**Extraction DNA Helminthes Rongeurs**

**EZ-10 Spin column Genomic DNA Minipreps Kit, Animal**

**Attention :**

* **Si présence précipité dans la solution ACL, incuber à 37°C jusqu’à dissolution**
* **Ajouter 1 ml d’eau stérile dans le tube contenant la protéinase K et stocker à -20°C**
* **Ajouter 48 ml d’éthanol dans la solution WASH**

**Protocole:**

* Couper 30 mg maximum de tissus et placer l’échantillon dans un tube 1,5 ml.
* Ajouter **300 µl de solution ACL + 20 µl de protéinase K**.
* Incuber à 55°C jusqu’à complète digestion de l’échantillon (environ 3h - vortexer de temps en temps).
* Laisser refroidir puis vortexer 20 sec et centrifuger à 12 000 rpm pendant 5 min.
* Ajouter **300 µl de solution** **AB**, mélanger par inversion du tube et incuber à température ambiante 2 min.
* Si précipité blanc : 10min 65°C
* Charger le lysat sur la colonne EZ-10 et centrifuger à 6 000 rpm pendant 4 min.
* Vider le tube collecteur.
* Ajouter **500 µl de solution** **WASH** et centrifuger à 12 000 rpm pendant 3 min.
* Vider le tube collecteur.
* Ajouter **500 µl de solution** **WASH** et centrifuger à 12 000 rpm pendant 3 min.
* Vider le tube collecteur.
* Centrifuger à 10 000 rpm pendant 2 min pour éliminer la solution WASH résiduelle
* Placer la colonne sur un tube 1,5 ml et ajouter **200 µl de** **tampon d’élution** prélablement chauffé à 55°C directement sur la membrane.

*Remarque : on peut augmenter le volume du tampon d’élution en fonction du type d’échantillon.*

* Incuber pendant 2-3 min à température ambiante pendant
* Centrifuger à 10 000 rpm pendant 2 min
* Redéposer les 200µl sur la colonne et répéter étapes 15 et 16
* Stocker à -20°C.