

# La lyophilisation et la conservation des tissus dans un tampon d'extraction: 2 méthodes de conservation *in situ* des ARNm de banane

Ludivine Lassois et Haïssam Jijakli

Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Unité de Phytopathologie. Passage des Déportés 2, B-5030 Gembloux, Belgique. [lassois.l@fsagx.ac.be](mailto:lassois.l@fsagx.ac.be)

## INTRODUCTION

La banane occupe une place particulièrement importante dans la production mondiale de fruits. L'étude de l'expression différentielle de gènes est l'une des voies importantes permettant de comprendre les mécanismes moléculaires régulant la physiologie de cette plante. Les techniques d'expression différentielles requièrent des méthodes de conservation des ARN dans les échantillons compatibles avec ce type d'analyse. La conservation des ARN est problématique à cause de leur grande instabilité et de leur dégradation rapide par les ribonucléases. Jusqu'à présent la méthode de conservation la plus commune consiste à maintenir les échantillons à très basse température (-80°C). Cependant d'autres méthodes de conservation sans ultra-basse température pourraient présenter un intérêt mais ne sont pas largement documentées. L'objectif de cette étude était d'évaluer deux méthodes de conservation des échantillons collectés en vue de préserver *in situ* les ARN pour des analyses moléculaires ultérieures. Ces méthodes doivent permettre d'éviter toute dégradation d'ARN entre la collecte des échantillons et l'extraction des ARN mais également de conserver le profil de l'expression des gènes au cours du stockage.

## MATERIEL ET METHODE

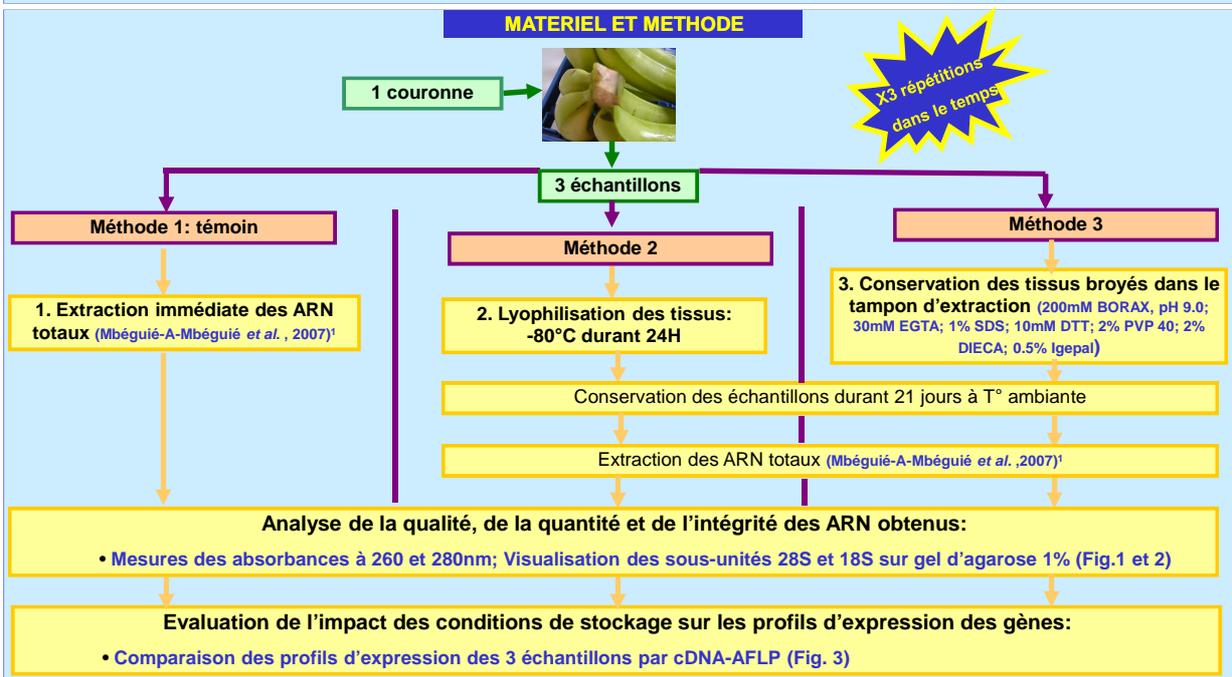
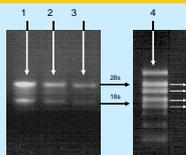


Figure 1: Résultats sur gel d'agarose 1%

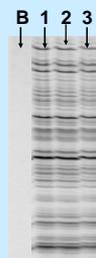


## RESULTATS ET DISCUSSION

Figure 2: Résultats des absorbances et rendements

Méthodes	A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub>	Rendement (µg ARN/g matériel frais)
1	2-2,1	10,2-17,4
2	1,9	10,2-14
3	2,2	12-16,2

Figure 3: Profils cDNA-AFLP



Les deux techniques de conservation proposées dans ce travail sont appropriées pour conserver les ARN *in situ* sans avoir recours aux ultra-basses températures. Les ARN ainsi obtenus sont de bonne qualité (Fig.1 et 2), non dégradés (Fig.1) et aucune perte de rendement n'a été observée (Fig.2). De plus ils peuvent être utilisés pour des applications de biologie moléculaire et le profil d'expression du génome n'est pas altéré par les processus de conservation (Fig.3).

Avantages de la lyophilisation

- Qualité, quantité, intégrité et profil d'expression des ARN conservés
- Les produits lyophilisés peuvent être conservés à T° ambiante
- La lyophilisation ne nécessite pas l'utilisation d'azote liquide
- Les échantillons lyophilisés peuvent être facilement transportés entre laboratoires à T° ambiante
- La quantité d'ARN pouvant être extrait en une seule extraction est supérieure dans les échantillons lyophilisés

<sup>1</sup> Mbéguié-A-Mbéguié *et al.*, 2007. Use of suppression subtractive hybridization approach to identify genes differentially expressed during early banana fruit development undergoing changes in ethylene responsiveness. *Plant Science* 172:1025-1036.