

“GMO Detective”

L’atelier

Protocol

I. Matériel

- Échantillon de nourriture
- Eau distillée
- Primers & Mastermix
- Marqueurs
- Eppendorf Tube 1.5 mL
- Petit Pilon
- Gants
- Micropipette & Embouts
- Tubes PCR
- porte tube
- Incubateurs
- Rack pour tube PCR
- Détecteur d’ADN
- micropipette 20-200
- Micropipette 20
- Chauffe cire

GMO Detective



II. Extraction de l'ADN

/!\ Portez bien vos gants tout au long du protocole /!\



1) Prendre environ 0.05 gramme de l'aliment à tester, puis le placer dans un tube Eppendorf 1.5 mL. **Étiquetez-le.**

Pour votre information, 0.05 gramme, c'est grand à peu près comme ça.



2) A l'aide du petit pilon bleu, broyer vos échantillons à l'intérieur du tube Eppendorf 1.5 mL de manière à homogénéiser.



3) Utiliser une micropipette 20 μ L-200 μ L AVEC UN EMBOUT, pour ajouter 60 μ L d'eau distillé (dH₂O) dans l'Eppendorf 1.5mL

/!\ Bien mélanger /!\

/!\ Attention au contamination /!\

4) Faire bouillir de l'eau

5) Verser l'eau bouillante dans une tasse ou dans un bécher

6) **Extraction de l'ADN** - Placer vos tubes Eppendorf 1.5mL et laisser refroidir à température ambiante pendant **5 minutes**



Après 5 minutes, retirer les tube du bécher.

III. Préparation de la réaction d'amplification de l'ADN

7) Prendre une bande de 8 tubes pour PCR, étiquetez le capuchon et le tube.



Fig 04: A 8 plastic tube strip

/!\ Pour les étapes 8, 9 et 10, suivre avec attention la figure 5 /!

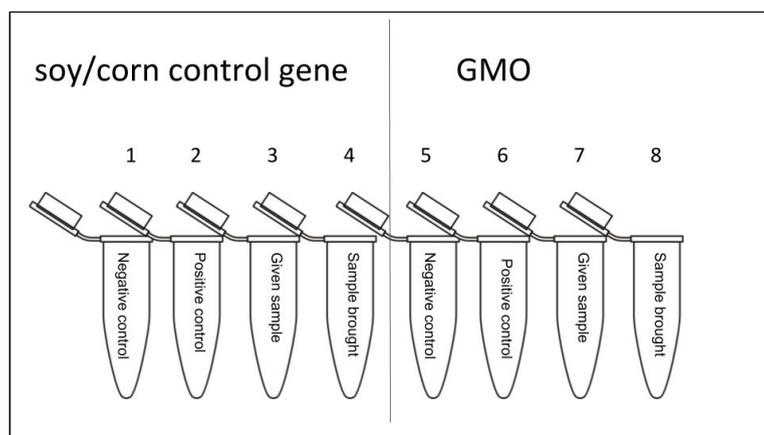


Fig 05: Une bande de 8 tubes PCR. Chaque tubes contient un échantillons différent ou un control.
Soy = Soja ; Corn = Maïs ; GMO = OGM

8) Dans les tubes **1,2,3 et 4**, ajouter 8 μ L du mastermix (Enzyme mix + Primer Mix) approprié, c'est à dire soit pour le maïs, soit pour le soja, grâce à une pipette 20 μ L.

/!\ Les primers pour détecter le maïs et le soja sont différent /!

9) Dans les tubes **5, 6, 7 and 8** place 8 μ L du mastermix spécial OGM.

/!\ Quand vous travailler avec de petit volumes, bien vérifier que tous les tubes ont le bon volume /!

10)

- Tubes **1 & 5**: ajouter 2 μ L d'eau distillé \Rightarrow **Control négatif**
- Tubes **2 & 6**: ajouter 2 μ L d'ADN de Maïs ou Soja \Rightarrow **Control positif**
- Tubes **3 & 7**: ajouter 2 μ L de l'échantillon que nous vous donnons
- Tubes **4 & 8**: ajouter 2 μ L de votre échantillon

IV. Amplification de l'ADN

11) Incuber vos tubes PCR pendant 60 minutes at 63 °C dans le chauffe cire afin de laisser la réaction "LAMP" opérer.

V. Interprétation des résultats

12) Grâce au détecteur d'ADN construit ce matin, observer la présence ou l'absence de fluorescence.

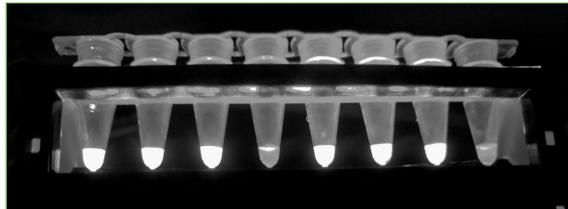


Fig 06: Fluorescence visualization (PCR tubes after LAMP incubation)