

 Plateforme Electrophysiologie	MODE OPERATOIRE	Réf : MO_EHEV_FLUX RACINE_09_V1-2022
	Mesure de flux d'ions racinaires à l'aide de microélectrodes sélectives	date : 18 10 22 page 1/1

1. Objet et domaine d'application

Mesure de flux d'ions racinaires à l'aide de microélectrodes sélectives

2. Liste de diffusion et si nécessaire niveau de confidentialité

IPSIM, utilisateurs de la plateforme

3. Personnes référentes

Claire Corratgé-Faillie, Martin Boeglin, Anne-Aliénor Véry

4. Hygiène et sécurité

Risque physiques :

Pipettes verre => attention risque piqûre/coupure

Four et boîte métal=> attention risque de brûlure

Micromanipulation sous la loupe bino => marquer une pause toutes les heures.

Risques chimiques : produits irritants ou nocifs par inhalation, Silicone :Tributylchlorosilane

=> à manipuler sous sorbonne

=> porter des gants nitrile

5. Contenu du mode opératoire

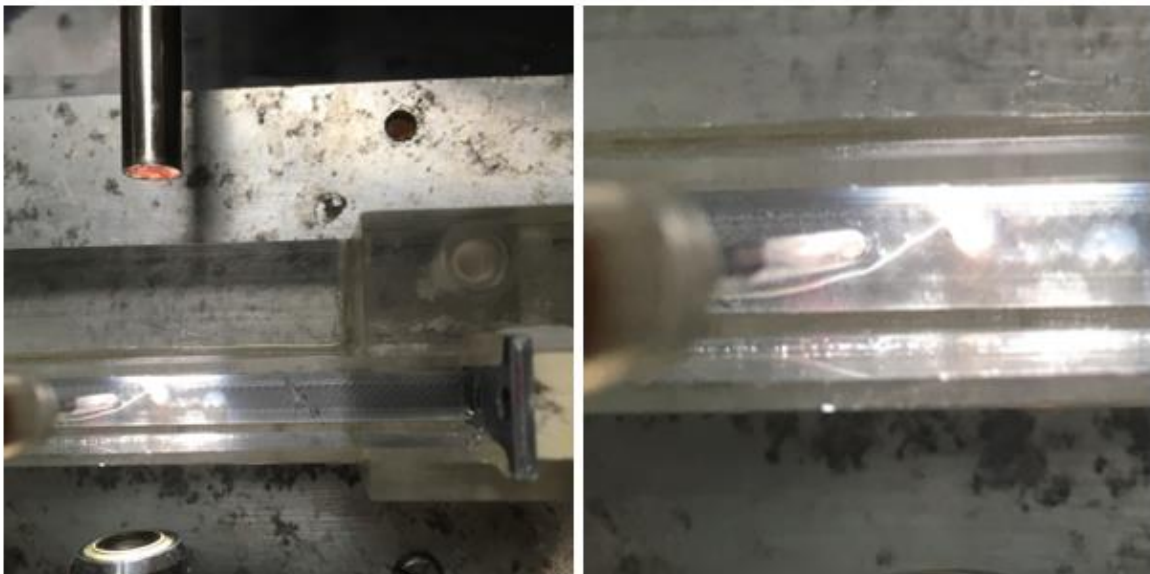
1. Juste avant la manip vérifier la microélectrode à l'aide d'une gamme de calibration (Cf Préparation des gammes – Fabrication des microélectrodes)
2. Vérifier l'alignement caméra/lumière/microélectrode/cuve racine (on doit voir la croix à l'écran caméra)
3. Amener la pointe de la pipette verticalement dans le champ de la caméra (on voit l'ombre de la pipette), faire la mise au point et remonter la pipette pour l'installation de la racine
4. Installer la racine (segment de point de racine de 3-4cm de long à partir de l'apex) sur le support gris porte racine (imprimante 3D) et la fixer sur le support à l'aide de point

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	C Corratgé-Faillie M Boeglin A-A Véry		

 Plateforme Electrophysiologie	MODE OPERATOIRE	Réf : MO_EHEV_FLUX RACINE_09_V1-2022
	Mesure de flux d'ions racinaires à l'aide de microélectrodes sélectives	date : 18 10 22 page 2/1

de vaseline aux extrémités et au milieu (en insistant ++ sur la vaseline au niveau de la partie coupée de la racine pour éviter les fuites). NB : !! à ne pas mettre de vaseline sur les bords du support car sinon ça floute la cuve. Remplir la cuve jusqu'au trait noir (plutôt celui de droite) et installer la racine avec son support dans la cuve.

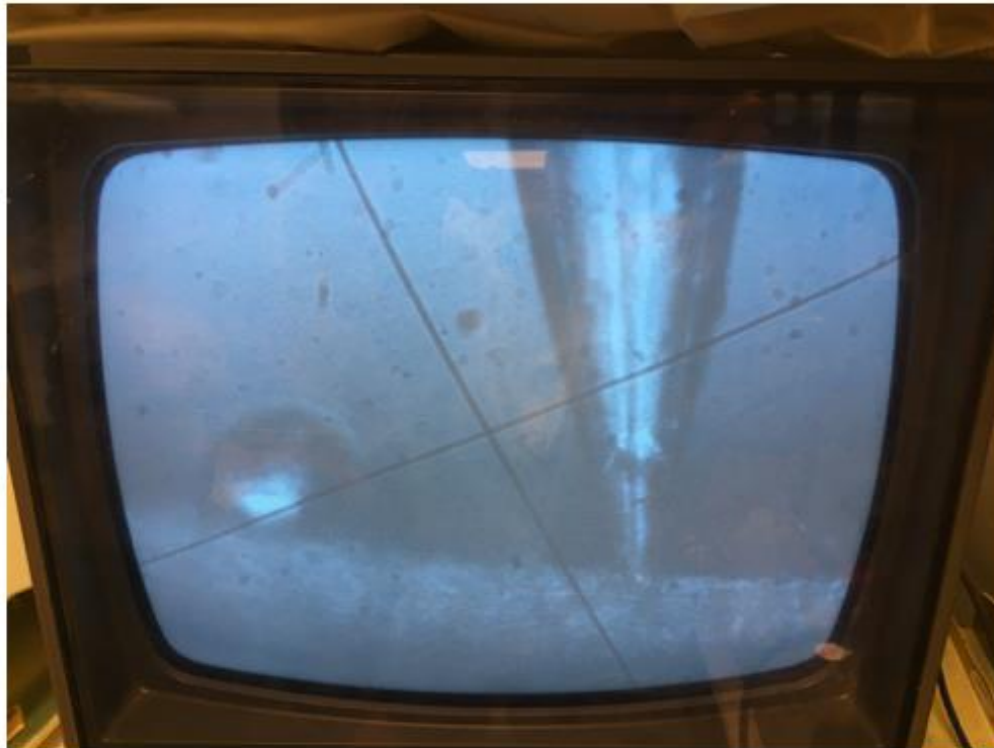
5. Ramener délicatement la pointe de la pipette verticalement dans le champ de la caméra (on voit l'ombre de la pipette), refaire la mise au point et remonter jusqu'à positionner pointe de la pipette en haut de l'écran
6. En regardant par-dessus, centrer la racine sous la pipette en déplaçant le charriot. Avec la loupe sur le côté affiner la position de la cuve et venir placer la racine sous la pipette avec le focus sur la pipette en zone apex (0,5 cm de l'apex).



7. Noter la valeur de potentiel dans le bain
8. A l'aide du micro-élevateur en appuyant sur GV et Fin de course (+), faire monter rapidement la platine racine puis finir de monter lentement juste avec Fin de course (+) pour venir placer la racine en bas de l'écran. Quand elle est bien placée avec la pipette au contact de la racine, mettre zéro compteur qui permet ensuite de revenir à cette position avec le bouton Origine.

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	C Corratgé-Faillie M Boeglin A-A Véry		

 Plateforme Electrophysiologie	MODE OPERATOIRE	Réf : MO_EHEV_FLUX RACINE_09_V1-2022
	Mesure de flux d'ions racinaires à l'aide de microélectrodes sélectives	date : 18 10 22 page 3/1



9. Noter la valeur de potentiel au contact de la racine.
10. Puis avec un pas de 100um descendre la platine et noter à chaque fois les valeurs de potentiels jusqu'à retrouver la valeur de potentiel du bain au départ (1500-2000um de distance au final)



	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	C Corratgé-Faillie M Boeglin A-A Véry		

 Plateforme Electrophysiologie	MODE OPERATOIRE	Réf : MO_EHEV_FLUX RACINE_09_V1-2022 date : 18 10 22 page 4/1
	Mesure de flux d'ions racinaires à l'aide de microélectrodes sélectives	

11. Refaire la même chose en zone mature (0,5cm extrémité de la racine coupée).

Solution de bain Racine :

KCl 1 mM

CaCl₂ 0,1 mM

NaCl 0,2 mM

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	C Corratgé-Faillie M Boeglin A-A Véry		