

Extraction d'ARN à partir de salive contenu dans des éponges

Une fois recueillis, les échantillons Oragene®•RNA/salive sont stables à température ambiante pendant au moins 8 semaines sans traitement. Chauffer les échantillons comme décrit ci-dessous (étape 1) permet une répartition uniforme de l'ARN dans les éponges et le liquide libre. Si 5 éponges sont utilisées pour recueillir la salive, environ la moitié du liquide sera retenue par les éponges et l'autre moitié restera libre.

Pour extraire l'ARN des échantillons salivaires contenus dans les éponges, nous recommandons les méthodes suivantes : si l'on a besoin d'ARN pour un nombre limité de tests, appliquer la **méthode A**. Si l'on souhaite extraire l'ARN de l'échantillon total pour une série de tests, appliquer la **méthode B**. Un autre moyen de purifier l'ARN à partir d'un échantillon consiste à utiliser les deux méthodes, A et B. Par exemple, il est possible d'effectuer rapidement des tests préliminaires en purifiant un petit volume (méthode A), conserver l'échantillon à température ambiante jusqu'à ce que tous les échantillons aient été recueillis pour l'étude, puis utiliser la méthode B pour extraire le reste de l'ARN. L'ARN du même donneur extrait en utilisant les méthodes A et B peut être regroupé.

Méthode A) Purification de l'ARN à partir d'un aliquot de 250 µl

1. S'assurer que le bouchon du flacon Oragene•RNA est bien fermé. Mélanger doucement en inversant le tube 10 fois. Incuber à 50 °C pendant 1 heure dans un bain-marie ou pendant 2 heures dans un incubateur à air.
2. Ouvrir le flacon avec précaution et prélever 250 µl de liquide libre.
3. Purifier l'ARN en suivant le protocole de purification Oragene•RNA pour les volumes allant jusqu'à 1 000 µl

Méthode B) Purification Oragene•RNA à partir d'un aliquot de 1 ml

1. S'assurer que le bouchon du flacon Oragene•RNA est bien fermé. Mélanger doucement en inversant le tube 10 fois. Incuber à 50 °C pendant 1 heure dans un bain-marie ou pendant 2 heures dans un incubateur à air.
2. Prélever du flacon autant de liquide libre que possible et le transférer dans un tube conique pour centrifugeuse de 15 ml.
3. Placer le corps d'une seringue jetable en plastique de 5 ml (c.-à.-d. sans le piston) dans le même tube conique de 15 ml.
4. À l'aide de pinces fines, transférer les éponges du fond du flacon au corps de la seringue (voir figure).
5. Centrifuger le corps de la seringue contenant les éponges dans le tube conique à 200×g (par ex., 1 000 tr/min avec une centrifugeuse Sorvall RT6000D) pendant 10 min à 20 °C.
6. Retirer et jeter le corps de la seringue contenant les éponges sèches.
7. L'ARN peut être extrait à partir de la salive/Oragene•RNA liquide dans le tube de centrifugation en suivant les instructions du protocole de purification Oragene•RNA pour les volumes allant jusqu'à 1 000 µl.



Autres remarques

1. Ce protocole a été mis au point comme une méthode possible pour recueillir des échantillons d'ARN salivaires chez les nourrissons ou les jeunes enfants qui ne sont pas capables de cracher. Si vous avez des idées pour améliorer le protocole, veuillez vous adresser à support@dnagenotek.com.

Références

1. Protocole de purification Oragene•RNA pour des volumes allant jusqu'à 1 ml.
Voir sur le site internet la section "Support" sous la rubrique "Literature"