

Maximiser le rendement en ADN à l'aide d'Oragene®•DNA

1. Recueillir le volume de salive recommandé

Le volume de salive recommandé est de 2 mL. Le volume de la solution Oragene®•DNA dans la fiole est de 2,0 mL. Le volume total de 2 mL de salive et de la solution Oragene•DNA doit donc être de 4,0 mL.

2. S'attendre à des variations du rendement en ADN entre les différents donneurs

Le rendement médian en ADN tiré de 4 mL de solution Oragene•DNA/salive est de 110 µg, mais ce rendement peut varier entre un minimum de 15 µg et un maximum pouvant dépasser 300 µg. Même avec un donneur identique, le rendement peut varier d'un jour à l'autre.

3. Finir de cracher à l'intérieur de 30 minutes

L'échantillon de salive doit être entièrement prélevé en moins de 30 minutes et la fiole Oragene•DNA doit être immédiatement refermée. Attendre plus de 30 minutes peut faire diminuer la qualité de l'ADN et le rendement.

4. Effectuer une incubation à 50 °C avant de prendre une partie aliquote pour traitement de l'ADN

La salive est très visqueuse et peut piéger l'ADN. L'étape d'incubation à 50°C libère l'ADN de la solution Oragene•DNA/échantillon de salive. Prendre une aliquote avant l'étape d'incubation peut provoquer une diminution du rendement en ADN.

5. Ajouter le volume d'alcool nécessaire pour faire précipiter l'ADN

Il est important d'ajouter un volume égal d'éthanol (95 à 100 %) à température ambiante au surnageant transparent après l'étape de centrifugation. Il convient par exemple de mélanger 500 µL d'éthanol à 500 µL de surnageant. La phase aqueuse doit être mélangée doucement, mais complètement avec l'éthanol pour assurer la précipitation complète de l'ADN. Un amas d'ADN apparaît habituellement lorsque l'éthanol se mélange à la phase aqueuse. Ajouter plus de 1 volume d'éthanol et/ou utiliser de l'éthanol froid n'améliore pas la récupération de l'ADN et peut augmenter la quantité d'impuretés qui précipitent.

6. Attendre le temps nécessaire pour réhydrater l'ADN

En raison de sa masse moléculaire élevée, l'ADN extrait par Oragene•DNA peut demander un certain temps pour se dissoudre complètement dans le tampon. La solution de réhydratation doit être un tampon à faible teneur en sel tel que le TE. Nous recommandons une incubation jusqu'au lendemain à la température ambiante pour assurer la réhydratation complète de l'ADN. Pour obtenir les meilleurs résultats, il convient que la concentration finale en ADN soit inférieure à 200 µg/mL (200 ng/µL).

Il n'est pas recommandé de faire sécher l'échantillon après la précipitation à l'éthanol car cela peut augmenter significativement la durée de la réhydratation. La durée de réhydratation peut être raccourcie par une incubation à 50°C pendant 10 minutes. Une fois l'ADN dissous, passez brièvement l'échantillon au vortex ou pipetez-le plusieurs fois avant de prélever une aliquote.

7. Quantification de l'ADN

La quantification de l'ADN par absorbance est suffisamment précise pour une PCR et pour la plupart des applications en aval. Pour une quantification plus précise de l'ADN, vous pouvez utiliser une méthode fluorimétrique avec un colorant fluorescent tel que le SYBR[®] Green I. Les protocoles pour les méthodes fluorimétriques sont disponible dans la section Support de notre site Internet : www.dnagenotek.com

Une assistance technique est disponible du lundi au vendredi (de 9 h 00 à 17 h 00, HNE) :

Numéro vert en Amérique du Nord : 1.866.813.6354, option 6

Pour tout autre pays, composez : 613.723.5757, option 6

Email : support@dnagenotek.com