



Aug 29, 2025

Version 1

Protocol for DNA Isolation from Filters (Environmental Samples)nt de l'ADN à partir de filtres (échantillons environnementaux) V.1

DOI

<https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.6qpvrqzp2lmk/v1>

Côte 'Ivoire]¹, Ines Kouadio²

¹Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire; ²Universite Nangui Abrogoua



Ines Kouadio

Universite Nangui Abrogoua

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.6qpvrqzp2lmk/v1>

Protocol Citation: Côte 'Ivoire], Ines Kouadio 2025. Protocol for DNA Isolation from Filters (Environmental Samples)nt de l'ADN à partir de filtres (échantillons environnementaux). **protocols.io** <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.6qpvrqzp2lmk/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

Ce protocole est utilisé dans notre laboratoire et donne des résultats concluants.



Created: May 09, 2025

Last Modified: August 29, 2025

Protocol Integer ID: 217982

Keywords: protocol for dna isolation, dna isolation, dna, filter, laboratory, filtre, laboratory equipment, molecular biology, protocol, échantillons environnementaux

Abstract

This protocol has been optimized for specific conditions and may require adjustments depending on the nature of the samples or the laboratory equipment used. It should be carried out by personnel trained in molecular biology in a laboratory that complies with safety standards.

Guidelines

Travailler sous hotte ou en conditions stériles si possible pour éviter la contamination. Ne jamais aspirer la phase interphase blanche contenant les débris/protéines. Toujours utiliser des réactifs froids pour la précipitation et le lavage.

Materials

Échantillons: Filtres contenant les microorganismes collectés (ex. : eau environnementale filtrée). Tampon de lyse: Tris-HCl 50 mM (pH 8.0), EDTA 20 mM, SDS 1 %. Autres réactifs: Chloroforme (ou Phénol : Chloroforme 1:1, si disponible), Isopropanol ou Éthanol absolu (froid à -20 °C), Éthanol 70 % (froid à -20 °C), Tampon TE (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8.0). Consommables: Tubes Eppendorf 1.5 ou 2 mL stériles, Embouts stériles (20 µL, 100 µL, 1000 µL), Papier absorbant stérile, Gants, lunettes, blouse. Équipements: Bain-marie (réglé à 65 °C), Centrifugeuse (capable de 12 000 rpm), Pipettes, Vortex, Congélateur à -20 °C.

Protocole d'extraction

1 Étape 1 : Lyse cellulaire

- 1.1 Découper le filtre en petits morceaux (1 cm²) dans un tube Eppendorf stérile.
- 1.2 Ajouter 500 à 700 µL de tampon de lyse.
- 1.3 Incuber au bain-marie à 65 °C pendant 24 h, en agitant manuellement toutes les 15 minutes si possible.

2 Étape 2 : Déprotéinisation

- 2.1 Laisser refroidir à température ambiante pendant 2 minutes.
- 2.2 Ajouter 500 µL de chloroforme (ou Phénol : Chloroforme 1:1 si disponible).
- 2.3 Vortexer ou homogénéiser pendant 2 à 3 minutes.
- 2.4 Centrifuger à 12 000 rpm pendant 5 minutes à température ambiante.
- 2.5 Récupérer délicatement la phase aqueuse supérieure dans un nouveau tube propre (éviter la phase interphase blanche).

3 Étape 3 : Réextraction

- 3.1 Ajouter 400 µL de chloroforme à la phase aqueuse.
- 3.2 Homogénéiser 2 min puis centrifuger à 12 000 rpm pendant 5 min.

3.3 Transférer à nouveau la phase aqueuse supérieure dans un tube propre.

4 Étape 4 : Précipitation de l'ADN

4.1 Ajouter 0,6 volume d'isopropanol (ou 2 volumes d'éthanol absolu froid).

4.2 Homogénéiser doucement par inversion du tube.

4.3 Incuber pendant 1 h à -20 °C (ou 1 h à température ambiante si -20 °C non disponible).

4.4 Centrifuger à 12 000 rpm pendant 10 minutes à température ambiante.

5 Étape 5 : Lavage de l'ADN

5.1 Éliminer le surnageant sans perdre le culot (ADN).

5.2 Ajouter 500 µL d'éthanol 70 % froid, agiter doucement.

5.3 Centrifuger à 12 000 rpm pendant 2 minutes.

6 Étape 6 : Séchage

6.1 Éliminer le surnageant, essorer le tube à l'envers sur du papier absorbant.

6.2 Laisser sécher le culot à l'air libre ou à 37 °C pendant 30 minutes, jusqu'à évaporation complète de l'éthanol.



7 Étape 7 : Resuspension de l'ADN

7.1 Ajouter 50 à 100 μ L de tampon TE (ou eau ultrapure stérile).

7.2 Laisser l'ADN se solubiliser à 4 °C pendant une nuit.

7.3 Conserver l'ADN à -20 °C pour un stockage à long terme.

Contrôle qualité de l'ADN

8 Quantification : Mesurer la concentration par spectrophotométrie (Nanodrop ou équivalent).

9 Pureté : Vérifier le rapport A260/A280 (idéalement entre 1.8 et 2.0).

10 Intégrité : Vérification par migration sur gel d'agarose 1 %.