

	Procédure Mode opératoire Préparation des boîtes de Pétri Petit Modèle 12x12cm	Réf. : MO_PhR_BP12_V5-2023 Version 5 date : 12/2023 page 1/2
---	---	---

1. Objet

Ce document (ou mode opératoire) a pour but de détailler la préparation des boîtes de Pétri petit modèle 12x12 cm et le repiquage des plantes avant chargement dans l'automate de prise de vue.

2. Domaine d'application

Atelier de Phénotypage Racinaire

3. Documents de référence

MO_PhR_ET
MO_PhR_HOAGL
P_PhR_GD

4. Abréviations utilisées

PhR : atelier de Phénotypage Racinaire

5. Liste de diffusion

Atelier de Phénotypage Racinaire, tous les usagers de l'atelier

6. Informations complémentaires :

Les boîtes de pétri utilisées doivent être les Gosselin de 12x12 cm d'une épaisseur de 15,8 mm (<http://www.gosselin.eu/fr/boites-de-petri/carrees-h-158-120x120-mm/48822.aspx>) ou équivalentes. Attention, toute boîte dont les dimensions et surtout l'épaisseur ne seraient pas identiques ne seront pas acceptées afin d'éviter tout risque de blocage de l'automate pendant les transferts.

Impression des étiquettes :

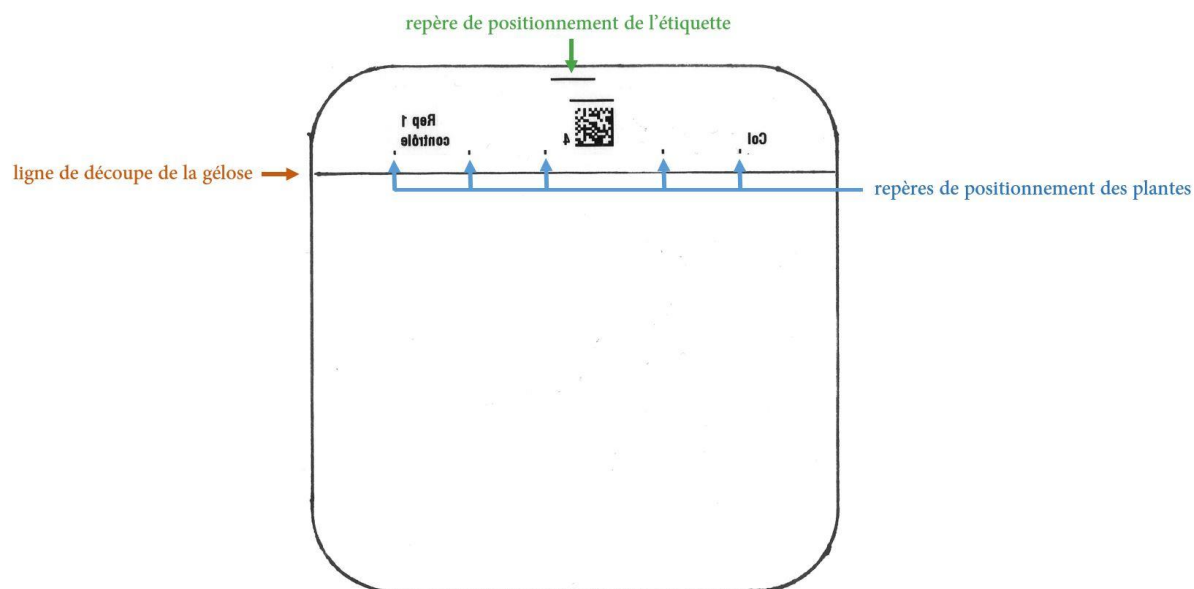
Les étiquettes sont imprimées par le responsable technique ou scientifique selon le mode opératoire MO_PhR_ET.

Les informations imprimées sur les étiquettes sont directement importées à partir du formulaire Excel « F_PhR_PE » complété au préalable par l'utilisateur.

Consignes générales pour la préparation des boîtes :

Les boîtes sont préparées selon le modèle suivant (vue de dessus) :

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Amandine Crabos	Philippe Nacry	Colette Tournaire
Fonction :	Responsable Technique	Responsable Scientifique	Animatrice qualité
Visa :			



Collage des étiquettes:

Retourner la boîte afin de positionner l'étiquette à l'arrière de la boîte.

Coller l'étiquette contre le bord supérieur en faisant coïncider le repère sur l'étiquette avec le cran sur la boîte.

Milieux de culture :

L'utilisateur doit préparer ses milieux de culture. Ils pourront être autoclavés et/ou chauffés sur place.

L'utilisateur peut utiliser le milieu de culture de son choix ; toutefois, il doit vérifier qu'une fois les boîtes en position verticale, il n'y ait aucun écoulement de milieu et que l'opacité des boîtes est compatible avec le système de prise de vue (concentration en agar conseillée : 9 g/l).

Dans le cas où l'utilisateur souhaiterait préparer du milieu Hoagland, il peut suivre le mode opératoire « MO_PhR_HOAGL ».

Coulage des boîtes et repiquage

Couler 50 ml de milieu par boîte et laisser les boîtes ouvertes sous hotte jusqu'à solidification complète de la gélose.

Si l'utilisateur prévoit d'analyser ses images avec le pipeline d'analyse automatisé « Root System Tracker » les étapes suivantes sont nécessaires (dans tous les autres cas elles sont optionnelles) :

- 1) Une fois refroidi, découper au scalpel et enlever à la spatule une bande de 25 mm de

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Amandine Crabos	Philippe Nacry	Colette Tournaire
Fonction :	Responsable Technique	Responsable Scientifique	Animatrice qualité
Visa :			

	Procédure Mode opératoire Préparation des boîtes de Pétri Petit Modèle 12x12cm	Réf. : MO_PhR_BP12_V5-2023 Version 5 date : 12/2023 page 3/2
---	---	---

milieu dans le haut des boîtes (afin que les parties aériennes n'entrent pas en contact avec le milieu)

- 2) Pour *Arabidopsis*, transférer 5 plantules dans chaque boîte en évitant de déposer des plantules directement en dessous du QR code (se référer aux repères au bas de l'étiquette pour positionner les plantes). Pour les autres espèces, des tests préalables devront être effectués.

Fermer les boîtes soigneusement avec du ruban adhésif large (Scotch transparent 550 - Ruban adhésif - 19 x 66 mm <https://www.bureau-vallee.fr/sachet-ruban-adhesif-transp-550-19x66-3m-52471.html>). Le ruban adhésif doit être collé très soigneusement sur tous les côtés de la boîte pour éviter qu'il ne se colle sur la boîte voisine et ne l'entraîne lors de l'injection pour la prise de vue.

NE PAS UTILISER d'URGOPORE qui au fil de l'expérience se décolle et gêne les transferts de boîtes.

Mise en place des boîtes dans les racks :

Lors de la première réalisation d'une expérience par un nouvel utilisateur, cette étape se fera sous supervision d'un responsable de l'atelier de phénotypage racinaire.

Les boîtes doivent être positionnées verticalement dans les racks « Petites Boîtes », le couvercle à droite et l'étiquette en haut suivant le mode opératoire MO_PhR_HR12.

En fin d'expérience, les plantes et boîtes seront éliminées suivant la procédure P_PhR_GD.

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Amandine Crabos	Philippe Nacry	Colette Tournaire
Fonction :	Responsable Technique	Responsable Scientifique	Animatrice qualité
Visa :			