



Génétique

Apprentissage à la manipulation de la micropipette

Réf :
117 200

Français – p 1

**Kit Apprentissage de la micropipette et
réalisation d'une gamme étalon – 24 élèves**

Version : 0001

1. Principe général de l'utilisation d'une micropipette

1.1 Généralités

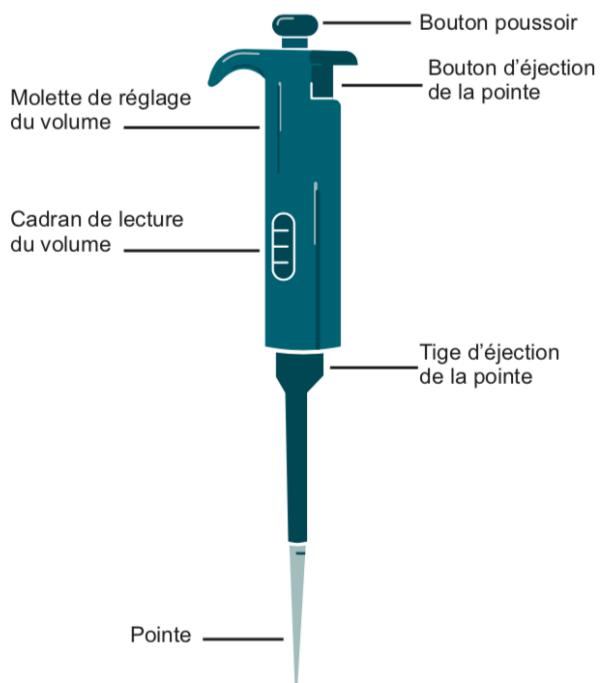
1.1.1 Définition

Les micropipettes font partie du matériel de base d'un laboratoire et sont utilisées de manière routinière. Il est donc primordial de savoir utiliser ces instruments. Leur utilisation est très simple, mais demande toutefois de connaître quelques notions afin garantir une bonne précision lors des manipulations et leur permettre une longue durée de vie.

Une micropipette permet de prélever et de transférer un volume très faible de liquide, de manière très précise.

Pour cela, il est nécessaire d'ajouter un cône au bout de la pipette. Il ne faut jamais pipeter un liquide **sans cône** au bout de la micropipette, et il ne faut jamais tenir la micropipette **à l'envers**, afin d'éviter tout risque d'endommager le piston avec du liquide.

Il faut bien veiller à changer de cône entre chaque prélèvement, afin d'éviter tout risque de contamination.



1.1.2 Les différentes micropipettes

Il existe des micropipettes à volume fixe, c'est-à-dire qu'elles ne peuvent prélever qu'un seul volume. Par exemple, une micropipette à volume fixe de 10 µL ne pourra prélever que du 10 µL.

Il existe également des micropipettes à volume variable, avec lesquelles on peut choisir un volume spécifique. Par exemple une micropipette P20 peut prélever entre 2 et 20 µL. Pour régler le volume, il suffit de tourner la molette de réglage jusqu'à ce que la quantité souhaitée soit indiquée dans le cadran de lecture.

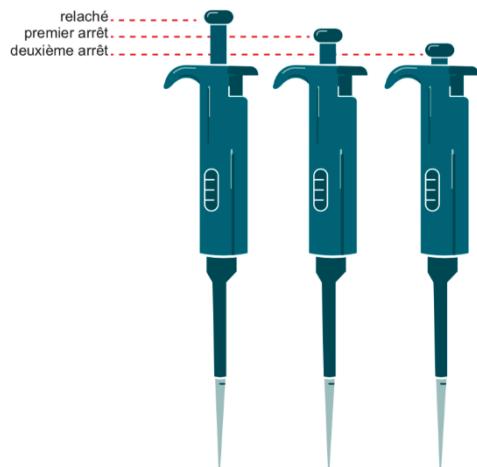
Attention : ne jamais tourner la molette en deçà ou au-delà de sa capacité au risque de casser le piston.

1.2 Fonctionnement

1.2.1 Utilisation du bouton poussoir

Trois positions existent pour le bouton poussoir :

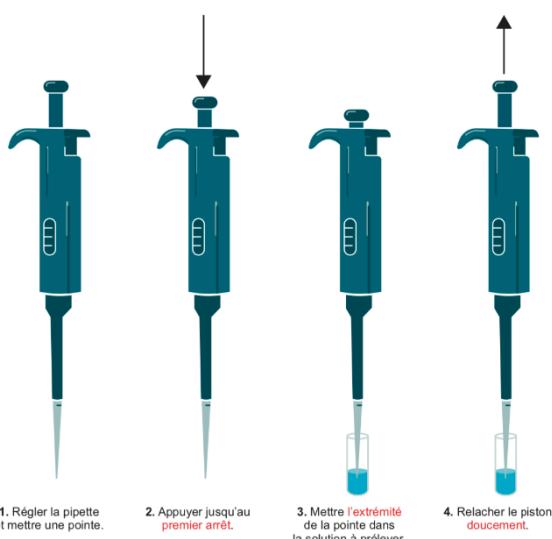
- complètement relâché (position de repos).
- appuyé jusqu'au premier cran
- appuyé à fond, jusqu'au deuxième cran (permet de vider complètement la pointe).



1.2.2 Comment pipeter

Prélever le réactif :

- Régler la pipette au volume désiré
- Mettre un cône
- Appuyer sur le piston jusqu'au premier cran
- Plonger le cône dans la solution à prélever
- Prélever du réactif en relâchant doucement le piston



Transférer le réactif dans un autre récipient

- Se positionner au-dessus du tube où on souhaite déposer le liquide
- Appuyer la pointe du cône sur la paroi interne du tube
- Appuyer sur le piston jusqu'au second cran



1. Amener la pipette vers le tube dans lequel vous désirez transférer le liquide.

2. Mettez la pointe dans le nouveau tube de façon à ce qu'elle touche la paroi intérieure.

3. Appuyer doucement sur le bouton poussoir jusqu'au premier arrêt, puis...

4. ...Continuer d'appuyer sur le bouton poussoir jusqu'au bout afin d'expulser tout le liquide.

- Ejecter le cône en appuyant sur le bouton éjecteur



Remarque : il est possible de pratiquer le « pipetage inverse » : pour cela, appuyer sur le second cran du piston pour prélever le liquide, puis appuyer jusqu'au premier cran pour rejeter le liquide. Cette méthode permet d'être encore plus précis mais nécessite plus de liquide et à l'inconvénient que du liquide est perdu dans le cône lorsqu'on l'éjecte. On peut éjecter le liquide prélevé en surplus resté dans le cône, mais on risque de contaminer le tube de réactif initial.

2. Principe général d'une gamme d'étalonnage

2.1 Dosage par échelle de teinte

Une gamme d'étalonnage est une série de solutions étalons dont les concentrations sont connues et encadrent la concentration de la solution à doser. Le principe repose sur la mesure d'une grandeur physique (absorbance ou intensité de fluorescence par exemple) dont la valeur dépend directement et manière linéaire de la concentration de la solution (masse, masse volumique, concentration molaire).

Pour réaliser un dosage par échelle de teinte, l'espèce chimique à doser doit être colorée. Si celle-ci est incolore, on peut ajouter un réactif spécifique du composé à doser qui colore la solution. La gamme de solutions étalons de concentrations connues prend alors l'aspect d'une échelle de teinte. Plus la concentration est importante, plus la couleur de la solution est intense.

2.2 Dilution et réalisation d'une gamme d'étalonnage

La gamme étalon est réalisée à partir d'une solution appelée solution mère (S_m) de concentration parfaitement connue et nommée Concentration mère (C_m concentration molaire ou massique). 2 méthodes peuvent être utilisées pour réaliser une gamme : des dilutions indépendantes ou dilutions en série.

Rappelons que la dilution consiste à obtenir une solution de concentration inférieure à celle de départ par ajout d'un diluant (eau, tampon).

Les solutions obtenues après dilution de la solution mère sont nommées, solutions filles et leur concentration est nommée Concentration fille (C_f concentration molaire ou massique).

Sachant que la Concentration C (g/L ou mol/L) d'une solution est calculée ainsi :

$$C = m / V$$

m est la masse de la solution (en grammes), et V le volume (en Litre).

$$\text{Ou} : C = n / V$$

n est le nombre de mol de la solution, et V le volume (en Litre).

On peut donc écrire : $n_{\text{mère}} = n_{\text{fille}}$ OU encore $m_{\text{mère}} = m_{\text{fille}}$

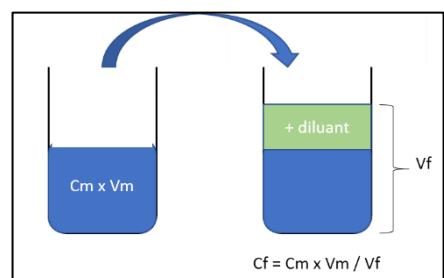
Et : $C_m \times V_m = C_f \times V_f$

La dilution d se calcule donc ainsi : $d = C_f / C_m$

$$\text{ou } d = V_m / V_f$$

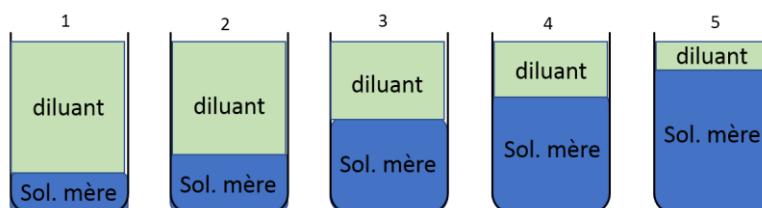
V_m est le volume de solution mère prélevée pour préparer la solution fille.

V_f est le volume de la solution fille (ou solution finale) obtenu après dilution.



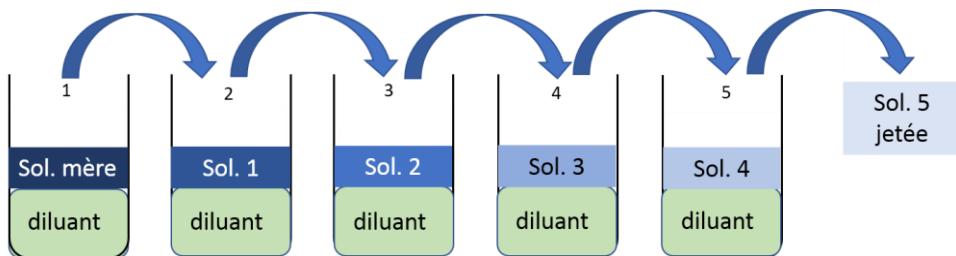
On obtient le rapport : $C_f / C_m = V_m / V_f$

Une gamme étalon peut être soit, conçue avec des solutions filles réalisées de manière indépendante : le manipulateur ajoute dans chaque tube un volume précis de solution mère et un volume précis de diluant pour obtenir des solutions de concentrations décroissantes.



Soit, une gamme étalon peut être conçue avec des solutions filles obtenues après des dilutions en série : le manipulateur prélève de la solution fille précédemment préparée pour

réaliser la suivante et ainsi de suite. En premier lieu, il place un volume de diluant fixe dans chaque tube de la gamme puis procède aux dilutions en série :



3. Préparation du TP

3.1 Matériel requis

Ce kit est prévu pour 24 élèves.

3.1.1 Composition du kit

- ⇒ 300 µl de colorant fluorescent => Conservation à l'abri de la lumière
- ⇒ 350 ml de diluant
- ⇒ 300 Tubes de 1.5 ml

3.1.2 Matériel complémentaire

- ⇒ Visionneuse moléculaire Winston ref 707930
- ⇒ Micropipettes P1000, P100, P20
- ⇒ Portoir de tubes ref 701936
- ⇒ Cônes
- ⇒ Bécher poubelle

Ce TP est réalisable en 1 heure.

3.2 Préparation des solutions

3.2.1 Préparation de la solution étalon mère

Se référer au document fournit avec le kit.

3.2.2 Préparation de l'échantillon à doser

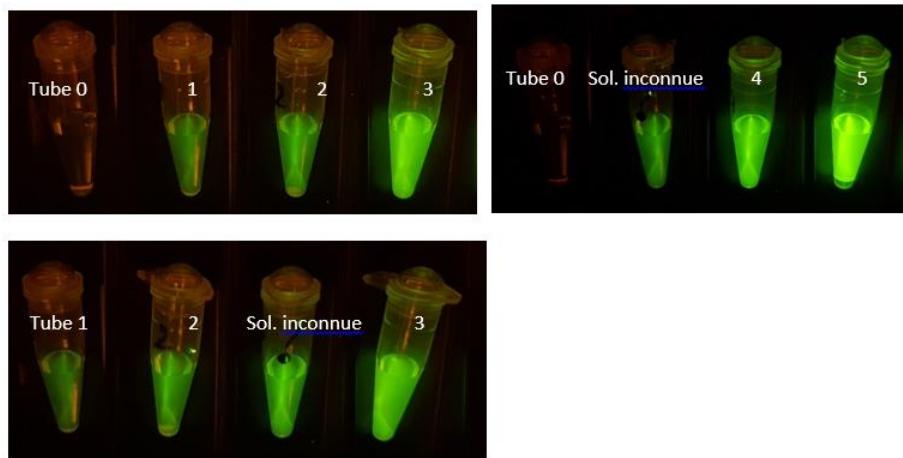
Se référer au document fournit avec le kit.

3.3 Mode opératoire : réalisation de gammes étalons et dosage de l'échantillon

Se référer au document fournit avec le kit.

4. Résultats

4.1 Exemple de résultats obtenus avec la visionneuse Winston



Résultats réalisés pour la gamme étalon n°1. Ici, la solution inconnue a une concentration comprise entre 1.1 et 3.3 μM .

Assistance technique en direct

Une équipe d'experts
à votre disposition
du lundi au vendredi
de 8h30 à 17h30

- Vous recherchez une information technique ?
- Vous souhaitez un conseil d'utilisation ?
- Vous avez besoin d'un diagnostic urgent ?

Nous prenons en charge
immédiatement votre appel
pour vous apporter une réponse
adaptée à votre domaine
d'expérimentation :
Sciences de la Vie et de la Terre,
Physique, Chimie, Technologie.

Service gratuit*

0 825 563 563 choix n°3**

* Hors coût d'appel. 0,15 € TTC/min à partir d'un poste fixe.

** Numéro valable uniquement pour la France métropolitaine et la Corse. Pour les DOM-TOM et les EFE, composez le +33 2 32 29 40 50.

Aide en ligne
FAQ.jeulin.fr



468, rue Jacques-Monod, CS 21900, 27019 Evreux cedex, France
Métropole • Tél : 02 32 29 40 00 - Fax : 02 32 29 43 99 - www.jeulin.fr - support@jeulin.fr
International • Tél : +33 2 32 29 40 23 - Fax : +33 2 32 29 43 24 - www.jeulin.com - export@jeulin.fr
SAS au capital de 1 000 000 € - TVA intracommunautaire FR47 344 652 490 - Siren 344 652 490 RCS Evreux

Direct connection for technical support



A team of experts
at your disposal
from Monday to Friday
(opening hours)

- You're looking for technical information ?
- You wish advice for use ?
- You need an urgent diagnosis ?

We take in charge your request
immediately to provide you
with the right answers regarding
your activity field : Biology, Physics,
Chemistry, Technology.

Free service*

+33 2 32 29 40 50**

* Call cost not included.

** Only for call from foreign countries.