

---

## **Etude génétique des populations de loutres captives dans différents zoos européens et relations avec les populations sauvages : implication pour de futurs projets de réintroduction**

**Auteur :** Radermacher, Tom

**Promoteur(s) :** Michaux, Johan; 856

**Faculté :** Faculté des Sciences

**Diplôme :** Master en biologie des organismes et écologie, à finalité approfondie

**Année académique :** 2015-2016

**URI/URL :** <http://hdl.handle.net/2268.2/1605>

---

*Avertissement à l'attention des usagers :*

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---

## DNeasy<sup>®</sup> Blood & Tissue Kit

The DNeasy Blood & Tissue Kit (cat. nos. 69504 and 69506) can be stored at room temperature (15–25°C) for up to 1 year.

For more information, please refer to the *DNeasy Blood & Tissue Handbook*, which can be found at [www.qiagen.com/handbooks](http://www.qiagen.com/handbooks).

For technical assistance, please call toll-free 00800-22-44-6000, or find regional phone numbers at [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact).

### Notes before starting

- Perform all centrifugation steps at room temperature (15–25°C).
- Redissolve any precipitates in Buffer AL and Buffer ATL.
- Add ethanol to Buffer AW1 and Buffer AW2 concentrates.
- Equilibrate frozen tissue or cell pellets to room temperature.
- Preheat an incubator to 56°C.
- Refer to the handbook for pretreatment of fixed tissue, insect, bacterial, or other material.

- 1a. **Tissue:** Cut tissue ( $\leq 10$  mg spleen or  $\leq 25$  mg other tissue) into small pieces, and place in a 1.5 ml microcentrifuge tube. For rodent tails, use 1 (rat) or 2 (mouse) 0.4–0.6 cm lengths of tail. Add 180  $\mu$ l Buffer ATL. Add 20  $\mu$ l proteinase K, mix by vortexing, and incubate at 56°C until completely lysed. Vortex occasionally during incubation. Vortex 15 s directly before proceeding to step 2.
- 1b. **Nonnucleated blood:** Pipet 20  $\mu$ l proteinase K into a 1.5 ml or 2 ml microcentrifuge tube. Add 50–100  $\mu$ l anticoagulant-treated blood. Adjust volume to 220  $\mu$ l with PBS. Proceed to step 2.
- 1c. **Nucleated blood:** Pipet 20  $\mu$ l proteinase K into a 1.5 ml or 2 ml microcentrifuge tube. Add 5–10  $\mu$ l anticoagulant-treated blood. Adjust volume to 220  $\mu$ l with PBS. Proceed to step 2.

January 2011



- 1d. **Cultured cells:** Centrifuge a maximum of  $5 \times 10^6$  cells for 5 min at  $300 \times g$  (190 rpm). Resuspend in 200  $\mu\text{l}$  PBS. Add 20  $\mu\text{l}$  proteinase K. Proceed to step 2.
2. Add 200  $\mu\text{l}$  Buffer AL. Mix thoroughly by vortexing. Incubate blood samples at  $56^\circ\text{C}$  for 10 min.
3. Add 200  $\mu\text{l}$  ethanol (96–100%). Mix thoroughly by vortexing.
4. Pipet the mixture into a DNeasy Mini spin column placed in a 2 ml collection tube. Centrifuge at  $\geq 6000 \times g$  (8000 rpm) for 1 min. Discard the flow-through and collection tube.
5. Place the spin column in a new 2 ml collection tube. Add 500  $\mu\text{l}$  Buffer AW1. Centrifuge for 1 min at  $\geq 6000 \times g$ . Discard the flow-through and collection tube.
6. Place the spin column in a new 2 ml collection tube, add 500  $\mu\text{l}$  Buffer AW2, and centrifuge for 3 min at  $20,000 \times g$  (14,000 rpm). Discard the flow-through and collection tube.
7. Transfer the spin column to a new 1.5 ml or 2 ml microcentrifuge tube.
8. Elute the DNA by adding 200  $\mu\text{l}$  Buffer AE to the center of the spin column membrane. Incubate for 1 min at room temperature ( $15\text{--}25^\circ\text{C}$ ). Centrifuge for 1 min at  $\geq 6000 \times g$ .
9. **Optional:** Repeat step 8 for increased DNA yield.

For up-to-date licensing information and product-specific disclaimers, see the respective QIAGEN<sup>®</sup> kit handbook or user manual.

Trademarks: QIAGEN<sup>®</sup>, DNeasy<sup>®</sup> (QIAGEN Group). 1066955 01/2011  
© 2011 QIAGEN, all rights reserved.

