

# Génétique

## Kits

Réf :  
**104 066**

***Kit Fusion des protoplastes***

Français – p 1

Version : 2210

La fusion des protocoles est réalisée après une étape d'extraction de protoplaste de feuilles de poireau. Il faut vous référer au protocole de la référence 115056 Kit Obtention des protoplastes.

## 1. Composition

- 1 tube de glucose (2 g)
- 1 tube de nitrate de calcium (1,5 g)
- 1 pot de Poly Ethylène Glycol (PEG) (40 g)

Le kit présente les réactifs en format pré-dosés et permet de réaliser 100 ml de solution enzymatique pour environ 20 binômes.

## 2. Précautions d'utilisation et de stockage

Le kit se conserve 12 mois après réception à température ambiante, au sec.

## 3. Matériel complémentaire à prévoir

Matériel complémentaire	Cochez
Fiole 100 ml	
Eau distillée stérile	
Pipettes x 60	
Verres de montre x 20	
Lames x 20	
Lamelles x 20	
Microscopes	

## 4. Introduction

Les protoplastes sont des cellules végétales dont la paroi a été éliminée par l'action d'enzymes cellulase et pectinase. Pour obtenir et conserver ces protoplastes, il faut les préparer et les mettre dans un milieu hypertonique qui leur permet de ne pas éclater. Ces cellules se prêtent à divers types d'expérimentation comme l'introduction de matériel génétique étranger, la fusion interspécifique...

Les feuilles de poireau ont été choisies pour leur grande résistance à la déshydratation et la couleur verte des protoplastes (ici des chloroplastes) très visibles pour une observation au microscope.

## 5. Protocole expérimental

### 5.1 Préparation de la solution de fusion

- \* Dans une fiole jaugée de 100 ml stérilisée (à l'autoclave) ajoutez :
  - 40 g de PEG
  - 2 g de glucose
  - 1,5 g de nitrate de calcium

\* Complétez à 100ml avec l'eau distillée stérile.

*Remarque : Pour stériliser de l'eau distillée, vous pouvez mettre 100 ml d'eau dans un flacon, faire bouillir l'eau 2 min au micro-onde (4 x 30 sec), refermer rapidement le bouchon et laisser refroidir.*

### 5.2 Fusion des protoplastes

- \* Dans un verre de montre
  - Déposez 1 gouttes de suspension de protoplastes de poireau à l'aide d'une pipette
  - Déposez 1 gouttes de solution de fusion
  - Mélangez délicatement avec la pipette les deux solutions

\* Prélevez 1 goutte du mélange et déposez-le sur une lame et recouvrir d'une lamelle délicatement pour éviter d'abîmer les protoplastes.

\* Observer immédiatement au microscope

### 5.3 Observation de fusions

Observez au grossissement X400.

Lorsque vous observez un accolement particulièrement intéressant, restez sur cette observation en attendant la fusion complète des cytoplasmes.

## 6. Service après-vente

Pour tous réglages, contacter le **Support Technique** au **09 69 32 02 10 (prix d'un appel local, non surtaxé)**.

Le matériel doit être retourné dans nos ateliers et pour toutes les réparations ou pièces détachées, veuillez contacter :

**JEULIN – S.A.V.**  
468 rue Jacques Monod  
CS 21900  
27019 EVREUX CEDEX France

**09 69 32 02 10\***

*\* prix d'un appel local, non surtaxé*