

1 EXTRACTION

Peser 50 à 100 mg de matière végétale (ou $\frac{1}{4}$ d'un tube de 1.5 mL).

(ne pas dépasser 130 mg)

On peut découper aux ciseaux mais nettoyer les ciseaux à l'alcool ensuite

2 EXTRACTION

Introduire la matière dans un tube de 1.5 mL.

3 EXTRACTION

Ajouter 400 μL d'AP1 + 4 μL RNase A (solution stock à 100 mg/L)

Ne pas mélanger les produits AVANT utilisation

4 EXTRACTION

Agiter au vortex

5 EXTRACTION

Incuber la solution 10 mn à 65°C ; homogénéiser 2 fois pendant l'incubation par renversement.

On peut poser les tubes directement dans l'eau chaude.

6 EXTRACTION

Ajouter 130 μ L de tampon P3

7 EXTRACTION

Agiter et incuber 5 minutes sur glace

8 EXTRACTION

Centrifuger le lysat 5 minutes à 20.000g soit.....t/mn

9 EXTRACTION

Déposer la fraction de surnageant sur la colonne QIASredder Mini Spin (couleur lilas) emboîtée sur un tube de 2 mL.

10 EXTRACTION

Centrifuger pendant 2 mn à 20.000 g soitt/mn

Toute la solution doit être passée.

11_{EXTRACTION}

Pipeter 400 à 450 μL de filtrat dans un nouveau tube sans perturber le micro culot

12_{EXTRACTION}

Vérifier que le tampon AW1 contient bien de l'éthanol

13_{EXTRACTION}

Ajouter 1.5 volume d'AW1 au lysat ($1.5 * 450 = 675 \mu\text{L}$) et mixer immédiatement par pipetage (aspirer refouler avec la micropipette).

14_{EXTRACTION}

Transférer 650 μL de solution sur mini colonne DNeasy (couleur blanche) emboîtée sur tube de 2 mL.

15_{EXTRACTION}

Centrifuger 1 mn > 6000 g.

16_{EXTRACTION}

Eliminer la solution filtrée, conserver le tube collecteur et la colonne (contient ADN)

17

EXTRACTION

Transférer 650 μ L de solution sur mini colonne DNeasy (couleur blanche) emboîtée sur tube de 2 mL.

18

EXTRACTION

Centrifuger 1 mn > 6000 g.

19_{EXTRACTION}

Eliminer la solution filtrée, conserver le tube collecteur et la colonne (contient ADN)

20_{EXTRACTION}

Vérifier que l'éthanol a bien été ajouté à AW2

21 EXTRACTION

Placer la colonne DNeasy mini spin sur un nouveau tube collecteur

22 EXTRACTION

Ajouter 500 μ L de AW2

23_{EXTRACTION}

Centrifuger 1 mn à 6.000g.....

24_{EXTRACTION}

Eliminer le filtrat et réutiliser la colonne pour l'étape suivante.

25_{EXTRACTION}

Ajouter 500 µL de AW2 sur la colonne DNeasy mini spin

26_{EXTRACTION}

Centrifuger 2 mn à 20.000 g.....

27 EXTRACTION

Eliminer le filtrat SANS TOUCHER la membrane.

28 EXTRACTION

Transférer la colonne DN easy mini spin sur un nouveau tube eppendorf de 1.5 mL

29_{EXTRACTION}

Ajouter 50µL de tampon AE directement sur la membrane

30_{EXTRACTION}

Incuber 5 mn à température ambiante (15 à 25 °C)

31_{EXTRACTION}

Centrifuger 1 mn à 6.000 g.....

???

32_{EXTRACTION}

Transférer la colonne DN easy mini spin sur un nouveau tube de 1.5 mL

33_{EXTRACTION}

Ajouter 50µL de tampon AE directement sur la membrane

34_{EXTRACTION}

Incuber 5 mn à température ambiante (15 à 25 °C)

35

EXTRACTION

Centrifuger 1 mn à 6.000 g.....

36

EXTRACTION

L'ADN est dans l'éluat

TERMINE