

Jun 23, 2025

Extraction de l'ADN de Peuplier Noir

DOI

<https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.x54v9o9jzv3e/v1>

BTS BioALC¹, wilfrid GROSSIN²

¹Techniques Biologie Moléculaire; ²LYCEE VALIN

Génome à l'École



wilfrid GROSSIN

LYCEE VALIN

Create & collaborate more with a free account

Edit and publish protocols, collaborate in communities, share insights through comments, and track progress with run records.

Create free account

OPEN  ACCESS



DOI: <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.x54v9o9jzv3e/v1>

Protocol Citation: BTS BioALC, wilfrid GROSSIN 2025. Extraction de l'ADN de Peuplier Noir. **protocols.io**
<https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.x54v9o9jzv3e/v1>

License: This is an open access protocol distributed under the terms of the **[Creative Commons Attribution License](#)**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited



Protocol status: Working

We use this protocol and it's working

Created: June 22, 2025

Last Modified: June 23, 2025

Protocol Integer ID: 220694

Keywords: extraction of black poplar dna, dna extraction procedure, dna extraction, extracting dna, dna from black poplar, black poplar dna, extraction, la prévention des contamination, dna, black poplar, peuplier noir, contamination prevention, procedure

Abstract

Ce protocole décrit la méthode d'extraction de l'ADN de peuplier noir en utilisant le kit DNeasy® Plant Mini de Qiagen. Les compétences visées incluent la conduite des opérations d'extraction d'ADN, l'analyse et la prévention des risques, ainsi que la présentation et l'ordonnancement des valeurs expérimentales. Une attention particulière est accordée à la traçabilité et à la prévention des contaminations.

Extraction of Black Poplar DNA

This protocol describes the method for extracting DNA from black poplar using the Qiagen DNeasy® Plant Mini kit. The targeted skills include carrying out DNA extraction procedures, analyzing and preventing risks, as well as presenting and organizing experimental data. Special attention is given to traceability and contamination prevention.

Guidelines

Une attention toute particulière sera accordée à la traçabilité (bien nommer chaque tube). Afin d'éviter le risque de contaminations des solutions, porter des gants et veiller à changer les embouts de micropipette à chaque prélèvement.

Materials

DNeasy® Plant Mini kit de Qiagen, scalpels/ciseaux, pinces, éthanol, tubes de 1,5 mL, vortex, centrifugeuse, colonne QIAshredder Mini Spin, colonne DNeasy Mini Spin, tampon AP1, RNase, tampon P3, tampon AW1, tampon AW2, tampon AE, bloc congélation.

Préparation de l'échantillon

- 1 Dans un tube de 1,5 mL, évaluer une quantité de matière végétale qui occupera environ 1/4 à 1/3 du tube (petits bouts de feuille de peuplier ou bourgeon par exemple) et les enfoncer dans le tube (montrer le tube à l'enseignant avant de poursuivre).
- 2 Nettoyer les scalpels/ciseaux et pinces à l'éthanol entre chaque échantillon découpé.

Extraction de l'ADN

- 3 Ajouter 400 µL de tampon AP1 et 4 µL de RNase. Agiter au vortex vigoureusement.
- 3.1 Attention à ne pas mélanger le tampon AP1 et la RNase avant utilisation.
- 3.2 Incuber l'homogénat pendant 20 minutes à 65 °C. Vortexer doucement toutes les 5 minutes.
- 4 Ajouter 130 µL de tampon P3 au lysat, agiter et incuber pendant 5 minutes dans un compartiment de glace.
- 5 Centrifuger le lysat 5 minutes à 20 000 g (environ 13000 tours/min, dépend du rayon du rotor).
- 6 Filtration sur colonne
- 6.1 Déposer la fraction surnageante (pipetage à la P200) sur la colonne QIAshredder Mini Spin (couleur lilas), emboîtée sur un tube de 2 mL et centrifuger pendant 2 minutes à 20 000 g (ou jusqu'à ce que toute la solution soit passée).
- 6.2 Cette colonne fractionne et retient les précipités et débris cellulaires. Cependant, une petite fraction n'est pas retenue et apparaît sous forme de micro-culot au fond du tube. Veillez à ne pas resuspendre ce culot au cours de cette étape.
- 7 Pipeter 450 µL de filtrat de l'étape 5 et le transférer dans un tube Eppendorf (noté) de 1,5 mL, et ce, sans perturber le micro-culot de débris cellulaires.
- 7.1 On jette ensuite le tube collecteur avec le culot.

- 7.2 En général, on récupère 450 μ L de solution, évaluer le volume pour l'étape suivante si vous avez récupéré moins de 450 μ L.
- 8 Ajouter 1,5 volume du tampon AW1 au lysat et mixer immédiatement par pipetage.
- 8.1 Exemple pour 450 μ L de lysat, ajouter 675 μ L de tampon AW1.
- 8.2 Avec ajout de ce tampon, l'éthanol provoque un léger précipité qui n'affecte pas la procédure DNeasy.
- 9 Transférer 650 μ L de la solution obtenue à l'étape 7 sur la mini colonne DNeasy (couleur blanche : penser à noter chaque colonne pour la traçabilité) emboîtée sur un tube de 2 mL. Centrifuger 1 minute à 6000 g (correspondant à 8000 rpm). Éliminer la solution filtrée, conserver le tube collecteur et bien sûr la colonne (l'ADN s'y trouve !)
- 9.1 Renouveler l'étape 8 avec le reste de la solution obtenue à l'étape 7. Éliminer le tube collecteur avec la solution filtrée. Continuer jusqu'à ce que toute la solution obtenue à l'étape 7 soit utilisée.
- 10 Placer la colonne DNeasy Mini Spin sur le même tube collecteur, ajouter 500 μ L de tampon AW2 et centrifuger 1 min à ≥ 6000 g (≥ 8000 rpm). Éliminez le filtrat et réutiliser la colonne à l'étape 10.
- 11 Ajouter de nouveau 500 μ L de tampon AW2 sur la colonne DNeasy Mini Spin et centrifuger 2 minutes à 2000 g (13 000 rpm) pour sécher la membrane de filtration.
- 11.1 Cette étape est importante car l'éthanol résiduel peut interférer avec les étapes suivantes. Éliminer le filtrat sans toucher la membrane.
- 11.2 Faire une centrifugation à vide 1 min à 8000 rpm pour bien sécher la colonne avant élution de l'ADN.
- 12 Transférer la colonne sur DNeasy Mini Spin sur un nouveau tube Eppendorf (à noter pour traçabilité et surtout ne pas jeter) et ajouter 50 μ L de solution tampon AE directement sur la membrane. Incuber 5 minutes à température ambiante (15-25 °C).
- 13 Répéter l'étape 11 dans le même tube pour avoir une extraction totale.
- 13.1 On récupère donc 100 μ L d'ADN dans un tube référencé (fermer le tube !).



- 14 Stocker dans un bloc congélation (bloc froid bleu) en attendant de réaliser les analyses de contrôle Qualité ou PCR.