

Bilan de la mobilité de Valérie Troispoux (Tech. INRA) de l'UMR EcoFoG (Kourou) vers l'UR AGPF (Orléans)

Mobilité soutenue par le GDR3544 Sciences du bois
<https://www6.inra.fr/gdr-sciences-du-bois/Soutiens-du-GDR/Mobilite-inter-equipe/Mobilites-soutenues>

Objectif : Optimisation des techniques d'extraction ARN de bois

Dates : du 06/06/16 au 09/06/16

UNITE/VILLE/RESPONSABLE D'ORIGINE : UMR ECOFOG, Kourou, responsable Niklas Tysklind

UNITE/VILLE/RESPONSABLE D'ACCUEIL : UR Amélioration Génétique et Physiologie Forestière, INRA val de Loire, Orléans, encadrants Gilles Pilate et Marie-Claude Lesage-Descauses

Travail réalisé pendant la visite de Valérie Troispoux

Le but de cette visite était pour Valérie d'apprendre les techniques d'extraction d'ARN à partir de tissus de peuplier, avec des protocoles utilisés en routine au laboratoire de l'unité AGPF, permettant d'obtenir des échantillons d'ARN de qualité adaptés aux analyses transcriptomiques de type RNA-Seq.

Les protocoles mis en œuvre ont été les suivants :

- Broyage en N2 liquide d'échantillons de xylème gratté ou de feuilles de peuplier à l'aide du broyeur à billes RETSCH pour l'obtention de poudre.
- Extraction d'ARN à partir de poudre de xylème de peuplier selon un protocole adapté de Chang et al (1993), suivi d'une purification sur colonne Qiagen et avec un traitement DNase pour l'élimination de l'ADN génomique restant.
- Extraction d'ARN à partir de poudre de feuille de peuplier à l'aide du kit RNEasy Plant (Qiagen).
- Estimation de la concentration des échantillons avec le Nanodrop.
- Vérification de la qualité des échantillons ARN avec le bioanalyseur Experion (Biorad)

Ces travaux ont été effectués sur 24 échantillons de peuplier devant être caractérisés ultérieurement par des analyses du transcriptome (qRT-PCR).

Des échanges d'expériences ont eu lieu concernant les avantages /inconvénients des différentes techniques utilisées, sur les conditions d'expérimentation (bien différentes entre Orléans et Kourou !) et sur les problèmes liés à l'échantillonnage.

Référence

Chang S, Puryear J, Cairney J 1993 A simple and efficient method for isolating RNA from pine trees. Plant Mol Biol Rep 11:113–116.