



Guide de l'utilisateur

Systèmes MultiScreen[®] HTS et MultiScreen[®] HTS+ Hi Flow

Pour filtrer des échantillons et réaliser des procédures entières, depuis la culture cellulaire jusqu'au comptage en scintillation, dans la même plaque



Pour une utilisation en recherche uniquement.
Ne pas utiliser dans des procédures de diagnostic.

Introduction

Les plaques de filtration de 96 puits MultiScreen[®] HTS sont utilisées pour filtrer des échantillons et réaliser des procédures entières, depuis la culture cellulaire jusqu'au comptage en scintillation, dans la même plaque. Les plaques sont proposées avec de nombreux types de membranes, dimensions de pores et matériaux de plaque. Le design compatible avec une automatisation permet une manipulation aisée avec divers systèmes robotisés et rend possible l'utilisation d'un code-barres sur les quatre côtés. La filtration est effectuée soit sous vide à l'aide du support de filtration sous vide MultiScreen[®] HTS (Réf. MSVMHTS00), soit par centrifugation.

Les plaques de filtration de 96 puits MultiScreen[®] HTS+ Hi Flow sont optimales pour les dosages radiométriques de l'activité kinase et GPCR. Ces plaques contiennent une trame de support au lieu d'une membrane sous le filtre actif. La conception à débit élevé de ces plaques fournit le débit nécessaire pour des étapes de lavage uniformes, diminue l'adsorption du bruit de fond et réduit les variations lors des comptages radiométriques aussi bien du signal que du bruit de fond.

Types de plaques

Utilisez des plaques transparentes pour les applications de dosage générales impliquant des solutions aqueuses ou de faibles niveaux de solvants. Utilisez des plaques opaques pour un comptage direct en micro-scintillation et une luminescence flash. Utilisez les plaques résistantes aux solvants lorsque vous travaillez avec des solvants organiques concentrés à 30 % ou plus. Les plaques stériles sont vendues sous emballage individuel.

Spécifications du format de plaque à 96 puits

Capacité d'un puits de la plaque de filtration	300 µl
Volume d'échantillon de travail (la capacité peut être limitée par la plaque réceptrice)	250 µl
Vitesse de centrifugation (maximum)	3000 x g
Dimensions, plaque de filtration	
Longueur	123,4 mm
Largeur	82,7 mm
Profondeur	14,6 mm
Membrane	GV Membrane Durapore [®] en PVDF hydrophile, 0,22 µm HV Membrane Durapore [®] en PVDF hydrophile, 0,45 µm DV Membrane Durapore [®] en PVDF hydrophile, 0,65 µm BV Membrane Durapore [®] en PVDF hydrophile, 1,2 µm IP Membrane Immobilon [®] -P en PVDF hydrophile, 0,45 µm HA Membrane en esters de cellulose hydrophile, 0,45 µm PCF Membrane en polycarbonate, 0,4 µm PH Membrane en phosphocellulose chargée négativement DE Membrane DEAE chargée positivement FB Filtre en fibre de verre, 1,0 µm FC Filtre en fibre de verre, 1,2 µm

Consignes d'utilisation

- Ne pas retirer le drain en plastique de la plaque avant d'avoir filtré les échantillons. Une fois que le drain a été retiré, il n'est plus possible de collecter le filtrat, même si le drain est remis en place.
- Le fait de mettre des films adhésifs de scellage sur tous les puits ou de laisser le couvercle sur la plaque en appliquant le vide empêchera le flux de liquide de passer à travers les filtres.

Mouiller complètement ou appliquer un revêtement sur les plaques avant utilisation

Certains protocoles requièrent un mouillage complet de la plaque ou l'application d'un revêtement sur la plaque de filtration avant utilisation. Si votre application ne le demande pas, passez à la section "Filtrer les échantillons".

Mouiller complètement les plaques

Cette section décrit comment mouiller complètement les plaques avec une solution aqueuse ou alcoolique. La solution utilisée dépendra du type de plaque et de l'essai.

Mouillage aqueux pour les plaques PH et DE

1. Placer la plaque sur le support de filtration et retirer le couvercle.
2. Ajouter 100 µl du tampon de départ dans chaque puits.
3. Appliquer le vide pendant 1 minute. La plaque est maintenant prête pour l'ajout de l'échantillon.

Remarque : Une fois que les plaques PH et DE ont été entièrement mouillées, elles doivent être utilisées immédiatement. Les filtres rétréciront au séchage et risquent de tomber du fond des puits.

Mouillage à l'alcool pour les essais sans filtration

1. Retirer le couvercle de la plaque.
2. Ajouter 15 µl d'éthanol à 35 % dans chaque puits. Ne pas appliquer le vide. Aspirer ou renverser rapidement la plaque en donnant un petit coup sec et rapide pour retirer l'éthanol.
3. Laver deux fois avec 200 µl du tampon de départ pour rincer l'éthanol résiduel des puits. Retirer la solution de lavage comme indiqué ci-dessus. **Ne pas appliquer le vide.** La plaque est maintenant prête pour l'ajout de l'échantillon.

Remarque : Une fois que la plaque a été entièrement mouillée, elle doit être conservée humide.

Mouillage à l'alcool pour les essais avec filtration

1. Placer la plaque sur le support de filtration et retirer le couvercle.
2. Ajouter 50–100 µl d'éthanol à 70 % dans chaque puits. Après 30 secondes, filtrer en appliquant un vide faible.
3. Pour éliminer l'éthanol résiduel des puits, laver à deux reprises avec 200 µl du tampon de départ, en utilisant le vide. La plaque est maintenant prête pour l'ajout de l'échantillon.

Remarque : Une fois que la plaque a été entièrement mouillée, elle doit être conservée humide. La membrane Immobilon[®]-P est translucide lorsqu'elle est mouillée. Si la membrane devient opaque avant le début de l'essai, cela signifie qu'elle a séché et qu'elle doit être mouillée à nouveau.

Application d'un revêtement

Cette section décrit comment revêtir la plaque d'une matrice extracellulaire (MEC). Pour plus d'informations, cf. la publication MM012 sur www.millipore.com (veuillez saisir MM012 dans le champ de recherche).

Revêtement MEC (plaques stériles)

1. Préparer une solution mère de collagène de queue de rat (RTC) (3 mg/ml) dans de l'acide chlorhydrique ou acétique. Pour plus d'informations sur le revêtement avec d'autres types de MEC, cf. la publication MM012.
2. Diluer 1 part du stock de collagène avec 3 parts d'éthanol stérilisé à 70 %.
3. Ajouter de manière aseptique 40–50 µl dans chaque puits et laisser sécher dans une hotte à flux laminaire pendant au moins 4 heures et jusqu'à une nuit.

Remarque : Les plaques sèches peuvent être scellées et stockées sèches à 4 °C pendant une période pouvant aller jusqu'à 4 semaines avant de passer les échantillons.

Ajout de l'échantillon et incubation

Ensemencer les échantillons en pipétant la quantité d'échantillon appropriée, entre 25 et 250 µl, dans chacun des puits de la plaque de filtration. Les densités d'ensemencement typiques sont de 15.000–40.000 cellules/puits, selon la lignée cellulaire.

En cas d'ajout de plusieurs solutions aux puits, ajouter d'abord la solution ayant le plus grand volume et terminer en ajoutant celle dont le volume est le plus faible, si possible. Le respect de cet ordre contribue à faire en sorte que tous les composants soient mélangés de façon homogène.

Couvrir la plaque de filtration avec son couvercle et incuber selon les exigences de l'application. Ne pas couvrir la plaque avec du film adhésif de scellage car la pression s'accumulera dans les puits, entraînant un échec de l'incubation.

MISE EN GARDE : La plage de températures pour l'incubation est de 4–37 °C.

Filtrer les échantillons

Lors des applications ELISpot, la plaque ne nécessite pas de filtration et ne doit pas être utilisée avec le Support de filtration sous vide MultiScreen[®] HTS. Pour les protocoles détaillés, cf. la publication TN1003EN00 sur www.millipore.com (veuillez saisir TN1003EN00 dans le champ de recherche).

Lors de l'utilisation des plaques MultiScreen[®] HTS+ Hi Flow-PH, -FB, -FC et MultiScreen[®] HTS-PH ou -DE, le vide maximum recommandé est de 135–271 mbar (4–8 in. de Hg).

Pour les autres plaques, le vide maximum recommandé est de 271–406 mbar (8–12 in. de Hg). Un vide supérieur peut être utilisé pour les échantillons difficiles à filtrer, mais cela peut se traduire par des niveaux supérieurs de coefficient de variation (CV) du filtrat et un moussage de l'échantillon.

Lors de l'utilisation des plaques en fibres de verre PH ou DE, toujours couper le vide entre les lavages pour éviter un piégeage d'air dans les puits de la plaque.

MISE EN GARDE : Ne pas utiliser le support de filtration sur la même paillasse ou table qu'une pompe à vide, un agitateur ou un mixeur. Les vibrations peuvent perturber le processus de transfert du filtrat et avoir une incidence sur la quantité de filtrat collectée.

1. Retirer le couvercle de la plaque et ajouter la/les solution(s) dans les puits.
2. Remettre le couvercle en place pour minimiser l'évaporation. Incuber selon les exigences de l'essai.
3. Placer la plaque sur le support de filtration sous vide.

MISE EN GARDE : Ne pas retirer le drain en plastique de la plaque avant d'avoir filtré les échantillons. Une fois que le drain a été retiré, il n'est plus possible de collecter le filtrat, même si le drain est remis en place.

4. Retirer le couvercle et appliquer le vide.
- MISE EN GARDE :** Des puits vides empêcheront le flux. Ajouter un fluide dans les puits non utilisés ou les couvrir avec du film adhésif de scellage.

5. Égoutter la plaque sur une surface absorbante qui ne peluche pas afin de déplacer toutes micro-gouttelettes formées sur le dessous de la plaque. Ajouter ensuite toute autre solution qui requiert une incubation supplémentaire.

6. Retirer le drain en plastique pour les applications qui requièrent un découpage des membranes individuelles à l'emporte-pièce ou pour les situations de comptage en scintillation de la plaque entière nécessitant l'ajout d'un adaptateur spécial avant le comptage.

MISE EN GARDE : Afin d'éviter de contaminer les échantillons, ne pas toucher le fond de la plaque. Cf. les sections "Découpage des plaques à l'emporte-pièce" et "Comptage en scintillation de plaques entières" pour de plus amples informations.

Découpage des plaques à l'emporte-pièce

Une fois l'essai terminé, les échantillons nécessitant un traitement dans un compteur peuvent être découpés à l'aide de l'emporte-pièce multiple MultiScreen[®] et de ses accessoires. Le Support de plaque pour MultiScreen[®] HTS (Réf. MSCP09600) est nécessaire pour découper des plaques MultiScreen[®] HTS à l'emporte-pièce. Pour plus d'informations, se reporter au guide de l'utilisateur du Système de séparation MultiScreen[®], P17479, disponible sur www.millipore.com (saisir P17479 dans le champ de recherche). Pour les consignes concernant la détection d'isotopes de faible énergie, consulter la publication MM010 sur www.millipore.com (saisir MM010 dans le champ de recherche).

1. Préparer les échantillons selon les exigences de l'essai. Retirer le drain une fois la dernière étape terminée.
2. Sécher la plaque.

Remarque : Ne pas sécher les plaques HA, PH et DE.

3. Placer les fioles ou les tubes dans les portoirs et les faire glisser en position sur la base de l'emporte-pièce multiple MultiScreen[®].
4. Placer une plaque MultiScreen[®] HTS (avec le drain retiré) sur le Support de plaque pour MultiScreen[®] HTS.

Découpage des plaques à l'emporte-pièce, suite

- Positionner les embouts jetables directement au-dessus des 96 puits de la plaque de filtration. Les picots dans les angles et les ergots latéraux doivent facilement se placer dans les rainures de positionnement situées sur le dessus du support de plaque.
- Avec la poignée de l'emporte-pièce en position haute, repousser le support de plaque dans l'emporte-pièce en passant tous les crans. Une fois le support de plaque poussé aussi loin que possible, le ressortir d'un cran de l'emporte-pièce.
- Abaisser la poignée de l'emporte-pièce d'un mouvement rapide, ce qui entraîne un déplacement des embouts jetables à travers chaque puits et jusque dans les fioles ou les tubes.
- Retirer les fioles, ajouter le liquide de scintillation, si nécessaire, et procéder au comptage.

Notes du protocole

- Permettre à la fibre de verre de se dissocier par une agitation avant le comptage augmente significativement l'efficacité du comptage, particulièrement avec les marquages au tritium.
- Lors de l'utilisation des plaques en fibres de verre, il faudra veiller à démonter régulièrement le distributeur de l'emporte-pièce et à retirer les fibres de verre défilées.
- Pour les plaques PH et DE en fibre de verre, il arrive parfois que la membrane de support ne soit pas retirée par l'embout de l'emporte-pièce, mais reste au contraire fixée à la plaque de base. Toutefois, les comptages collectés se trouvent sur le filtre.
- Les plaques de filtration MultiScreen[®] HTS+ Hi Flow ne sont pas compatibles avec l'emporte-pièce multiple MultiScreen[®].

Comptage en scintillation de plaques entières

Les plaques MultiScreen[®] HTS opaques sont compatibles avec les compteurs de microplaques pour un comptage en scintillation direct de la plaque. Pour des protocoles plus détaillés, cf. MM015 pour le compteur MicroBeta[®] de Wallac et TNO20 pour le système TopCount[®] de Packard. Vous trouverez ces publications sur le site www.millipore.com (saisir la référence de la publication dans le champ de recherche).

- Effectuer l'essai en utilisant des plaques MultiScreen[®] HTS opaques selon votre procédure type.
- Retirer le drain de la plaque et sécher la plaque afin de maximiser l'efficacité. Pour un comptage avec le drain en place, cf. la publication TNO20.
- Égoutter la plaque sur des serviettes en papier qui ne peluchent pas ou autre matière absorbante propre (optionnel pour un séchage plus rapide).
- Placer la plaque dans un support approprié, si nécessaire.
- À l'aide d'une pipette multicanaux, ajouter 25 µl (30 µl pour les plaques PH et DE en fibre de verre) de mélange de scintillation dans chaque puits.
- Sceller le dessus de la plaque avec du film de scellage transparent.
- Procéder au comptage.

Compatibilité chimique

Il est possible de trouver des informations sur la compatibilité chimique des plaques MultiScreen[®] HTS et de leurs accessoires dans les publications PR4772EN00 et PR4772ENEU, disponibles sur www.millipore.com (saisir la référence de la publication dans le champ de recherche).

Guide d'achat

Plaques avec membrane Durapore[®] hydrophile en fluorure de polyvinylidène (PVDF)

Description de la plaque	Pores, µm	Stériles	Référence	Qté	
Membrane Durapore [®] (PVDF)	MultiScreen [®] HTS-GV, acrylique transparent	0,22	Non	MSGVN2210 MSGVN2250	10 50
	MultiScreen [®] HTS-GV, acrylique transparent	0,22	Oui	MSGVS2210	10
	MultiScreen [®] HTS-GV, plastique Barex [®] opaque	0,22	Non	MSGVN2B50	50
	MultiScreen [®] HTS-HV, styrène transparent	0,45	Non	MSHVN4510* MSHVN4550*	10 50
	MultiScreen [®] HTS-HV, styrène transparent	0,45	Oui	MSHVS4510	10
	MultiScreen [®] HTS-HV, plastique Barex [®] opaque	0,45	Non	MSHVN4B10 MSHVN4B50	10 50
	MultiScreen [®] HTS-DV, styrène transparent	0,65	Non	MSDVN6510 MSDVN6550	10 50
	MultiScreen [®] HTS-DV, plastique Barex [®] opaque	0,65	Non	MSDVN6B50	50
	MultiScreen [®] HTS-BV, styrène transparent	1,2	Non	MSBVN1210 MSBVN1250	10 50
	MultiScreen [®] HTS-BV, styrène transparent	1,2	Oui	MSBVS1210	10
	MultiScreen [®] HTS-BV, plastique Barex [®] opaque	1,2	Non	MSBVN1B50	50

* Pour une utilisation en diagnostic in vitro

Plaques avec membrane Immobilon[®]-P hydrophobe en PVDF

Description de la plaque	Pores, µm	Stériles	Référence	Qté	
Membrane Immobilon [®] -P	MultiScreen [®] HTS-IP, acrylique transparent	0,45	Non	MSIPN4510 MSIPN4550	10 50
	MultiScreen [®] HTS-IP, acrylique transparent	0,45	Oui	MSIPS4510	10
	MultiScreen [®] HTS-IP, acrylique blanc	0,45	Oui	MSIPS4W10	10
	MultiScreen [®] HTS-IP, plastique Barex [®] opaque	0,45	Non	MSIPN4B10 MSIPN4B50	10 50
	Barrettes de 8 puits MultiScreen [®] avec membrane Immobilon [®] -P	0,45	Oui	M8IPS4510	10 plaques de 96 puits
	Cadre de support pour barrettes de 8 puits MultiScreen [®]	-	-	M8IPFRAME	10

Plaques avec membrane hydrophile en esters de cellulose

Description de la plaque	Pores, µm	Stériles	Référence	Qté	
Membrane en esters de cellulose	MultiScreen [®] HTS-HA, styrène transparent	0,45	Non	MSHAN4510 MSHAN4550	10 50
	MultiScreen [®] HTS-HA, styrène transparent	0,45	Oui	MSHAS4510	10
	MultiScreen [®] HTS-HA, plastique Barex [®] opaque	0,45	Non	MSHAN4B50	50
	MultiScreen [®] HTS-HA, plastique Barex [®] opaque	0,45	Oui	MSHAS4B10	10

Guide d'achat, suite

Membranes et filtres spéciaux

Description de la plaque	Pores, µm	Support de membrane	Stériles	Référence	Qté
Plaques avec membrane en polycarbonate, pour la filtration et la préparation d'échantillon de petites molécules en solution aqueuse					
MultiScreen [®] HTS-PCF, styrène transparent	0,4	-	Non	MSSLBPC10 MSSLBPC50	10 50
Plaques avec membrane (phosphocellulose) chargée négativement					
MultiScreen [®] HTS-Hi Flow-PH, plastique Barex [®] opaque	Charge -	Trame de polyester	Non	MSPHNXB50	50
MultiScreen [®] HTS-PH, plastique Barex [®] opaque	Charge -	Membrane Durapore [®] 0,65 µm	Non	MSPHN6B10 MSPHN6B50	10 50
Plaques avec membrane DEAE chargée positivement					
MultiScreen [®] HTS-DE, plastique Barex [®] opaque	Charge +	Membrane Durapore [®] 0,65 µm	Non	MSDEN6B50	50
Plaques avec filtre en fibres de verre					
MultiScreen [®] HTS-Hi Flow-FB, plastique Barex [®] opaque	1,0	Trame de polyester	Non	MSFBNXB50	50
MultiScreen [®] HTS-Hi Flow-FC, plastique Barex [®] opaque	1,2	Trame de polyester	Non	MSFCNXB50	50
MultiScreen [®] HTS-FB, plastique Barex [®] opaque	1,0	Membrane Durapore [®] 0,65 µm	Non	MSFBN6B10 MSFBN6B50	10 50
MultiScreen [®] HTS-FC, plastique Barex [®] opaque	1,2	Membrane Durapore [®] 0,65 µm	Non	MSFCN6B10 MSFCN6B50	10 50

Accessoires

Description	Référence	Qté
Support de filtration sous vide MultiScreen [®] HTS		
Comprend la base, le cadre pour plaque standard, les joints, les grilles, les tuyaux, les vannes et le manomètre	MSVMHTS00	1
Kits Support de filtration sous vide		
Les kits comprennent un Support de filtration sous vide MultiScreen [®] HTS, une pompe résistante aux solvants (choisir la tension appropriée), une fiole à vide, des bouchons et des unités de filtration Millex [®]		
Kit Support de filtration sous vide (220 V, 50 Hz)	MSVMKIT00	1
Kit Support de filtration sous vide (115 V, 60 Hz)	MSVMKIT01	1
Kit Support de filtration sous vide (100 V, 50/60 Hz)	MSVMKIT02	1
Composants des kits Support de filtration sous vide		
Support de filtration sous vide MultiScreen [®] HTS	MSVMHTS00	1
Pompe résistante aux solvants (220 V, 50 Hz)	WP6122050	1
Pompe résistante aux solvants (115 V, 60 Hz)	WP6111560	1
Pompe résistante aux solvants (100 V, 50/60 Hz)	WP6110060	1
Fiole à vide, 1 litre	XX1004705	1
Bouchon n°8 en silicone, orifice 9,5 mm	XX2004718	5
Unité de filtration Millex [®] -FA ₆₀	SLFA05010	10
Emporte-pièce multiple MultiScreen [®] et ses accessoires		
Emporte-pièce multiple MultiScreen [®]	MAMP09608	1
Support de plaque pour plaques de filtration MultiScreen [®] HTS	MSCP09600	1
Plaques d'embouts à usage unique MultiScreen [®] (plaques de 96 embouts)	MADP19650	50

Avertissement

Les informations portées dans le présent document sont sujettes à modification sans préavis et n'impliquent aucun engagement de la part de Merck Millipore Ltd. ("Millipore") ou d'une société affiliée. Ni Merck Millipore Ltd. ni aucune de ses filiales n'assument la responsabilité de quelque erreur que ce soit susceptible de figurer dans ce document.

Assistance technique

Pour de plus amples informations, contactez la filiale la plus proche. Aux États-Unis, appeler le numéro vert 1-800-MILLIPORE (1-800-645-5476). En dehors des États-Unis, consultez notre site Internet www.millipore.com/offices pour des informations à jour pour nous contacter depuis n'importe quel point du monde. Vous pouvez également consulter la page de notre Service technique : www.millipore.com/techservice.

Garantie

La garantie applicable aux produits figurant dans cette publication est disponible sur www.millipore.com/terms (sous les "Conditions générales de vente" applicables à votre transaction commerciale).

Fabriqué en Irlande
Merck Millipore Ltd.
Tullagreen,
Carrigtwohill,
Co. Cork, IRL

Le logo "M" est une marque de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne. Millipore, Durapore, MultiScreen, Millex et Immobilon sont des marques déposées de Merck KGaA. Toutes les marques appartenant à des tiers sont la propriété de leurs propriétaires respectifs.

© 2013 EMD Millipore Corporation. Billerica, MA, États-Unis. Tous droits réservés.
PR04306FR, Rév. A, 06/15

