempli de manière symétrique afin d'obtenir une répartition homogène de la pression du couvercle de l'appareil sur les tubes PCR ainsi qu'une répartition égale de la chaleur.

Désignation	Coloris	Pureté	Conditionnement	Référence
Microtube PCR 0,2 ml avec bouchon attaché	transparent		500 unités / sachet et 2000 unités / carton	72.737.002
Microtube PCR 0,2 ml avec bouchon attaché	transparent		250 unités / sachet et 2000 unités / carton	72.737
Microtube PCR 0,2 ml avec bouchon attaché	Coloris mixte (rouge, orange, vert, bleu, violet, jaune)		500 unités par coloris / sachet et 3000 unités / carton	72.737.992
Microtube PCR 0,5 ml avec bouchon attaché	transparent		500 unités / sachet et 2000 unités / carton	72.735.002
Microtube PCR 0,5 ml avec bouchon attaché	transparent		100 unités / sachet et 1000 unités / carton	72.735.100
Microtube PCR 0,5 ml avec bouchon attaché	Coloris mixte (rouge, orange, vert, bleu, violet, jaune)		500 unités par coloris / sachet et 3000 unités / carton	72.735.992

Systèmes de rack et de pipettage intelligents

Refroidissement fiable de vos échantillons précieux – le rack de PCR IsoFreeze®

La préparation d'échantillons nécessite souvent un refroidissement continu et fiable. C'est la raison pour laquelle SARSTEDT propose pour les applications thermosensibles le rack PCR IsoFreeze® : un poste de pipettage et de stockage permettant un contrôle fiable de la température.

Caractéristiques et bénéfices :

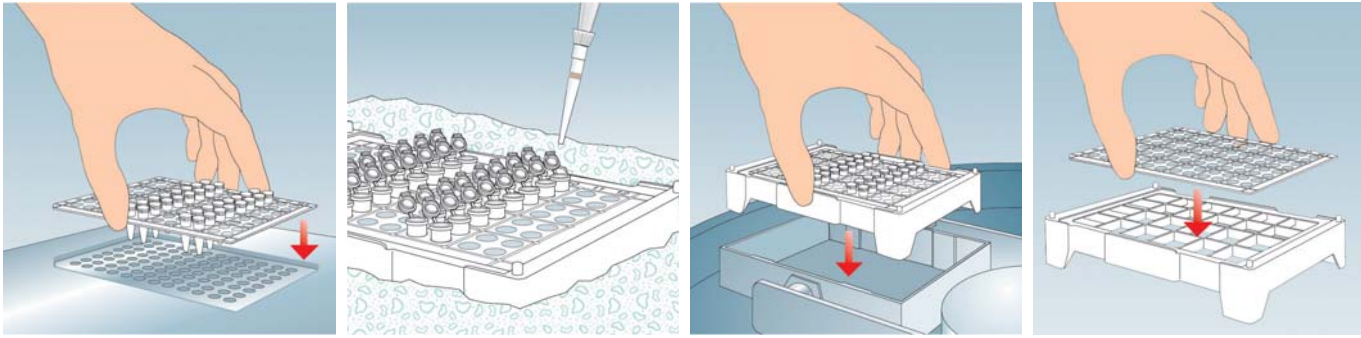
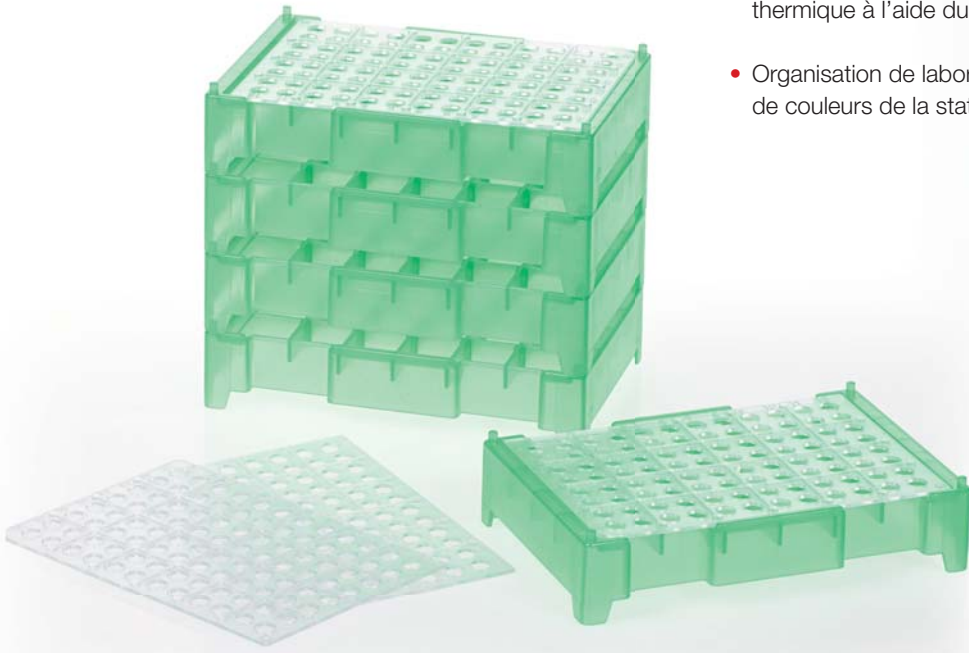
- Changement de couleur notable, du violet au rose, lorsque la température sort de la plage optimale (En dessous de 7°C).
- Risque de contamination minimisé en raison de l'absence de stockage d'échantillons sur glace.
- A température ambiante normale, la température des échantillons est maintenue dans la plage optimale jusqu'à trois heures (avec couvercle)
- Format 8 x 12 pour plaques, barrettes et tubes PCR de 0,1 et 0,2 ml ou format 6 x 4 qui convient aux tubes à réaction de 1,5 et 2 ml

Désignation	Coloris	Conditionnement	Référence
Portoir PCR IsoFreeze®	Format 96 puits	2 unités / carton	95.984
Portoir MCT IsoFreeze®	Format 24 puits	1 unité / carton	95.983



Le RackSystem SARSTEDT – le poste de conservation et de pipettage flexible

- Système flexible en 2 pièces composé d'un plateau de travail et d'une station de base
- Gain de temps dans la manipulation des barrettes PCR et des tubes qui peuvent être transmis dans le cycleur thermique à l'aide du plateau de travail
- Organisation de laboratoire aisée grâce à différentes options de couleurs de la station de base



Désignation	Coloris	Référence
Grille pour barrettes PCR	5 unités / sachet	95.987.002
Portoir ° pour plaque PCR Multiply - naturel	5 unités / carton	95.988
Portoir ° pour plaque PCR Multiply - rouge	5 unités / carton	95.988.001
Portoir ° pour plaque PCR Multiply - bleu	5 unités / carton	95.988.002
Portoir ° pour plaque PCR Multiply - vert	5 unités / carton	95.988.003
Portoir ° pour plaque PCR Multiply - jaune	5 unités / carton	95.988.004

Recommandations / directives pour des réactions de PCR réussies

Recommandations générales

- Conservez toujours l'ADN dans un tampon de Tris-EDTA (pH 8) et pas dans de l'eau afin de prévenir toute dégradation.
- Servez-vous de pointes de pipette à filtre et portez des gants afin d'éviter les contaminations croisées.
- Évitez de pipetter les milieux réactionnels sous une hotte ventilée à flux laminaire car cette dernière augmente le risque de contaminations croisées.
- Pipetez les mélanges réactionnels dans une zone propre qui est utilisée pour le plus petit nombre possible d'autres applications de biologie moléculaire.
- Lors du pipetage du mélange réactionnel, les ADN polymérases doivent être le dernier composant ajouté.
- Évitez la décongélation-recongélation répétée de nucléotides (dNTP) car cette procédure risque de les détruire. Il est recommandé d'aliquoter les nucléotides et les amorces et de conserver les aliquots à -70 °C.
- Pour l'amplification, calculez une minute de temps d'élongation pour une matrice d'ADN de 1 kb.
- Servez-vous de consommables certifiés exempts d'ADN, de DNase/RNase et d'inhibiteurs de la PCR et évitez d'autoclaver les consommables avant leur utilisation car cette procédure implique un risque de contamination des produits par des biomolécules indésirables.
- Réduisez le plus possible l'exposition de produits de PCR à la lumière UV lorsqu'ils sont découpés dans le gel afin de prévenir toute erreur dans la séquence d'ADN.

Directives relatives à l'usage de la matrice ADN

- Pour sélectionner le produit de PCR en 25-30 cycles, environ 100 copies du modèle sont nécessaires. Utilisez au moins 40 cycles dans l'hypothèse où il y ait moins de dix copies de l'ADN matrice.
- Règle générale : Lorsque vous utilisez de l'ADN plasmidique, utilisez des concentrations de matrice de 1pg-1ng. Lorsque vous utilisez de l'ADN génomique, utilisez des concentrations de matrice de 1 ng - 1µg. Des concentrations de matrice plus élevées réduisent la spécificité de la réaction et augmentent donc l'apparition de produits PCR non spécifiques.
- Vérifiez la pureté de la matrice ADN par photométrie (le quotient 260 nm / 280 nm doit être supérieur ou égal à 1,8) afin de vous assurer que la matrice n'est pas contaminée par des inhibiteurs de PCR et utilisez un kit d'isolement d'ADN ou procédez à une précipitation à l'éthanol si une contamination a été constatée.
- Vérifiez à l'aide d'une électrophorèse sur gel si la matrice ADN est dégradée.

Directives relatives à l'usage des amorces

- Règle générale : Utilisez une concentration d'amorce finale de 0,05 – 1 µM par amorce. Des concentrations d'amorce supérieures augmentent la survenue de produits de PCR non spécifiques par la liaison non spécifique de l'amorce. Une concentration de 0,2 µM par amorce dans la réaction finale est souvent optimale.
- L'amorce doit si possible présenter une longueur située entre 20 et 30 nucléotides.
- Le taux de GC des amorces doit dans l'idéal se situer entre 40 et 60 % et les molécules de GC doivent être réparties de manière homogène sur la longueur des amorces. Vous pouvez ajouter du DMSO au milieu réactionnel afin d'optimiser l'amplification de produits de PCR affichant un taux de GC élevé. Les températures d'hybridation doivent le cas échéant être adaptées en cas d'usage d'additifs, comme le DMSO, des concentrations élevées étant susceptibles d'altérer la liaison des amorces. Utilisez dans ce cas la concentration la plus faible possible et ne dépassez pas une concentration de 10 % dans le milieu réactionnel.
- Les températures d'hybridation (Tm) de la paire d'amorces utilisée ne doivent pas diverger de plus de 5 °C et se trouver dans un intervalle de 50 à 72 °C.
- Utilisez une température d'hybridation inférieure de 0 à 5 °C au Tm calculé de l'amorce ayant le Tm le plus faible.

«Check-list» de résolution de problèmes liés à la PCR

Problème	Cause possible	Solution
Aucun produit d'amplification	Inhibiteurs de la PCR dans le milieu réactionnel	Servez-vous de consommables certifiés exempts d'ADN, de DNase/RNase et d'inhibiteurs de la PCR. Assurez-vous de la pureté de la matrice ADN par photométrie pour détecter une éventuelle contamination de la matrice par des inhibiteurs de PCR (phénol, protéinase K, K ⁺ , Na ⁺ , etc.). Si le quotient 260 nm / 280 nm est inférieur à 1,8, utilisez un kit de purification d'ADN ou procédez à une précipitation à l'éthanol afin, le cas échéant, d'éliminer d'éventuels inhibiteurs de PCR. Diluez la matrice (et donc les inhibiteurs de la PCR) ou sinon augmentez la concentration d'ADN polymérase.
	La matrice PCR est dégradée	Vérifiez à l'aide d'une électrophorèse sur gel la présence d'une matrice PCR dégradée. Procédez à nouveau isolement de matrice en présence de signes de dégradation de l'ADN de départ («smear» d'ADN, bande trop petite, etc.). Minimisez la fragmentation de l'ADN au cours de l'isolation. Conservez la matrice ADN dans un tampon de Tris-EDTA (pH 8) afin de prévenir sa dégradation.
	Conditions de réaction sous-optimales	La température d'hybridation peut avoir été trop élevée, le temps de dénaturation peut avoir été trop long ou le nombre de cycles peut avoir été trop faible. Optimisez la température d'hybridation par une réduction progressive par paliers de 1 à 2 °C, commencez par dénaturer l'ADN pendant 3 minutes (une dénaturation prolongée étant susceptible de dégrader l'ADN) et pendant 30 secondes au cours des cycles de réaction et/ou augmentez le nombre de cycles de 5 cycles.
	Oubli de composant dans le milieu réactionnel	Répétez la PCR.
Produits d'amplification non spécifiques	Réactifs contaminés (comme l'eau)	Les réactifs de PCR (et souvent l'eau utilisée) peuvent avoir été contaminés par accident dans le cadre des pipetages antérieurs. Servez-vous de réactifs de PCR frais.
	Conditions de réaction sous-optimales	Une température d'hybridation trop faible, un nombre de cycles trop élevé ou un temps d'élongation excessif peuvent avoir été réalisés. Des températures d'hybridation trop faibles favorisent une liaison non spécifique des amorces. Essayez de déterminer la meilleure température d'hybridation permettant de générer le produit de PCR le plus pur à l'aide d'un gradient de température. Un nombre de cycles trop élevé peut entraîner une amplification des produits de PCR non spécifiques. Essayez de réduire le nombre de cycles de 5 cycles en cas d'apparition de produits de PCR non spécifiques. Des intervalles d'élongation prolongés favorisent aussi une amplification non spécifique. Définissez un temps d'élongation le plus précis possible en fonction de la taille du produit de PCR (pour l'amplification par 1 kb de matrice ADN, les Taq polymérases nécessitent un temps d'extension d'environ une minute).
	Quantité de Mg ²⁺ excessive dans le milieu réactionnel	Des concentrations de Mg ²⁺ excessives augmentent la probabilité de liaison non spécifique des amorces et par conséquent la génération de produits de PCR non souhaités. Réduisez dans ce cas la quantité de Mg ²⁺ utilisée.
	La matrice PCR est dégradée	Vérifiez à l'aide d'une électrophorèse sur gel la présence d'une matrice PCR dégradée. Si des signes indiquent que l'ADN initial est dégradé («smear» de l'ADN, bandes trop petites, etc.), répétez l'isolement de la matrice. Minimisez la fragmentation de l'ADN pendant l'isolement. Pour éviter que l'ADN matrice ne se dégrade, le conserver dans un tampon Tris-EDTA (pH 8).

SARSTEDT S.A.R.L.

Route de Gray
Z.I. des Plantes
70150 Marnay

Tel: +33 384 31 95 95

Fax: +33 384 31 95 99

info.fr@sarstedt.com

www.sarstedt.com



SARSTEDT