

Plateforme de Génomique Environnementale

LA CHARTE DE FONCTIONNEMENT (Version longue)

La Plateforme Mutualisée de Génomique Environnementale de l'IRBI a pour objectif de rationaliser les outils et les moyens dont nous disposons à l'Institut pour toute expérimentation ayant trait, de près ou de loin, à la « Biologie Moléculaire » (dissection, bactériologie, injections, extraction d'acides nucléiques et de protéines, électrophorèses, dosages, PCR point final, séquençage...). Elle est organisée en zones de stockage, en plateaux avec paillasse individuelles et en plateaux communs. **Son fonctionnement quotidien se veut communautaire et nécessite l'implication de tous ses Utilisateurs.** La Plateforme est ouverte à tous les personnels de l'IRBI, aux étudiants en formation et aux personnels invités, pouvant en faire la **demande préalable après signature de la présente charte**, fourniture de la fiche projet et sous réserve du **respect des consignes de fonctionnement** énoncés dans celle-ci.

L'accès à la Plateforme est soumis à information préalable du Responsable et des Coordinateurs et à la formation des Utilisateurs. La signature de la charte et la fourniture de la fiche projet sont des prérequis à son utilisation.

GOUVERNANCE ET ACCESSIBILITÉ

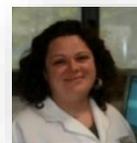
La Plateforme Mutualisée de Génomique Environnementale est placée sous la responsabilité d'un Comité Scientifique qui se réunit au moins deux fois l'an. Il est composé principalement des Responsables de Plateformes et des membres du Comité de Direction, auxquels s'ajoutent 3 membres permanents et auxquels peuvent s'ajouter quelques membres invités pour leur expertise scientifique selon la thématique abordée. Le Comité Scientifique assure une vision stratégique et dispose d'un pouvoir de surveillance et de décision: cohérence avec les objectifs, définition des moyens humains, matériels et financiers, stratégie d'investissements, suivi des réalisations et des échéances associées, révision de la charte, prospectives...

L'animation de la Plateforme et la mise en œuvre opérationnelle est sous la responsabilité du Responsable de Plateforme, aidé des Coordinateurs. L'ensemble forme le Comité de Pilotage de la Plateforme (voir ci-dessous).

✓ Comité de Pilotage

Les principaux acteurs de la Plateforme Mutualisée de Génomique Environnementale sont :

Annie Bézier	Ingénieur de Recherche	Responsable	S040	67383
Simon Dupont	Ingénieur d'Etudes CNRS	Coordinateur	I1400	67444
Karine Musset	Technicienne CNRS	Coordinatrice	0030	67357



✓ Contacts

Un mail unique bio.mol.irbi@univ-tours.fr permet de nous contacter :

- pour prévenir de la mise en place de nouveaux projets et de l'arrivée de nouveaux Utilisateurs (stagiaires compris)
- pour toute question concernant le fonctionnement de la Plateforme, tout conseil/soutien scientifique ou technique ainsi que pour signaler toute anomalie.

✉ Plateforme Mutualisée de Génomique Environnementale, Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, UMR 7261 CNRS / Université de Tours, Faculté des Sciences et Techniques, Avenue Monge, Parc Gandmont, 37200 Tours.

✓ Accessibilité

La Plateforme est accessible aux horaires d'ouverture de l'Unité, soit du lundi au vendredi de 7h30 à 19h (hors congés et jours fériés). Si vous avez besoin d'y accéder en dehors de ces plages horaires, merci de prévenir un des Gestionnaires de la Plateforme et de vous référer au règlement intérieur de l'Unité que vous pouvez trouver sur l'intranet de l'IRBI.

La Plateforme Mutualisée de Génomique Environnementale n'offre pas de prestation de service : il n'y a pas de personnel dédié pour réaliser des expériences. Si un tel besoin se fait sentir, il faut prioritairement se tourner vers les personnes compétentes de votre équipe, engager une collaboration ou prévoir un recrutement spécifique. Toutefois pour des projets de développement (protocoles ou techniques spécifiques) le Responsable de la Plateforme est à l'écoute de vos besoins.

✓ Budget

Chaque année une enveloppe budgétaire sera allouée par l'IRBI à la Plateforme afin de participer à son fonctionnement. Ce budget est pris sur les crédits généraux de l'Unité ou sur des projets spécifiquement dédiés, un droit d'entrée ou une participation ponctuelle pourra aussi être demandée aux porteurs de projets. Une participation supplémentaire pourra être demandée aux Utilisateurs en fonction de l'ampleur des projets soumis et des appareils utilisés, notamment pour ce qui concerne le robot extracteur. Ce point devra être discuté en amont de chaque projet sur la base des informations fournies dans la fiche projet et pourra être révisé en fonction de l'évolution pratique de celui-ci.

✓ Utilisateurs

Que ce soit dans le cadre du dépôt d'un projet nécessitant l'utilisation des ressources de la Plateforme (plateaux communs, consommables pris en charge par la Plateforme, appareils mis à disposition...) ou de l'arrivée d'un nouvel Utilisateur (stagiaires compris), il est **IMPÉRATIF** de prendre contact **SUFFISAMMENT EN AMONT** avec les Gestionnaires de la Plateforme afin que les besoins (moyens techniques, paillasse, stockage, consommables...) et la faisabilité soient évalués. La fiche projet doit nécessairement être renseignée afin d'aider à cette évaluation.

Tout Utilisateur s'engage à :

- signer la charte et fournir la fiche projet ci-jointe avant de pouvoir utiliser les facilités de la plateforme,
- suivre les consignes d'hygiène et de sécurité, notamment port des Equipements de Protection Individuels (EPI) requis selon les postes de travail, et les consignes de tri des déchets,
- participer au bon fonctionnement de la Plateforme et au nettoyage de celle-ci,
- utiliser l'outil de réservation en ligne disponible sur Teams (**requiert une autorisation d'accès**),
- respecter les modes opératoires et les consignes de nettoyage spécifiques à chaque appareil,
- laisser les appareils et les espaces utilisés propres et rangés après usage,
- se conformer aux règles de publication de l'Unité,
- avertir les Gestionnaires de la Plateforme en cas de problème technique,
- ne pas sortir les ressources (i.e. équipements) de la Plateforme sans autorisation des Gestionnaires.

Par principe chacun des Utilisateurs est sensé avoir été formé en amont aux bonnes pratiques de laboratoire par son encadrant et/ou les Assistants de Prévention (Karine Musset ou Fabrice Vannier).

Tout manquement aux règles de fonctionnement ou de sécurité pourra faire l'objet d'un rappel aux bonnes pratiques. Si la situation perdure une exclusion temporaire voire même définitive de la Plateforme pourra être décidée par le Responsable de la Plateforme en accord avec la Direction.

INFORMATIONS GÉNÉRALES

✓ Items pris en charge par la Plateforme

Un certain nombre de consommables « classiques » (voir liste ci-dessous) sont pris en charge par le budget de la Plateforme dès lors qu'ils sont destinés à être utilisés sur les espaces communs ou individuels (voir paragraphe sur l'organisation de la Plateforme). La gestion de ces stocks et les commandes sont de la responsabilité des Gestionnaires de la Plateforme.

<i>Consommables « généraux »</i>	<i>Consommables « électrophorèse »</i>	<i>Autres</i>
<i>Gants nitriles S-M-L-XL</i>	<i>Agarose</i>	<i>Ethanol</i>
<i>Cônes avec et sans filtre (10-20-200-1000 µl)</i>	<i>Marqueurs de taille</i>	<i>Kits de dosage Qubit/cuves spectro</i>
<i> Tubes (1,5 – 2 – 15 – 50 ml)</i>	<i>Bleus de charge</i>	<i>DNA AWAY</i>
<i>Consommables PCR (tubes, barrettes, plaques, films)</i>	<i>Gel Red</i>	<i>RNase AWAY</i>
<i>Papier type Wypall</i>	<i>Tampons de migration</i>	<i>Anios Spray</i>
<i>Pipettes plastiques (5 – 10 – 25 ml)</i>	<i>Lames de scalpel</i>	
<i>Boîtes de Pétri Ø 100 mm</i>	<i>Acrylamide & Ammonium Persulfate (APS)</i>	
	<i>TEMED & Tris & Glycine</i>	

Les consommables spécifiques, notamment ceux utilisés sur le robot extracteur (cônes à filtre 300 et 1000 µl, deepweel, plaque d'éluion...), doivent être achetés sur les projets ou sur les budgets des équipes. Les kits et réactifs, ainsi que les autres consommables spécifiques, ne sont pas non plus pris en charge par la Plateforme. Leur commande et gestion reviennent à chaque gestionnaire de projet et aux demandeurs d'achat des différentes équipes.

La maintenance et les réparations des appareils présents sur la Plateforme sont prises en charge par le budget de l'IRBI (une aide financière ponctuelle peut être demandé aux porteurs de projets). La négociation pour l'achat de gros appareils doit être pilotée en coordination avec le Responsable de la Plateforme. Il est aussi impératif lors de cette négociation de budgétiser un contrat de maintenance le plus large possible et de prendre en compte les coûts annexes associés (fluides ou consommables dédiés, par exemple). Les équipements et appareils achetés sur projet restent prioritairement alloués au projet pour la totalité de sa durée, puis ils sont mis à la disposition de la communauté. La gestion du planning de ce type de matériel suit les règles communes de l'ensemble de la Plateforme dès sa mise en fonction.

✓ Réservation des outils et des salles (sous Teams)

Certains appareils (voir pages 6 & 7) et salles/postes (PCR, ARN, sorbonnes, PSM...) sont accessibles sous condition de réservation. Un outil en ligne est à votre disposition sous Teams, le plein accès requiert une adresse univ-tours.fr, n'oubliez pas de l'utiliser. Pour cela vous devez au préalable faire une demande pour être ajouté comme membre à l'équipe « Plateforme Biomol Utilisateurs » (sous réserve d'avoir renseigné la fiche projet et signé la chartre). En page d'accueil vous trouverez quelques consignes. Pour le suivi et pour vos collègues qui ont peut-être besoin des mêmes outils, n'oubliez pas de supprimer vos réservations si finalement vous ne faites pas vos manipes.

✓ Règles de publication

Pour rappel, le guide du comité d'éthique du CNRS («Promouvoir une recherche intègre et responsable - juillet 2014») précise les règles en matière de signatures des publications, vous pouvez le trouver à l'adresse suivante : http://www.cnrs.fr/comets/IMG/pdf/guide_promouvoir_une_recherche_inte_gre_et_responsable_8septembre2014.pdf.

En pratique, l'IRBI a globalement une politique inclusive dès lors que la contribution du personnel est significative dans l'étude réalisée. Néanmoins, les seules activités relevant de l'animation et de la gestion générale de la Plateforme ne permettent pas de cosigner les publications qui en seraient issues. En revanche, toute implication technique et/ou intellectuelle d'un des Gestionnaires de la Plateforme au-delà de ce périmètre doit être discutée en amont en concertation avec la personne impliquée et l'animateur d'équipe concerné. Ceci permettra également de discuter de la place en tant qu'auteurs dans les publications qui pourraient en découler. Dans tous les cas, ces discussions devront être menées en amont de la mise en place du projet sur la base de la fiche fournie, ou dès que le projet est amené à évoluer (besoins d'analyses, optimisation de techniques, etc...).

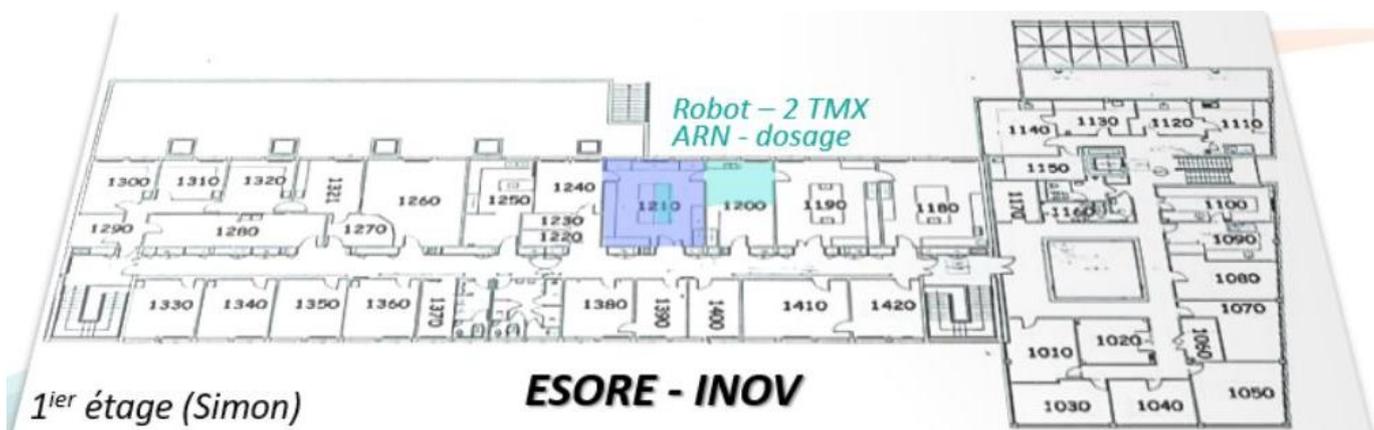
En tout état de cause, n'oubliez pas de remercier la Plateforme Mutualisée de Génomique Environnementale pour ses facilités.

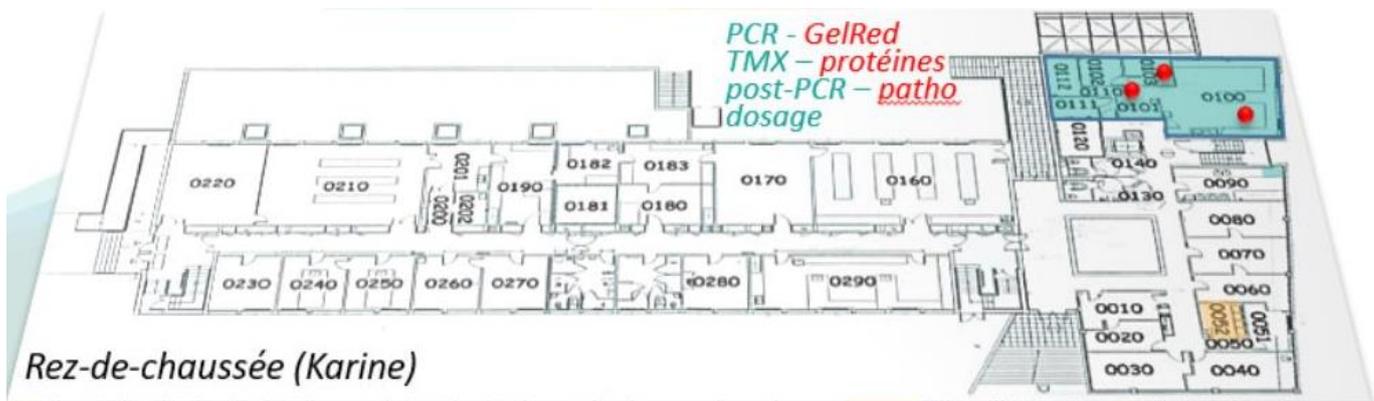
✓ Affichages

Par principe se référer aux affichages qui ont été installés dans les différentes zones de travail. Ils vous donneront les consignes de fonctionnement de la Plateforme et d'utilisation des appareils, ils vous indiqueront quels sont les espaces de stockage communs et ceux dédiés à l'une ou l'autre équipe. Ils vous préciseront aussi comment traiter vos déchets.

✓ Organisation spatiale, Stocks et Rangements

La Plateforme est organisée en zones de stockage, en plateaux avec paillasse individuelles et en plateaux communs :





Un référent (Gestionnaires, voir plan) et une personne ressource (personnel non permanent) ont la responsabilité plus spécifique de chacun de ces espaces, cependant **leur gestion au quotidien se veut largement collaborative**. Certaines zones peuvent être sous accès contrôlé ou avec des précautions particulières à prendre (●). Merci de vous référer au paragraphe de « Consignes spécifiques » pour en savoir plus.

➤ [Les espaces de stockage](#)

Deux principaux espaces de stockage « consommables généraux » ont été mis en place renfermant les stocks communs à la Plateforme mais aussi des produits et consommables plus spécifiques au fonctionnement de chacune des équipes:

- la salle IS530 en « zone élévation » = niveau -1 (~commun)
- la salle I0052 au RDC = niveau 0 (~spécifique)

Leur accès est réservé aux Gestionnaires de la Plateforme et personnes ressources (stocks communs), aux porteurs de projets ainsi qu'aux demandeurs d'achat (stocks spécifiques).

Des espaces de « stockage tampon » permettent d'avoir à disposition dans chaque salle un échantillon de consommables (gants, cônes, tubes...) afin de ne pas aller systématiquement piocher dans les « stocks généraux ». Merci de venir vers nous quand ces stocks diminuent afin qu'ils puissent être réapprovisionnés ou que des commandes puissent être programmées. De façon générale, merci de signaler le plus rapidement possible aux Gestionnaires (stocks communs) ou aux demandeurs d'achat (stocks spécifiques, kits...) si vous constatez qu'un produit risque de venir à manquer.

Des placards et/ou étagères sont à votre disposition dans les espaces labo communs. Ils sont marqués au nom de votre équipe, merci d'y ranger vos matériels/consommables/kits afin de laisser les paillasse propres et disponibles pour le prochain Utilisateur.

Les produits, non dangereux, peuvent être stockés dans les placards/réfrigérateurs/congélateurs des zones de travail. Les produits dangereux, quant à eux, sont stockés dans des zones réservées. Les stocks de produits dangereux liquides (acides, bases, solvants et CMR) sont stockés dans les soutes externes situées à proximité des serres (clés et liste des personnes habilitées à y accéder disponibles au secrétariat). Cependant, dans le cadre d'une utilisation régulière, une petite quantité de produit peut être stockée sous les sorbonnes des pièces S030, I1200 et I1210. Les produits dangereux nécessitant un stockage à 4°C ou -20°C doivent être identifiés le plus clairement possible. Les produits CMR en poudre sont stockés dans une armoire dédiée installée dans la laverie du rez-de-chaussée (salle 0090). Les autres produits dangereux en poudre sont stockés dans une pièce accessible par l'extérieur de l'IRBI (sortie sous-sol Est, à gauche, au pied de l'escalier, accessible avec toutes les clés du labo).

➤ Les plateaux communs

Plusieurs espaces communs de manipulation ont été mis en place afin de rationaliser l'utilisation des appareils et de limiter les risques de contamination :

- un espace « broyage, lyse et automate d'extraction » avec le Tissue lyser (salle I1200), un ThermoMixer (TMX-C) et le robot extracteur epMotion 5075 (salle I1210)
- un espace « extraction ARN » avec 2 postes (salle I1200, plus la sorbonne en I1210 pour les extraction trizol), avec un appareil PCR et un TMX-C
- deux salles PCR équipées de hottes UV pour la manipulation et de deux appareils PCR chacune (salles 0111 et 0112)
- un espace « électrophorèse » avec plusieurs postes (salle 0100)
- un espace « post-PCR » avec 2 postes (salle 0100)
- un espace « protéines » (salle 0101)
- deux espaces « dissection/observation » comprenant plusieurs postes (salles I1200 et 0102)
- un espace « micro-injection » (salle I1200)
- un espace « bactériologie » (salle S031 > PSM disponible en salle 0103 pour le moment)
- des espaces « dosages » répartis sur les différents plateaux (Qubits en S030 et 0100, spectro BioMate en S031, spectro Varian en 0100 et spectro Genova Nano en I1210)
- deux labos spécifiques pathogènes (salle S020 pour les baculovirus et salle 0103 pour d'autres pathogènes)

Les règles plus spécifiques d'utilisation de ces espaces seront évoquées plus loin. Merci de **ne pas déplacer le matériel mis à disposition** dans ces « espaces communs » à moins d'y avoir été autorisé par un des Gestionnaires.

Des espaces de rangements à 4°C, notamment avec bacs (réfrigérateurs et/ou chambre froide), ainsi que des zones de stockage en congélateurs -20°C sont prévus soit par Utilisateur soit par équipe dans chacun de ces espaces. Un stockage à -80°C existe aussi au sous-sol (niveau 0, salle IS460). Par contre notre **CAPACITÉ DE STOCKAGE** étant **LIMITÉE**, en cas de gros besoins inhérents à un projet particulier, il est **IMPERATIF** d'en **DISCUTER AU PREALABLE** avec les Gestionnaires de la Plateforme afin d'évaluer les possibilités de stockage dans l'existant ou d'installation de nouveaux équipements achetés sur projets. Toujours dans ce même état d'esprit, les Gestionnaires de la Plateforme se réservent le droit de procéder à l'élimination de tout échantillon non correctement identifié ou pouvant paraître définitivement abandonné par son propriétaire.



➤ Les paillasses individuelles

Deux zones « individuelles » de manipulation existent au premier étage (salle I1210) et au RDJ (salle S030). En principe, un espace paillasse individuel est alloué aux permanents faisant de la biologie moléculaire. Chaque poste est équipé d'un espace de rangement (meuble ou étagères pour les petits stocks et kits spécifiques), d'un jeu de pipettes et de portoirs. Un vortex ainsi qu'une mini ou micro-centrifugeuse sont en général à partager entre deux postes. CHACUN est RESPONSABLE du matériel mis à sa disposition. **Merci de ne pas squatter une paillasse ou emprunter du matériel sur une autre paillasse que la vôtre sans avoir obtenu l'accord de son Utilisateur habituel.** En principe, étudiants de Master, thésards ou post-doc manipulent sur la paillasse de leur Encadrant/Responsable. Quelques paillasses « tampon » existent (non allouées), merci de vous rapprocher d'un des référents de la Plateforme en cas de besoin.

✓ Équipements disponibles

Différents équipements communs sont disponibles dans chaque zone dont certains doivent être réservés en amont (*), merci de vous inscrire pour vos créneaux d'utilisation sur l'outil de réservation en ligne sous Teams (voir page 3). Tous ne sont cependant pas visibles, merci de vous rapprocher d'un des Gestionnaires de la Plateforme si vous avez un besoin particulier.

	Type	Utilisation	Salle
Appareils PCR	BioRad T100*	Gradient 1-96 échantillons	0112
	Eppendorf Mastercycler Nexus GX2*	Appareil bloc indépendants 32 & 64 échantillons (gradient uniquement sur 64)	0112
	Eppendorf Mastercycler X50a*	Gradient 1-96 échantillons	0111
	Esco Swift maxi*	Gradient avec 1 bloc 1-96 échantillons ou 2 blocs indépendants 1-48 échantillons	0111
	BioRad MyCycler*	Gradient 1-96 échantillons	11200



	Type	Utilisation	Salle
Centrifugeuses	Eppendorf 5424 réfrigérée	Rotor fixe pour tubes 1,5 ml-2 ml (24 positions, adaptateurs possibles, vmax 21130g)	11210
	Eppendorf 5424 non réfrigérée	Rotor fixe pour tubes 1,5 ml-2 ml (24 positions, adaptateurs possibles, vmax 20238g)	S030
	Sigma 4K15 réfrigérée*	Rotor angulaire ou swing out pour tubes de 1,5 ml jusqu'à flacon 250 ml (vmax selon rotor)	0102
	Sigma 1-15K réfrigérée*	Rotor fixe pour tubes 1,5 ml-2 ml (24 positions, adaptateurs possibles, vmax 21920g)	S030
	Sigma 2-16K réfrigérée	Rotor fixe pour tubes 1,5 ml-2 ml (24 positions, adaptateurs possibles, vmax 21460g)	11210
	Hettich Universal 32R réfrigérée	Rotor angulaire ou plaque pour tubes de 1,5 à 50 ml (vmax selon rotor)	0100
	Hereaus Labofuge 400R	Rotor angulaire ou plaque pour tubes de 1,5 à 50 ml (vmax selon rotor)	11210



	Type	Utilisation	Salle
Dosages	Qubit (1) et Qubit flex (8)*	Dosage ARN, ADN et protéines (fluorophore)	S030-0100
	Spectrophotomètre Varian	Dosage ARN, ADN et protéines... (UV)	0100
	Spectrophotomètre Genova Nano	Dosage ARN, ADN et protéines (UV)	11210
	Spectrophotomètre Biomate	Dosage ARN, ADN et protéines... (UV)	S031



	Type	Utilisation	Salle
Préparation d'échantillons	<i>TissueLyser II Qiagen*</i>	<i>Broyage par billes (max 2x24 tubes 2 ml, 2x96 tubes collecteurs spécifiques 1,2 ml et récipient acier 2x10 ml ; billes 3 mm tungstène, 5-7-20 mm acier inoxydable, selon adaptateurs)</i>	11200
	<i>epMotion 5075 vt*</i>	<i>Robot extracteur pour acides nucléiques (2 modalités : vacuum et billes magnétiques, 8 à 96 échantillons par run)</i>	11210



TissueLyser



Robot extracteur epMotion 5075

	Type	Utilisation	Salle
Agitation	<i>Agitateur rotatif PTR-35</i>	<i>Tubes 0,2 à 50 ml, programmable</i>	0100
	<i>Agitateur rotatif Labinco LD-79</i>	<i>Tubes 1,5 et 2 ml, 15 ml et 50 ml selon la roue utilisée, programmable</i>	0100
	<i>ThermoMixer C Eppendorf (TMX)*</i>	<i>Incubation et agitation, consommables selon accessoires (plaques 96-384, deepwell, tubes 1,5-5-15-50ml), programmable</i>	11210+1200-S030-0100
	<i>Agitateur plateau Heidolph</i>	<i>Plateau antidérapant, non programmable</i>	0101
	<i>Agitateur orbital IKA OS5 Bacis</i>	<i>Plateau, minuterie 5-50 min, V= 80-800 t/min</i>	11210
	<i>Agitateur 3D Stuart</i>	<i>Plateau, non programmable</i>	11210



Agitateurs rotatifs



ThermoMixer-C



Plateaux agitant



	Type	Utilisation	Salle
Autres	<i>2 GelDoc</i>	<i>Système d'acquisition d'image (acides nucléiques, protéines, comptage de colonies)</i>	0100
	<i>E-gel Invitrogen</i>	<i>Système d'électrophorèse tout-en-un</i>	0100
	<i>Speed-vac AES1010</i>	<i>Evaporation de solvants et solutions</i>	0101
	<i>pH mètre</i>	<i>Mesure du pH des solutions</i>	0100
	<i>Trans-Blot Turbo BioRad</i>	<i>Transfert de gel protéine sur membrane</i>	0101
	<i>Ice Flaker</i>	<i>Machine à glace</i>	0090
	<i>Purelab Flex</i>	<i>Production d'eau ultra-pure</i>	0090
	<i>SterilElite24</i>	<i>Autoclave de paillasse</i>	0090



GelDoc



SpeedVac



pH mètre



Trans-Blot



Ice Flaker



Purelab Flex

Sur la **Plateforme Scientifique et Technique** (PST, salles 0240 et 0250) vous pouvez aussi accéder à un appareil de PCR point final (Eppendorf MasterPro), de PCR quantitative (QS6-flex), deux hottes de préparation équipées, une centrifugeuse réfrigérée à plaque (Eppendorf 5910R, autres rotors disponibles), un phosphoimager (Storm 840) et un robot pipeteur (epMotion 5070). Merci de vous rapprocher de la personne référente si vous souhaitez les utiliser.

Phosphorimager
Storm 840 (GE Healthcare)2 Hottes PCR (UV Grant)
équipéesRobot pipeteur
epMotion 5070 (Eppendorf)Master Pro (Eppendorf)
(PCR gradient)QuantStudio 6 Flex Real-Time
PCR System + HRM (Life
Technologies) (96 et 384 puits)

✓ Équipements de Protection Collectifs et Individuels

La Plateforme et le laboratoire mettent à votre disposition différents équipements de protection collectifs et individuels. Des sorbonnes (hottes aspirantes pour les produits chimiques volatils et dangereux) et un PSM sont disponibles au niveau des plateaux avec paillasse individuelles (salles S030 et I1210) et au niveau des plateaux communs (salles I1200, 0100 et 0103). D'autres sorbonnes sont disponibles dans l'Institut en cas de besoin ou de panne, merci de vous rapprocher des Assistants de Prévention pour en connaître la localisation exacte. La sorbonne située en salle 0100 est réservée à la « zone GelRed », n'hésitez pas à utiliser les trois autres dès que la manipulation d'un produit le requiert (cf fiche produit et indications de vos Assistants de Prévention).

La Plateforme met également à votre disposition des EPI tels que des blouses (armoire en salle IS390 au sous-sol), des gants et des lunettes de protection. Pour la zone d'électrophorèse « GelRed » vous disposez en plus de visières de protection contre les UV. En cas de nécessité, vous pouvez vous procurer auprès des Assistants de Prévention des masques à particules (FFP2/3). Le reste des EPI (charlottes, blouses ou combinaisons jetables...) sont à la charge des équipes.

✓ Élimination des « déchets »

Des affichages concernent les modalités de tri et de traitement des déchets qu'ils soient chimiques, biologiques ou ménagers au sein de l'Unité. Toutes les informations concernant le tri des déchets « labo » sont affichées sur le côté des sorbonnes et un certain nombre d'informations vous sont détaillées ci-dessous. Les contenants vides sont disponibles au garage (S080 RDJ) et vous trouverez ceux en cours d'utilisation dans les labos dédiés, notamment à proximité des sorbonnes. N'hésitez pas à vous rapprocher des Assistants de Prévention (Karine et Fabrice) en cas de doute, notamment pour les mélanges de solutions ou les CMR et pour savoir comment gérer les contenants pleins avant que ceux-ci ne débordent.

➤ Tri des déchets « labo »

▪ Les déchets biologiques

Tous les déchets solides d'origine biologiques (insectes, bactéries, virus, ...) doivent être inactivés de façon appropriée (froid, autoclavage, javel...) avant élimination dans les poubelles plastiques DASRI jaunes. Les déchets liquides doivent être gélifiés avec du MedGel (1 sachet pour 1L) avant de suivre le même processus que les déchets solides.



▪ Les déchets chimiques solides

Tous les déchets solides (gants, cônes, tubes, ...) doivent être jetés dans les fûts en carton. Ils ne doivent pas contenir de liquides ou en très petites quantités. Les déchets CMR (cancérogènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction) quant à eux doivent être jetés dans des seaux.

Les déchets piquants/coupants (aiguilles, lames de scalpels, ...) ne doivent pas être mis dans ces poubelles (risque de blessures). Il y a un seau spécifique pour les aiguilles dans le laboratoire 0100 au RDC et des contenants en plastique (généralement jaunes) pour les lames de scalpels. De même pour le verre (voir ci-dessous).

- Les déchets chimiques liquides

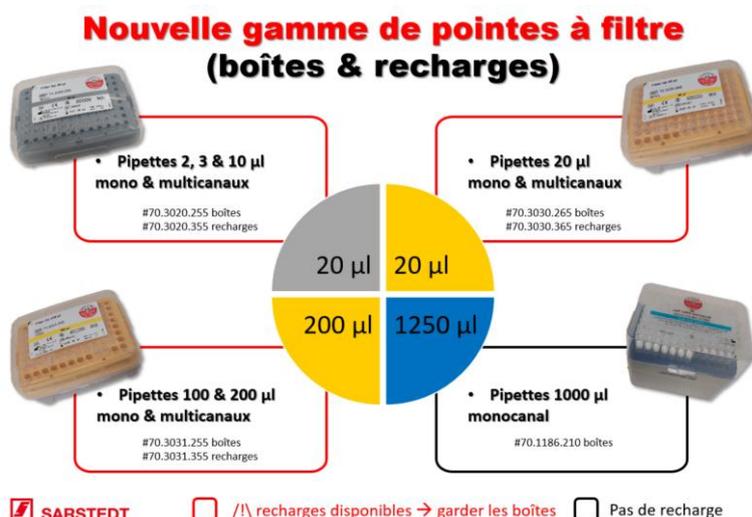
Les déchets liquides doivent être triés en fonction de ce qu'ils contiennent (pour les mélanges) : bidons jaunes pour les acides (organiques et minéraux à séparer), bidons vert pour les bases (organiques et minéraux à séparer), bidons oranges pour les solvants organiques halogénés, bidons rouges pour les solvants organiques non halogénés et bidons bleus pour les autres liquides et les CMR. Il faut noter sur les étiquettes ce que les bidons contiennent et séparer les CMR (un bidon par type de CMR). Les bidons sont stockés dans un bac de rétention en dessous de la sorbonne ou dans leurs zones d'utilisation pour les CMR. N'hésitez pas à vous rapprocher des Assistants de Prévention en cas de doute.

- Les contenants en verre

Le verre de laboratoire cassé/souillé (bouteilles de produits vides avec ou sans bouchons, verrerie cassée, ...) doit être stocké dans des bidons spécifiques avant d'être éliminé. De gros containers bleus sont ainsi situés au RDC en salle 0100 et au sous-sol au Plateau d'Écologie Chimique (salle IS240). S'il reste des traces de liquides dans les bouteilles, les faire évaporer sous la sorbonne avant de les jeter ou laisser le bouchon sur le flacon.

- Les boîtes de cônes

Une nouvelle gamme de cônes a été adoptée début 2023 de chez Sarstedt (voir ci-dessous). Nous disposons de boîtes et de recharges. Un jeu de boîtes a été distribué sur chaque paillasse, vous devez **les garder** afin de pouvoir les réutiliser avec les recharges disponibles. Les blisters de recharges sont suffisamment stables pour être aussi utilisés comme boîte temporaire.



Les boîtes de cônes vides de type « multiguard et clearline », ainsi que les blisters de recharges TipOne et Biosphère/Sarstedt, à conditions qu'ils ne soient pas souillés, sont **RECYCLES** et doivent être collectés dans des cartons pour renvoi auprès des sociétés Dutscher, Starlab et Sarstedt, respectivement. **A cette fin, merci de ne pas ne pas introduire de boîtes de cônes à filtre en zone GelRed ou de vous assurer de ne pas les contaminer en les posant sur une feuille de sopalin propre.**

➤ Tri des déchets « ménagers »

- Les déchets conventionnels « Poubelle noire »

Tous les emballages et le papier non souillés de produits chimiques ou biologiques doivent être jetés dans les poubelles plastiques contenant un sac poubelle noir (vidées par les femmes de ménage). Ne rien mettre de piquant ou de coupant dans ces poubelles (risque de blessures).

- Les déchets recyclables « Poubelle jaune »

Le papier, les emballages métalliques, cartonnés ou plastiques recyclables, et non souillés, doivent être jetés dans une poubelle tri adapté (une dans chaque laboratoire, poubelle jaune, poubelle carton Véolia ou grand carton identifié). Attention, les cartons d'emballages épais ne sont pas éliminés par la filière classique; des conteneurs spéciaux existent. Afin de faciliter leur évacuation Valérie et Zohra ont mis à disposition au sous-sol (face à la salle S310) deux chariots où vous pouvez déposer vos cartons à condition qu'ils soient pliés. Par ailleurs des bennes « papiers/cartons », voir même « palettes », sont présentes sur le campus, notamment derrière la soute chimique et à proximité de la bibliothèque, n'hésitez pas à aller y déposer directement ce type de déchets.

▪ Les Verres « Poubelle verte »

Les bouteilles en verre ayant contenu des boissons doivent être déposées dans les containers adéquats. Deux containers sont à votre disposition à proximité du campus, un à l'angle de la rue d'Arsonval et Gaspard Coriolis et l'autre à l'angle de la rue Victor Duruy et de l'avenue St Vincent de Paul (au bout du parking du personnel).

CONSIGNES SPÉCIFIQUES

Pour tous ces espaces des consignes spécifiques sont susceptibles de s'appliquer concernant l'utilisation et la réservation des appareils ainsi que la sécurité. La plupart des manuels sont accessibles sous Teams (dossier Manuels d'utilisation et tuto). En particulier, à l'occasion de la mise en place de la Plateforme, nous avons souhaité nous rapprocher du principe de la « marche en avant » en séparant les zones d'extraction des acides nucléiques et de préparation des PCR de celles de manipulation des produits de PCR afin de réduire les risques de contamination. Merci de vous y contraindre si vous utilisez les plateaux communs pour vos expériences afin de sécuriser aussi celles des autres Utilisateurs.



Sur ce principe les gants doivent absolument être changés lors du passage d'une zone à l'autre, et au moindre doute de souillure par de l'ADN, de même il est impératif de disposer de plusieurs blouses confinées sur chaque zone, à minima une pour la zone pré-amplification (salles PCR) et une pour la zone post-amplification, et dans l'idéal une pour la zone extraction. Toujours sur le même principe **ne déplacez pas de matériel/équipement d'une zone à l'autre**, sauf accord des Gestionnaires.

✓ Espace « Broyage, lyse et Automate d'extraction » (I1210)

L'utilisation des appareils situés sur cet espace **NÉCESSITE UNE FORMATION PRÉALABLE** (mode opératoire, programmation) par un **RÉFÉRENT HABILITÉ** et une attention toute particulière lors de leur manipulation.

➤ Le TissueLyser (Qiagen)

Le TissueLyser II permet un broyage des échantillons à l'aide de billes d'acier inoxydable ou de tungstène de diamètre variable. Vous trouverez différentes informations sur son utilisation à l'adresse suivante :

http://gtac.sfsu.edu/sites/default/files/1102664_UM_TissueLyserII_052016_WW.pdf

Selon les adaptateurs utilisés vous pourrez traiter de 2 à 192 échantillons en parallèle. Attention à bien équilibrer vos échantillons au sein des supports dédiés, à adapter les volumes de solution dans les contenants et à utiliser les consommables requis selon les adaptateurs pour limiter les risques de fuites de liquide :

-tubes 2 ml safe-lock (ref 0030 108.078 Eppendorf) pour l'adaptateur 2x24 (ref 69982) avec 1 bille Ø3 mm tungstène ou Ø5 ou 7 mm acier inoxydable par tube.

-tubes collecteurs (ref 19560 Qiagen) et couvercles (ref 19566 Qiagen) pour l'adaptateur 2x96 (ref 69984) avec 1 bille Ø3 mm tungstène ou Ø5 mm acier inoxydable par tube.

-jarres acier de broyage (ref 69985) avec 1 bille Ø20 mm acier inoxydable chacune.

Merci de vous référer aux documents joints :

<https://www.qiagen.com/us/resources/download.aspx?id=c7ae8d-361a-4df4-81e5-cfa4bab0165f&lang=en>

<https://www.qiagen.com/fr/resources/resourcedetail?id=92ef3a8c-6d95-4214-9aca-b88f43aa1c33&lang=en>

Par ailleurs des protocoles peuvent vous être fournis qui seront probablement à adapter à votre matériel biologique.

➤ *Le ThermoMixer-C (Eppendorf)*

Appareil permettant d'incuber et d'agiter des échantillons sous différents formats selon accessoires (! à utiliser uniquement des contenants plastiques fermés). Nous disposons de 4 TMX-C (capacité de lyse 4*24 tubes 1,5ml = 96 échantillons) avec chacun un adaptateur pour tubes 1,5 ml et plaques PCR 96. Merci de vous adresser à un des Gestionnaires pour les adaptateurs de plaques 384, deepwell, tubes 5 ml, 15 ml et 50 ml ou le smartextender.

Le manuel d'utilisation est disponible à la page suivante :

https://www.eppendorf.com/product-media/doc/fr/47748/Sample-Preparation_Operating-manual_ThermoMixer-C.pdf

➤ *L'epMotion 5075 vt (Eppendorf)*

L'epMotion 5075 vt permet l'automatisation complète des protocoles de purification d'acides nucléiques de 8 à 96 échantillons par filtration sous vide ou billes magnétiques, le tout étant piloté par un ordinateur tactile. Il peut aussi être utilisé pour toutes les applications nécessitant la manipulation de liquides.

L'appareil est équipé d'un capteur optique pour contrôler/reconnaitre les volumes de liquides dans les contenants, la quantité et le type de cônes et les accessoires (Labwares) présents sur la plateforme (Worktable). Il est doté de 12-15 positions comprenant entre autres une pince de transport (Gripper) pour déplacer les différents outils, accessoires et consommables, 4 outils de distribution de volume variable (T1-T4) : 300 (20-300 µl) ou 1000 (40-1000 µl) en version monocanale (TS) ou 8 canaux (TM), un ThermoMixer (TMX, module thermorégulé agitant), une poubelle liquide (B0), une poubelle pour les cônes (Waste), un second module thermorégulé (C2) et une station à vide intégrée (Vacuum). Les positions A2-C4 peuvent aussi accueillir différents accessoires tels que supports de réservoirs, plaques et tubes, adaptateur magnétique pour plaque 96 (Magnum FLX)... Il est **IMPÉRATIF** d'utiliser **UNIQUEMENT** les accessoires et consommables dédiés à l'epMotion 5075 vt.

Vous trouverez un pense-bête sous forme d'un fascicule mis à disposition à côté de l'appareil (voir classeur) pour vous rappeler les noms des accessoires et consommables, les bases pour le lancement des méthodes et les procédures d'entretien de l'appareil. En cas de **DOUTE** n'hésitez pas à vous tourner vers un des Gestionnaires afin de ne pas risquer de l'endommager. En cas de **PROBLEME** contacter Annie ou Simon de toute urgence.

Pour plus d'informations sur les caractéristiques techniques de l'appareil, merci de vous référer aux manuels ou au site d'Eppendorf :

https://www.eppendorf.com/product-media/doc/en/146224_Operating-Manual/Eppendorf_Automated-Liquid-Handling_Operating-manual_epMotion-5075-PC-epBlue-Version-20.pdf

<https://online-shop.eppendorf.fr/FR-fr/Automates-de-pipetage-44509/Automates-de-pipetage-44510/epMotion5075vt-PF-68895.html>

Ce système est compatible avec de nombreux kits fournisseurs pour la purification d'acides nucléiques à moyen et haut débit qui ne sont pas fournis par la Plateforme (cf page 3). Pour accéder notamment aux protocoles Macherey-Nagel dédiés Eppendorf: <https://www.mn-net.com/fr/eppendorf>

✓ Espace « Extraction ARN » (I1200)

L'espace ARN est composé de deux postes équipés d'un jeu de pipettes ainsi que d'une centrifugeuse Sigma 1-14 (rotor fixe jusqu'à 24 tubes, v_{max} 14800 rpm ou 16163 g) et d'un vortex, exclusivement réservés à l'extraction des ARN. A cela s'ajoutent un appareil PCR et un ThermoMixer. La sorbonne en salle I1210 doit être utilisée pour les extractions au trizol. S'agissant d'un espace partagé et sensible vu la fragilité des ARN, il est important que chacun s'astreigne à respecter les précautions d'utilisation qui sont énoncé ci-dessous.

Les ribonucléases (RNases) sont des enzymes très stables et très actives, qui ne nécessitent généralement pas de cofacteur pour fonctionner. Les RNases sont difficiles à inactiver, et même de petites quantités suffisent pour détruire l'ARN. Il faut donc prendre grand soin d'éviter d'introduire par inadvertance des RNases dans vos échantillons et sur la paillasse pendant ou après la procédure d'extraction. Les poussières et la peau portent des bactéries et moisissures qui sont les sources principales de contamination aux RNases, il convient donc d'utiliser des méthodes d'asepsie, comme en microbiologie, sur les paillasses ARN.

Pour créer et maintenir un environnement sans RNase pour vos échantillons, et ceux de la personne passant après vous, les précautions suivantes doivent être suivies lorsque vous travaillez avec l'ARN :

- Les surfaces de travail :
 - Nettoyer la surface de travail en deux étapes : Ethanol 70% pour enlever les poussières, puis RNase AWAY; AVANT et APRES votre passage.
 - Nettoyer toutes les pipettes avec du sopalin imbibé de RNase AWAY, AVANT et APRES votre passage.

- Porter toujours des gants lors de toutes manipulations de tubes, pipettes, appareillages, verrerie, surfaces. Changer régulièrement de gants.
- Les tubes :
 - L'utilisation de tubes en polypropylène stériles et jetables est recommandée pour le travail avec l'ARN. Ces tubes sont généralement sans RNase et ne nécessitent pas de prétraitement pour inactiver les RNases. Ne pas introduire les mains à l'intérieur des sachets, bien refermer ces sachets, et les manipuler toujours avec des gants.
 - Vos tubes devront être fermés aussi souvent que possible et restés toujours sur glace (demi-vie des ARN : quelques minutes à température ambiante).
- La verrerie :
 - La verrerie doit être traitée avant utilisation pour s'assurer qu'elle ne contient pas de RNase. Dans l'idéal, la verrerie utilisée pour le travail sur l'ARN doit être nettoyée avec un détergent (SDS 0,5%), bien rincée et passée au four à 240°C pendant au moins 4 heures avant utilisation. L'autoclavage à lui seul ne permet pas d'inactiver complètement les RNases.
 - L'utilisation de DEPC pour inactiver les RNases de votre verrerie ou de vos solutions n'est pas conseillée, ce produit est un cancérigène présumé. Contacter obligatoirement le Responsable de la Plateforme et les Assistants de Prévention si vous devez en utiliser, afin de s'assurer que toutes les précautions de sécurité sont remplies.
- La conservation des ARN :
 - Ne pas stocker les ARN au réfrigérateur, privilégier les congélateurs -20°C pour un stockage temporaire (quelques semaines) et le -80°C pour un stockage permanent.
- Produits chimiques particuliers aux kits ARN :

Veillez suivre très scrupuleusement les consignes de sécurité lors de la manipulation des produits suivants :

- Guanidium thyocyanate : Ne pas utiliser de javel sur la pailleuse car cela entraîne la production d'un composé volatil très dangereux en cas de contact.
- β -mercapto-éthanol, Trizol (ou Nucleozol, ...) : à manipuler exclusivement **SOUS SORBONNE**. Jeter les gants ayant servi à manipuler les flacons et tubes dans la poubelle sous la hotte (généralement dans un sac à refermer) et les y laisser pendant au moins une semaine avant de fermer le sac et de le jeter dans le fût en carton présent dans le labo (se référer au paragraphe de traitement des déchets chimiques solides). Pour les kits qui le requièrent, le β -mercapto-éthanol peut être remplacé par du DTT. Sur des kits plus récents il est aussi possible de s'en affranchir.

✓ Salles « PCR » (0111 et 0112)

Deux salles pour la préparation des PCR sont à votre disposition et sont équipées de hottes UV avec leur jeu de pipettes et leurs portoirs, d'un vortex, d'une mini-centri (rotors 6 tubes et 2 barrettes) et de deux appareils PCR chacune. Salles et appareils sont soumis à réservation (voir l'outil en ligne page 3). Dans chacune de ces pièces une hotte est dédiée à la préparation du « mix » (= sans ADN) et l'autre au dépôt de la matrice « ADN », prévoir vos boîtes de cônes en conséquence. Merci de respecter cette organisation. Leur **nettoyage se fait avec de l'alcool à 70% exclusivement** (à re préparer au besoin). Il est préconisé de passer les UV pendant environ 15 min avant et après utilisation. Pour nettoyer les autres surfaces vous pouvez utiliser des produits de type DNA AWAY ou du RNase AWAY qui élimine aussi les contaminations ADN.

Des espaces de rangement « stock commun » et « stock équipe » sont aussi à votre disposition, n'hésitez pas à y ranger votre matériel et vos kits (non fournis par la Plateforme). Le congélateur -20°C contient les kits de chacune des équipes, merci de vous référer aux étiquettes sur les tiroirs ou les boîtes de rangement.

✓ Espace électrophorèse « Zone GelRed » (0100)

Cet espace est principalement dédié à la détection d'acides nucléiques (ADN, ARN, produits de PCR) par électrophorèse en gel d'agarose et visualisation sous UV en présence de GelRed®. Ce produit chimique est un intercalant des acides nucléiques apparenté au bromure d'éthidium (BET), sensé toutefois être moins mutagène. Malgré tout, par principe de précaution, un certain nombre de règles ont été établies et sont énumérées dans ce paragraphe spécifique. En complément, vous pourrez trouver la fiche de sécurité correspondante à ce produit à l'adresse suivante :

<http://www.interchim.fr/ft/MSDS/B/BY1740.pdf> et <https://biotium.com/wp-content/uploads/2013/07/MSDS-41003.pdf>

La « Zone GelRed » est physiquement délimitée par un tracé rouge et des affichettes au sol. Des gants de couleur spécifique sont disponibles, ils ne doivent **EN AUCUN CAS** être utilisés pour une autre application ou en dehors de cette zone et ils doivent **IMPERATIVEMENT** être jetés dans la poubelle située sur la « Zone GelRed ». Il en est de même en ce qui concerne les boîtes de cônes et les éventuelles recharges : les boîtes contaminées ne doivent pas sortir

de la « Zone GelRed » et les boîtes neuves ou les recharges situées hors « Zone GelRed » ne doivent pas être manipulées avec les gants « GelRed ».

Le matériel se trouvant sur la « Zone GelRed » est majoritairement marqué « GelRed zone », il ne doit **EN AUCUN CAS** être déplacé vers une autre zone. Deux micro-ondes ont été positionnés sous la sorbonne afin de limiter les vapeurs de GelRed® au moment du chauffage des gels d'agarose. De nombreuses cuves d'électrophorèses et des générateurs sont disponibles ainsi qu'une table UV et deux systèmes d'acquisition d'image Geldoc avec leurs ordinateurs. Ces ordinateurs (écrans, souris, clavier) sont réputés être propres et doivent le rester, ils ne doivent donc pas être manipulés avec les gants. Si vous utilisez les systèmes Geldoc il est conseillé d'utiliser du marqueur de taille dilué au 1/10^{ème} voir même au 1/25^{ème} (dépôt de 5 µl) car la détection est beaucoup plus sensible qu'avec une simple plaque UV et un appareil photo.

Pour toute découpe de produit de PCR sur gel, il est **IMPERATIF** d'utiliser une plaque en verre sous votre gel afin de ne pas endommager la plaque UV des systèmes Geldoc. Des écrans ainsi que des lunettes sont disponibles en complément de la blouse afin de vous protéger des UV. Ne pas nettoyer les écrans à l'alcool car, associé aux UV, il fait à terme craquer le plastique qui les compose.

Un réfrigérateur est situé hors « Zone GelRed » contenant deux étages dédiés « GelRed », avec notamment le GelRed, les bleus de charge, les marqueurs de taille, les gels en attente..., comme pour les ordinateurs associés aux systèmes Geldoc il ne doit **EN AUCUN CAS** être manipulé avec les gants spécifiques « GelRed ». Merci d'y prendre soin.

Concernant le matériel dédié à la migration des ARN, les cuves doivent être nettoyées avec une solution de détergent (SDS 0,5%), soigneusement rincés avec de l'eau RNase-free, puis rincée à l'éthanol 70% et mises à sécher. Il est aussi recommandé d'utiliser du tampon de migration réservé aux ARN et préparé extemporanément.

Le manuel du Geldoc, la dernière version du logiciel Image Lab et son manuel d'utilisation sont disponibles aux adresses suivantes :

<https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/10017218.pdf>

<http://www.bio-rad.com/fr-fr/product/image-lab-software?ID=KRE6P5E8Z>

<https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/10000076953.pdf>

Une visualisation des gels de protéines et des membranes après transfert est aussi possible (se référer au paragraphe « Espaces électrophorèse protéines », page suivante).

✓ Espace « Post-PCR » (0100)

Cet espace a été prévu afin de limiter les risques de contamination. Vous pouvez y purifier vos produits de PCR et les diluer pour utilisation ultérieure. Les kits sont à la charge des équipes/Utilisateurs.

Cet espace est composé de deux postes équipés chacun d'un jeu de pipettes (P20-P200-P1000). A cela s'ajoute une pipette multi-canaux 10-100 µl, deux centrifugeuses (vmax 13K rpm, rotors 1x12 tubes 1,5-2 ml et 1x18 tubes 1,5-2 ml ou 0,2 ml), une micro-centri avec rotors 6 tubes ou 2 barrettes, une micro-centri à plaque, un vortex et un bain-marie liquide.

Des étagères et placards sont disponibles pour y ranger vos affaires afin de laisser l'espace libre. Un congélateur -20°C vous permet d'y stocker les produits que vous souhaitez conserver à long terme.

✓ Espace électrophorèse « Protéines » (0101)

Cette zone est un espace sensible du fait de la manipulation de solutions d'acrylamide (cancérogène) pour la réalisation de gels de séparation de protéines. Les gants et tout le matériel jetable contaminés par de l'acrylamide doivent être jetés dans le seau prévu à cet effet. Les effluents liquides contenant de l'acrylamide doivent être mis dans un bidon spécifique présent dans la zone.

Cette zone est équipée d'un jeu de pipettes (P20-P200-P1000) siglées « protéines » qui ne doivent pas être déplacées ou utilisées sur d'autres paillasse (risque de contamination). Vous disposez également de deux cuves de migration Miniprotean 3 de chez Biorad (pour 4 gels à la fois), d'un générateur Gibco, d'un système de transfert de gels sur membranes Trans-Blot Turbo (Biorad) et d'un agitateur 3D pour les Western Blot qui peut être mis en chambre froide.

Hormis l'acrylamide, le TEMED, l'APS, le Tris et la Glycine, les autres réactifs sont à la charge des équipes/Utilisateurs.

Les appareils Geldoc en « Zone GelRed » peuvent vous permettent de faire une photo de vos gels et membranes, pour cela il faut utiliser l'écran blanc (Conversion Plate) et la lumière blanche (voir manuel d'utilisation en page 12). Pensez à prendre vos précautions pour utiliser ces systèmes situés eux aussi en zone sensible.

Vous trouverez les différents manuels d'utilisation aux adresses suivantes :

-Miniprotean <http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/4006157B.pdf>

-Trans-Blot <http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/10020688.pdf>

✓ Espaces « Dissection/Observation » (I1200 et 0102)

Ces espaces qui comprennent plusieurs postes de travail sont destinés à la dissection d'insectes en conditions non stériles et à leur observation au moyen de loupes ou de microscopes. Des stérilisateur à billes et des lampes à alcool peuvent être mis à votre disposition pour la stérilisation du petit matériel de dissection en cours de manipulation. Un autoclave de paille (salle 0090) permet de stériliser le petit matériel en fin d'utilisation.

Certaines loupes sont aussi équipées de système de lumière blanche voir même d'une caméra (voir tableau ci-dessous).

	<i>Type</i>	<i>Utilisation</i>	<i>Salle</i>
Loupes	<i>Motic</i>	<i>Observation/dissection</i>	<i>0102</i>
	<i>Leica MZ75</i>	<i>Observation/dissection</i>	<i>0102</i>
	<i>Leica MZ125</i>	<i>Observation/dissection</i>	<i>0102</i>
	<i>Leica MZ6</i>	<i>Observation/dissection</i>	<i>I1200</i>
Caméra	<i>Leica IC80HD</i>	<i>Sur loupe Leica MZ6</i>	<i>I1200</i>
Lumière froide	<i>Leica CLS150X</i>	<i>Sur loupe Leica MZ125</i>	<i>0102</i>
	<i>Leica CLS50E</i>	<i>Sur loupe Leica MZ75</i>	<i>0102</i>
	<i>Intralux 5000-1</i>	<i>Sur loupe Leica MZ6</i>	<i>I1200</i>

Voici des adresses pour accéder aux manuels de certains de ces appareils :

-Loupe Motic https://archive-resources.coleparmer.com/Manual_pdfs/48925-30%20-35%20-40.pdf

-Loupes Leica https://www.upc.edu/sct/ca/documents_equipament/d_208_id-497.pdf

-Caméra Leica IC80HD https://www.leica-microsystems.com/fileadmin/downloads/Leica%20IC80%20HD/User%20Manuals/Leica_IC80HD_Manual_EN.pdf

Par ailleurs, sur la Plateforme de Microscopie vous pouvez aussi accéder à différents microscopes pouvant être équipés d'une caméra. Merci de vous rapprocher des Gestionnaires de la Plateforme de Microscopie/Histologie (Laureen Beauguard, Christophe Bressac, Claudio Lazzari ou Karine Musset) si vous souhaitez utiliser les outils suivants:

-Microscope Olympus CX40 (I1200) <https://www.manualslib.com/manual/1014038/Olympus-Cx40.html>

-Caméra MoticomPro 205B (+ ordinateur) (salle I1200, sur Olympus CX40)

<http://mikroszkopkamera.hu/assets/brossurak/moticam/moticam-pro-205a-mikroszkop-kamera.pdf>

-Microscope Olympus BX51 (salle 072) <https://www.manualslib.com/manual/796677/Olympus-Bx51.html>

-Caméra ProgRes CF cool (+ ordinateur) (salle 072, sur Olympus BX51)

<https://www.jenoptik.com/-/media/websitedocuments/optics/progres/progres-cfcool.pdf>

-Microscope Olympus BX51WI (salle 072)

Le petit matériel (lames, lamelles, pinces, coupelles...) est à la charge des équipes/Utilisateurs. Vous devez ranger et nettoyer les paillasse après utilisation et ne pas laisser vos lames et autres matériels sur les paillasse, des espaces de rangements sont à disposition à cet effet dans les placards à proximité.

Toutes les expériences d'immuno- ou de cyto-marquages avec des solutions dangereuses doivent être effectuées sous la sorbonne de la pièce I1200. Les produits concernés doivent également être conservés sous cette sorbonne (ou à froid lorsque cela est nécessaire).

✓ Espace « Micro-injection » (I1200)

Cet espace est dédié à la micro-injection de différentes substances dans des insectes. Pour cela, vous disposez de deux types de micro injecteurs :

<i>Noms</i>	<i>Visuel</i>	<i>Informations</i>
FemtoJet * (Eppendorf)		<i>Injection de quantités infimes de liquide dans les cellules ou de petits organismes entiers</i> <i>Réglage de la pression et du temps d'injection ainsi que de la pression de compensation</i> <i>Commande via le bouton d'injection en façade ou la pédale</i>

**NanoJect III *
(Drummond)**



*Micropipette d'injection de nano-volumes...
Moteur à déplacement positif d'une extrême précision
Répétitivité et précision des volumes distribués à l'aide de capillaires.
Programmable sur le volume d'injection, la vitesse, le nombre d'injections et l'intervalle entre deux injections*

Vous trouverez leurs manuels d'utilisation aux adresses suivantes :

<https://biochimie.umontreal.ca/wp-content/uploads/sites/37/2012/08/FemtoJet5247.pdf>

https://www.drummondsci.com/wp-content/uploads/2019/12/Nanojety_III_Manual.pdf

Vous pouvez vous tourner vers Marlène Goubault et Thibaut Josse si vous avez besoin de conseils concernant leur utilisation. Les consommables pour ces appareils sont à la charge des équipes/Utilisateurs. Le matériel doit être nettoyé et rangé après chaque utilisation. Sauf accord préalable ce matériel ne doit pas être déplacé. Merci de penser aussi à les réserver en ligne.

✓ **Espace « Bactériologie » (S031) (non fonctionnel à ce jour)**

Au sein de cet espace principalement dédié à la culture bactérienne vous trouverez :

- un Poste de Sécurité Microbiologique (**PSM, accessible salle 0103**) pour la manipulation
- un incubateur/agitant pour les cultures liquides
- un incubateur pour les cultures en boîtes de Pétri
- un bain-marie à sec pour la transformation par choc thermique
- un bain-marie liquide pour la ligation (voir en chambre froide)
- un pipetboy
- un jeu de pipettes



Bien que non fonctionnel, nous disposons d'un certain nombre d'équipements et de consommables. N'hésitez pas à vous tourner vers nous pour en discuter.

Il est préférable d'utiliser des consommables jetables. Le matériel contaminé réutilisable (verrerie principalement) doit être nettoyé à l'eau de javel puis rincé, lavé au lave-vaisselle et autoclavé avant de pouvoir être réutilisé au sein de cet espace. Un autoclave de paillasse (salle 0090) permet de stériliser le petit matériel en fin d'utilisation et un autoclave vertical (voir affichage pour connaître les personnes habilitées à l'utiliser) permet la stérilisation de plus gros volumes de liquide ou solides. Avant élimination, les solutions bactériennes doivent être inactivées par autoclavage puis solidifiées avec du gélifiant (MedGel, 1 sachet pour 1 L) avant d'être éliminés dans les poubelles DASRI. Par contre n'utilisez pas d'eau de javel sur les appareils ou les matériels oxydables (inox, aluminium, cuivre...), préférez-lui dans ce cas du nettoyant/désinfectant « Anios spray ».

Le logiciel Quantity One du Système Gel Doc le plus ancien (celui en face des paillasse de migration permet notamment de réaliser un comptage de colonies sur boîte de Pétri (https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/Quantity_One_v450.pdf). Penser à prendre vos précautions pour utiliser ces systèmes situés en zone sensible « GelRed ».

✓ **Espace « Dosage » (S030, S031, 0100 et I1210)**

Différents systèmes permettent d'évaluer les quantités d'acides nucléiques ou de protéines présentes dans vos solutions et de suivre la croissance bactérienne. Ces équipements sont répartis sur les différents plateaux (Qubit en S030 et 0100, spectro BioMate en S031, spectro Varian en 0100 et spectro Genova Nano en I1210). Ils fonctionnent soit par dosage par fluorimétrie (Qubit – essai sur 1 à 8 échantillons) soit par dosage par spectrophotométrie UV/visible (les autres) avec des cuves quartz réutilisables ou des cuves à usage unique. Le dosage spectrométrique avec le ratio DO_{260}/DO_{280} vous donnera aussi une idée de la qualité de votre extraction (« scanning » possible selon les appareils).

Pour plus d'informations sur leur utilisation, merci de vous référer aux manuels suivants:

- Qubit http://www.mbl.edu/jbpc/files/2014/05/Qubit2_Fluorometer_UserManual.pdf
http://www.ebc.uu.se/digitalAssets/176/c_176882-l_3-k_qubitquickrefcard.pdf
https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0018186_Qubit_Flex_Fluorometer_UG.pdf
- BioMate <https://www.manualslib.com/manual/1485024/Thermo-Biomate-3-Series.html?page=3#manual>
- Varian <https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Public/1596.pdf>
<https://neurophysics.ucsd.edu/Manuals/CARY/CaryWinUV%20Software%20Manual.pdf>
- Genova http://www.jenway.com/adminimages/Genova_Nano_Spectrophotometer_Rev_E_05_17.pdf

✓ Labos « Pathogènes » (S020 et 0103)

Deux labos spécifiques pathogènes (salle S020 pour le baculovirus, donc spécifique IMIP, et salle 0103 pour d'autres pathogènes) ont été mis en place afin de limiter les risques de contamination des élevages et plus généralement des espaces de manipulation. Ils sont équipés de sorte d'être « autonomes ».

Le labo « baculo » est équipé de plusieurs jeux de pipettes, d'une étuve, d'une centrifugeuse minispin (12 tubes 1,5/2 ml), d'une micro-centrifugeuse, d'un vortex, d'un bain-marie à sec, d'une loupe binoculaire (Euromex Stereoblue) et d'un microscope. Un espace propre (baculo-free) permet d'y réaliser les manipulations classiques de biologie moléculaire. Le labo « pathogènes » quant à lui est équipé de deux postes de travail, d'une centrifugeuse minispin (12 tubes 1,5/2 ml), d'un vortex et d'un bain-marie à sec. Situé au milieu d'une zone très passante il est impératif d'être très précautionneux quant aux risques de contamination par des pathogènes pouvant s'attaquer à nos élevages (se rapprocher des Gestionnaires pour avis préalable).

Des blouses spécifiques, voir même jetables (à la charge des Utilisateurs), sont à votre disposition ainsi que des sabots en salle « baculo ». Le tapis bleu à l'entrée de la salle est là aussi pour limiter les risques de contamination, n'hésitez pas à éliminer la feuilles de surface si elle n'est plus assez adhérente.

Merci de ne rien sortir de ces laboratoires (appareils, consommables, matériel biologique, déchets...) sans vous être assurés qu'il n'y a pas de risque de contamination pour le reste du laboratoire: confinement avant autoclavage, nettoyage à la javel... Pour rappel les déchets infectieux solides doivent être jetés dans les poubelles plastiques DASRI jaunes après inactivation par les moyens appropriés.