

## Protocole de purification Oragene®•RNA pour des volumes allant jusqu'à 250 µL

(Pour purifier un volume supérieur à 250 µL, se référer au protocole décrit dans PD-PR-021)

### Equipment et réactifs

- Solution Oragene®•RNA neutralizer (vendu séparément)
- Solutions d'éthanol : 70 % et 80 % (température ambiante), 95 % (-20°C)
- Kit Qiagen RNeasy Micro (Cat. N° 74004) et instructions. Les éléments provenant du kit RNeasy sont les suivants : tampon RLT, colonne de centrifugation MinElute, tubes collecteurs, tampon RW1, solution mère de DNase I, tampon RDD, tampon RPE et eau exempte de RNase. Le kit Qiagen RNeasy Mini (Cat. N° 74104) peut également être utilisé en association avec le kit Qiagen RNase-Free DNase (Cat. N° 79254)

### Étapes préalables à la purification de l'ARN à partir d'un échantillon salive/Oragene•ARN

1. À l'arrivée des échantillons au laboratoire, les agiter vigoureusement pendant 8 secondes au minimum.
2. Les échantillons peuvent être conservés à température ambiante pendant une durée allant jusqu'à 8 semaines ou congelés à -20°C indéfiniment.
3. Avant la purification, incuber l'échantillon complet à 50°C dans son tube d'origine pendant 1 heure dans un bain-marie ou pendant 2 heures dans un incubateur à air.

### Purification initiale d'un aliquot de Oragene•RNA

1. Transférer un aliquot de 250 µL dans un microtube de centrifugation de 1,5 mL.
2. Incuber l'aliquot à 90 °C pendant 15 minutes, puis laisser refroidir à température ambiante.
3. Ajouter 1/25<sup>e</sup> de volume de solution neutralizer. (Par ex., 10 µL de solution neutralizer pour un échantillon de 250 µL). Incuber dans la glace pendant 10 minutes.
4. Centrifuger 3 minutes à vitesse maximale (>13 000 × g).
5. Transférer avec soin le surnageant dans un nouveau tube en veillant à ne pas détacher le culot; jeter le culot.
6. Préparer la solution Qiagen RNeasy à utiliser avec Oragene•RNA comme suit : mélanger 250 µL de tampon RNeasy RLT avec 250 µL d'éthanol à 95 %.
7. Ajouter à ce mélange RLT/éthanol jusqu'à 250 µL de l'échantillon neutralisé salive/Oragene•ARN; mélanger 6 fois en inversant doucement.
8. Passer immédiatement aux instructions du kit RNeasy Purification.

**À des fins de recherche uniquement**

Ne pas utiliser à des fins de diagnostic

PD-PR-00219 Issue 2/2017-02  
© 2017 DNA Genotek Inc., une filiale d'OraSure Technologies, Inc, tous droits réservés.

[www.dnagenotek.com](http://www.dnagenotek.com) • [support@dnagenotek.com](mailto:support@dnagenotek.com)

**DNAgenotek**



### Procédure de purification Qiagen RNeasy

Commencer à l'étape n° 5 du protocole du kit Qiagen RNeasy Micro « Isolation d'ARN total à partir de cellules animales ». La version abrégée du protocole est fournie ci-dessous pour référence. (Remarquer une légère modification de l'étape d'éluion, étape n° 13)

- Transférer l'échantillon sur la colonne de centrifugation RNeasy MinElute placée sur un tube collecteur de 2 mL. Fermer le capuchon et centrifuger pendant 15 secondes à  $> 8\,000 \times g$ . Jeter l'effluent. Réutiliser le tube collecteur à l'étape 6.
- Ajouter 350 µL de tampon RW1 dans la colonne RNeasy MinElute. Fermer le capuchon et centrifuger pendant 15 secondes à  $> 8\,000 \times g$ . Jeter l'effluent. Réutiliser le tube collecteur à l'étape 8.
- Ajouter 10 µL de solution mère de DNase I à 70 µL de tampon RDD. Mélanger doucement en inversant le tube.
- Déposer le mélange d'incubation contenant la DNase I (80 µL) directement sur la membrane de la colonne RNeasy MinElute et incuber 15 minutes à température ambiante.
- Ajouter 350 µL de tampon RW1 dans la colonne RNeasy MinElute. Fermer le capuchon et centrifuger pendant 15 secondes à  $> 8\,000 \times g$ . Jeter l'effluent et le tube collecteur.
- Placer la colonne RNeasy MinElute sur un nouveau tube collecteur de 2 mL. Ajouter 500 µL de tampon RPE dans la colonne. Fermer le capuchon et centrifuger pendant 15 secondes à  $> 8\,000 \times g$ . Jeter l'effluent. Réutiliser le tube collecteur à l'étape 11.
- Ajouter 500 µL d'éthanol à 80 % dans la colonne RNeasy MinElute. Fermer le capuchon et centrifuger pendant 2 minutes à  $> 8\,000 \times g$ . Jeter l'effluent et le tube collecteur.
- Placer la colonne RNeasy MinElute sur un nouveau tube collecteur de 2 mL. Ouvrir le capuchon de la colonne et centrifuger 5 minutes à vitesse maximale. Jeter l'effluent et le tube collecteur.
- Placer la colonne RNeasy MinElute sur un nouveau tube collecteur de 1,5 mL. Ajouter 25 µL d'eau exempte de RNase directement au centre de la membrane de la colonne. Incuber 5 minutes à température ambiante. Fermer le capuchon et centrifuger 1 minute à vitesse maximale pour éluer l'ARN.

#### Le service technique est disponible du lundi au vendredi de 9h00 à 17h00 ET:

- Numéro sans frais Amérique du Nord : 1.866.813.6354, option 6
- Pour tout autre pays, composez : +1.613.723.5757, option 6
- Email : support@dnagenotek.com

\*Oragene est une marque déposée de DNA Genotek Inc. Tous les autres noms et marques cités dans le présent document appartiennent à leurs propriétaires respectifs.  
Tous les protocoles, rapports et notes d'application de DNA Genotek sont disponibles dans la rubrique « Support » de notre site Internet [www.dnagenotek.com](http://www.dnagenotek.com).