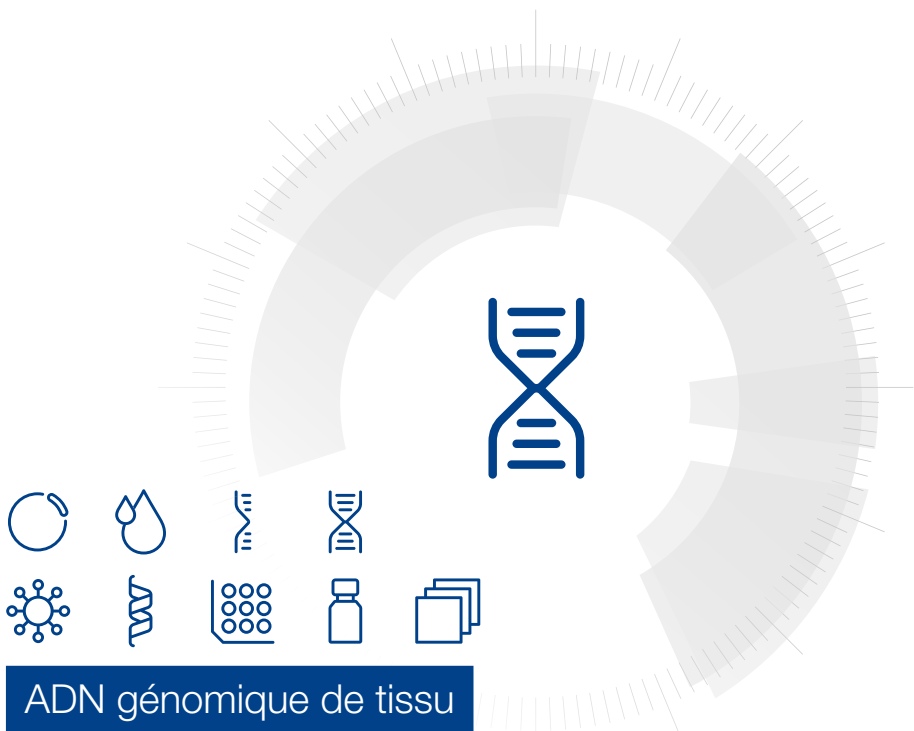


MACHEREY-NAGEL

# Manuel d'utilisation













■ NucleoSpin® Tissue XS

Novembre 2023 / Rev. 11

# ADN génomique de tissu

## Résumé du protocole (Rev. 11)

### NucleoSpin® Tissue XS

1 Préparation d'échantillon		Jusqu'à 2.5 mg tissue
2 Pré-lyse de l'échantillon		80 µL T1 8 µL Protéinase K 56 °C, 1–4 h
3 Lyse de l'échantillon		80 µL B3 70 °C, 5 min
4 Ajustement des conditions de fixation		80 µL d'éthanol
5 Fixation de l'ADN	 	Charger le lysat 11,000 x g, 1 min
6 Lavage de la membrane de silice	 	1 <sup>er</sup> lavage      50 µL B5 11,000 x g, 1 min 2 <sup>ème</sup> lavage      50 µL B5 11,000 x g, 2 min
7 Elution de l'ADN	 	20 µL BE 11,000 x g, 1 min
8 <i>Optionnel</i> :  <i>Elimination de l'éthanol résiduel</i>		<i>Optional</i> : 90 °C, 8 min

## Sommaire

1	Composition du kit	4
1.1	Composants	4
1.2	Réactifs, consommables et équipement nécessaires	5
1.3	À propos de ce manuel	5
2	Description	6
2.1	Principe général	6
2.2	Caractéristiques du kit	6
2.3	Manipulation des échantillons	8
2.4	Procédures d'éluion	9
2.5	Élimination des traces résiduelles d'éthanol pour une sensibilité maximale des applications en aval	9
3	Conditions de stockage et préparation des réactifs	11
4	Instructions de sécurité	12
4.1	Élimination des déchets	12
5	Protocoles	13
5.1	Protocole pour les tissus humains ou animaux	13
5.2	Protocole pour les cellules en culture	16
5.3	Protocole pour les tissus inclus en paraffine	18
5.4	Protocole pour les taches de sang séché (cartes de Guthrie)	21
5.5	Protocole pour les écouillons buccaux	22
5.6	Protocole pour les tissus microdisséqués au laser	24
5.7	Protocole pour les échantillons de sang	25
6	Annexe	26
6.1	Guide de résolution des problèmes	26
6.2	Informations de commande	27
6.3	Restriction d'utilisation / garantie	28
6.4	Versions linguistiques et prédominance	28

# 1 Composition du kit

## 1.1 Composants

NucleoSpin® Tissue XS			
REF	10 prép. 740901.10	50 préps 740901.50	250 préps 740901.250
Tampon de lyse T1	5 mL	10 mL	50 mL
Tampon de lyse B3	10 mL	10 mL	60 mL
Tampon de lavage B5 (Concentré)*	6 mL	6 mL	6 mL
Tampon d'éluion BE**	13 mL	13 mL	13 mL
Protéinase K (lyophilisée)*	6 mg	20 mg	2 × 50 mg
Tampon protéinase PB	1,8 mL	1,8 mL	8 mL
Colonnes NucleoSpin® Tissue XS (bagues verts)	10	50	250
Tubes Collecteurs (2 mL)	20	100	500
Manuel d'utilisation	1	1	1

\* Pour la préparation des réactifs et les conditions de stockage, voir le chapitre 3.

\*\*Composition du tampon d'éluion BE : 5 mM Tris/HCl, pH 8,5

## 1.2 Réactifs, consommables et équipement nécessaires

### Réactifs

- 96 – 100 % d'éthanol

### Consommables

- Tubes de microcentrifugation de 1,5 mL pour la lyse des échantillons et l'éluion de l'ADN
- Cônes jetables

### Équipement

- Pipettes manuelles
- Centrifugeuse pour microtubes
- Vortex
- Bloc chauffant
- Équipement de protection individuelle (blouse, gants, lunettes)

## 1.3 À propos de ce manuel

Il est fortement recommandé de lire les instructions détaillées de ce manuel d'utilisation pour toute première utilisation du kit **NucleoSpin® Tissue XS**. Les utilisateurs expérimentés peuvent toutefois se référer au résumé du protocole. Le résumé du protocole est conçu pour être utilisé uniquement comme un outil supplémentaire pour un suivi rapide des différentes étapes de la procédure de purification.

Toute la documentation technique est disponible sur Internet à l'adresse suivante : **[www.mn-net.com](http://www.mn-net.com)**.

Veuillez contacter le service technique ([tech-bio@mn-net.com](mailto:tech-bio@mn-net.com)) pour obtenir des informations sur les modifications apportées au présent manuel d'utilisation par rapport aux révisions précédentes.

## 2 Description

### 2.1 Principe général

Le kit **NucleoSpin® Tissue XS** est conçu pour la purification efficace de l'ADN génomique à partir de petits échantillons de différents types de cellules et de tissus, tels que des échantillons microdisséqués au laser, de petites quantités de sang ou des tâches de sang séché et des échantillons médico-légaux. Grâce à une conception spéciale en entonnoir, **les colonnes NucleoSpin® Tissue XS** permettent d'éluer dans de très petits volumes (5–30 µL), permettant d'obtenir un ADN très concentré.

La lyse est obtenue par incubation de l'échantillon dans un tampon de lyse additionné de protéinase K. Les conditions appropriées pour la fixation de l'ADN sur une membrane de silice sont créées par l'ajout d'éthanol. L'ajout d'éthanol permet de créer les conditions nécessaires à la fixation de l'ADN sur une membrane de silice. Le mélange est appliqué à la **colonne NucleoSpin® Tissue XS** et l'ADN se lie à la membrane de silice. Deux étapes de lavage ultérieures éliminent efficacement les contaminations et l'ADN très pur est finalement élué avec 5 à 30 µL d'un tampon d'élution légèrement alcalin de faible force ionique (5 mM Tris-HCl, pH 8,5).

### 2.2 Caractéristiques du kit

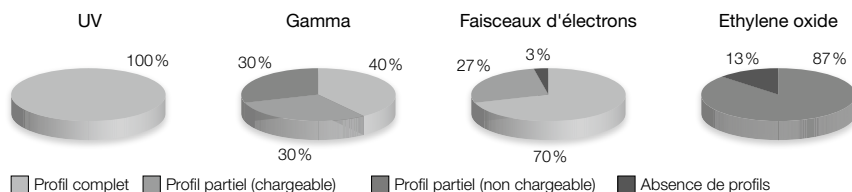
- **NucleoSpin® Tissue XS** est recommandé pour purifier l'ADN génomique à partir de très petits échantillons. Les échantillons typiques sont les cellules fraîches ou congelées, les tissus, les tâches de sang sur les cartes Guthrie / NucleoCard® / FTA (voir les informations de commande), les écouvillons buccaux, les échantillons médico-légaux et autres, voir le résumé des caractéristiques du kit (Tableau 1, page 7).
- **NucleoSpin® Tissue XS** est conçu pour une récupération élevée de petites quantités d'ADN grâce à une conception spéciale de la colonne.
- La conception spéciale de la colonne est liée à un volume mort considérablement réduit qui permet l'élution dans 5–30 µL de tampon d'élution. L'ADN est prêt à être utilisé pour des applications en aval telles que la PCR en temps réel et autres.
- Le temps de préparation est d'environ 20 min/préparation (sans compter l'incubation pour la lyse).
- Le rendement en ADN dépend fortement du type, de la qualité et de la quantité de l'échantillon, voir le résumé des caractéristiques du kit (Tableau 1, page 7).
- La longueur des fragments d'ADN génomique purifiés dépend de la qualité de l'échantillon et peut varier entre 500 pb pour les échantillons microdisséqués au laser ou les échantillons médico-légaux, et jusqu'à 30 kb pour les tissus frais ou les cellules cultivées.

**Tableau 1: Résumé des caractéristiques du kit**

Paramètres	NucleoSpin® Tissue XS
Technologie	Membrane de silice
Format	Colonnes mini à centrifuger (modèle XS)
Taille typique de l'échantillon	<b>Échantillons de tissus</b> : 0,025–10 mg de tissu (par exemple, microdisséqué au laser, frais, congelé), Échantillons de sang : 1–30 µL de sang frais ou congelé, <b>Cellules cultivées</b> : 10 à 10 <sup>4</sup> cellules cultivées, <b>Tissus inclus en paraffine</b> : 0,001–10 mg de tissu. <b>Carte de Guthrie</b> : tâches de 15 à 30 mm <sup>2</sup> (~ 4,4 à 6,2 mm), <b>Écouvillon buccal</b> : 1
Taille du fragment	200 pb-approx. 50 kbp
Rendement typique	Les rendements typiques pour des échantillons sélectionnés sont indiqués ci-dessous : 100 cellules HeLa : 0,1–0,5 ng d'ADN 1000 cellules HeLa : 1–5 ng d'ADN 10000 cellules HeLa : 10–50 ng d'ADN 0,025 mg de foie de souris : 20–100 ng d'ADN 0,25 mg de foie de souris : 200–1000 ng d'ADN 2,5 mg de foie de souris : 600–3000 ng d'ADN
$A_{260}/A_{280}$	1.7–1.9
Volume d'élution	5–30 µL
Temps de préparation	~ 20 min/préparation (hors lyse)
Capacité de fixation	50 µg
Utilisation	Réserver à l'usage de la recherche

- **Produit de qualité médico-légale :**

**NucleoSpin® Tissue XS** est souvent utilisé dans des applications très sensibles et le processus de fabrication a donc été optimisé pour réduire le risque de contamination par l'ADN. MACHEREY-NAGEL dispose d'un processus de production rigoureusement contrôlé afin d'éviter la contamination des consommables par l'ADN. En outre, MACHEREY-NAGEL utilise un traitement à l'oxyde d'éthylène (OE) pour éliminer l'ADN amplifiable qui pourrait encore être introduit au cours du processus de fabrication. Les produits MACHEREY-NAGEL portant le logo de qualité forensic contiennent des composants plastiques traités à l'oxyde d'éthylène. Cela signifie que l'ADN, quel qu'il soit, qui pourrait encore être introduit dans les consommables en plastique au cours du processus de production, est inactivé par le traitement à l'oxyde d'éthylène, afin d'empêcher la génération d'un profil humain accidentel par amplification PCR. Le traitement à l'oxyde d'éthylène s'est révélé être la méthode de choix pour prévenir les profils d'ADN dus à la contamination par l'ADN (Shaw et al. 2008 ; Figure 1).



**Figure 1** Selon Shaw et al, 2008, Comparison of the effects of sterilization techniques on subsequent DNA profiling. *Int J Legal Med* 122 : 29–33.

## 2.3 Manipulation des échantillons

La procédure **NucleoSpin® Tissue XS** est conçue pour de très petits échantillons et les applications typiques en aval sont donc très sensibles. Il est fortement recommandé d'effectuer l'échantillonnage et la purification de l'ADN avec un soin particulier, afin d'éviter une contamination de l'échantillon et de l'ADN purifié par du matériel indésirable contenant de l'ADN (par exemple, empreintes digitales, particules de cheveux, aérosol, poussière).

En outre, une contamination croisée entre les échantillons doit être exclue. Les précautions suivantes sont recommandées :

- Porter un équipement de protection individuelle (blouse, gants, lunettes).
- Utiliser des pointes de pipette résistantes aux aérosols.
- Changer systématiquement d'embout de pipette entre deux transferts de liquide.
- Centrifuger brièvement après les étapes de mélange afin d'éliminer les gouttelettes du bouchon du tube.

## 2.4 Procédures d'élu­tion

Une concentration élevée d'ADN lors de l'élu­tion peut être très important selon les applications ultérieures. Cela est particulièrement essentiel pour les petits volumes de mélange réactionnel pour lesquels la quantité d'ADN ajouté est limitée. En raison d'un volume d'élu­tion élevé par défaut, les kits de purification d'ADN standards conduisent souvent à un ADN faiblement concentré pour de petits échantillons. Cet ADN peut même nécessiter une étape de concentration avant d'être utilisé dans des applications en aval.

Contrairement aux kits standards, le **NucleoSpin® Tissue XS** permet une élu­tion efficace dans un très petit volume, ce qui permet d'obtenir un ADN très concentré.

Un volume d'élu­tion de 20 µL est recommandé par défaut, cependant des volumes allant jusqu'à 5 µL peuvent être appliqués sur la colonnes XS. Une réduction du volume d'élu­tion de 20 µL à 5 – 15 µL augmentera la concentration d'ADN alors que le rendement total d'ADN n'est que légèrement affecté. Une augmentation du volume d'élu­tion à 30 µL ou plus augmentera légèrement le rendement total d'ADN mais réduira la concentration d'ADN. La figure 1 donne une description graphique de la corrélation entre le volume d'élu­tion et la concentration d'ADN et vous aidera ainsi à trouver le volume d'élu­tion optimisé pour votre application.

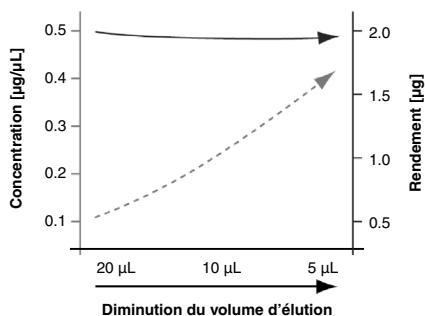


Figure 2 Corrélation entre le volume d'élu­tion et la concentration d'ADN (Colonnes NucleoSpin® Tissue XS)

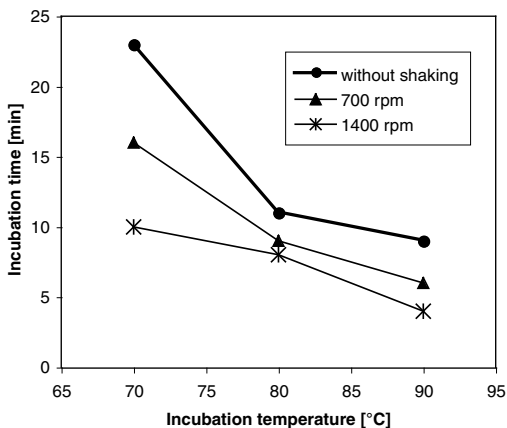
## 2.5 Élimination des traces résiduelles d'éthanol pour une sensibilité maximale des applications en aval

Une réduction du volume d'élu­tion par défaut de 20 µL augmentera la concentration d'éthanol résiduel dans l'éluat. Pour les volumes d'élu­tion de 20 µL, une incubation à chaud (incuber l'éluat avec un bouchon ouvert pendant 8 min à 90 °C) est recommandée si la solution d'ADN éluee représente plus de 20 % du volume final de la PCR afin d'éviter une inhibition des réactions sensibles en aval. Dans ce contexte, veuillez tenir compte des remarques ci-dessous :

- Une incubation de la fraction d'élu­tion à hautes températures augmentera le signal de la PCR. Ceci est particulièrement important si la matrice représente plus de 20 % du volume total de la réaction PCR (par exemple, plus de 4 µL d'éluat utilisés comme matrice dans une réaction PCR d'un volume total de 20 µL). Le matrice peut représenter jusqu'à 40 %\* du volume total de la réaction PCR, si la solution d'ADN est incubée à 90 °C pendant 8 min comme décrit ci-dessus.

\* Le pourcentage maximal de volume de matrice dans une réaction PCR peut varier en fonction de la robustesse du système PCR ; un volume de matrice de 40 % a été testé en utilisant le LightCycler™ PCR (Roche) avec le kit DyNAmo™ Capillary SYBR® Green qPCR Kit (Finnzymes).

- b) Typiquement, 20  $\mu\text{L}$  d'éluat s'évaporent à 12–14  $\mu\text{L}$  lors d'une incubation à chaud pendant 8 min à 90 °C. Si un volume final plus élevé est nécessaire, veuillez augmenter le volume du tampon d'élution, par exemple de 20  $\mu\text{L}$  à 30  $\mu\text{L}$ .
- c) Une incubation de la fraction d'élution pendant 8 minutes à 90 °C dénature l'ADN. Si de l'ADN non dénaturé est nécessaire (pour des applications en aval autres que la PCR ; par exemple la ligation, le clonage), nous recommandons une incubation plus longue à une température inférieure à 80 °C, étant donné que la majorité des fragments d'ADN a un point de fusion supérieur à 80 °C. Suggestion : incuber pendant 17 minutes à 75 °C.
- d) L'incubation de l'ADN élué à des températures supérieures peut être ajustée selon les données présentées dans la figure 2. Les durées et les températures d'incubation indiquées permettent de réduire un volume d'élution de 20  $\mu\text{L}$  à environ 12–14  $\mu\text{L}$  et d'éliminer efficacement les traces d'éthanol comme décrit ci-dessus.
- e) Si le volume initial du tampon d'élution appliqué à la colonne est inférieur à 20  $\mu\text{L}$ , les durées d'incubation à chaud doivent être réduites afin d'éviter une dessiccation complète. Si le volume d'élution est, par exemple, de 5  $\mu\text{L}$ , une incubation à chaud de l'éluat pendant 2 min à 80 °C permet d'éliminer convenablement l'éthanol résiduel.



**Figure 3**

Élimination de l'éthanol résiduel de la fraction d'élution par traitement à chaud.

Afin d'obtenir une sensibilité maximale à la PCR, il est recommandé d'incuber l'éluat à la chaleur. L'incubation à chaud peut être effectuée à des températures comprises entre 70 et 90 °C dans un bloc chauffant, avec ou sans agitation. Les conditions efficaces (température, durée et vitesse d'agitation) pour l'élimination de l'éthanol peuvent être déterminées sur le diagramme ; un volume initial de 20  $\mu\text{L}$  s'évapore à 12–14  $\mu\text{L}$  pendant l'incubation indiquée.

### 3 Conditions de stockage et préparation des réactifs

#### Attention :

*Le tampon B3 contient du sel chaotropique et des détergents. Porter des gants et des lunettes !*

*ATTENTION : Le tampon B3 contient du chlorhydrate de guanidine qui peut former des composés très réactifs lorsqu'il est combiné avec de l'eau de Javel (hypochlorite de sodium). NE PAS ajouter d'eau de Javel ou de solutions acides directement aux déchets provenant de la procédure d'extraction.*

- Tous les composants du kit peuvent être conservés à température ambiante (15–25 °C) et sont stables jusqu'à : voir l'étiquette de l'emballage.
- Lors du stockage, en particulier à de faibles températures, un précipité blanc peut se former dans les tampons T1 ou B3. Ces précipités peuvent être facilement dissous en incubant le flacon à 50–70 °C avant utilisation.

Avant de débuter un protocole **NucleoSpin® Tissue XS**, préparer les éléments suivants :

- **Tampon de lavage B5** : ajouter le volume indiqué (voir le flacon ou le tableau ci-dessous) d'éthanol (96–100 %) au **tampon B5 concentré**. Marquer l'étiquette du flacon pour indiquer que l'éthanol a été ajouté. Conserver le tampon de lavage B5 à température ambiante jusqu'à un an.
- Avant la première utilisation du kit, ajouter le volume indiqué (voir le flacon ou le tableau ci-dessous) de tampon protéinase PB pour dissoudre la **Protéinase K** lyophilisée. La solution de Protéinase K est stable à -20 °C pendant 6 mois.

NucleoSpin® Tissue XS			
REF	10 prép. 740901.10	50 prép. 740901.50	250 prép. 740901.250
Tampon de lavage B5 (concentré)	6 mL Ajouter 24 mL d'éthanol	6 mL Ajouter 24 mL d'éthanol	6 mL Ajouter 24 mL d'éthanol
Protéinase K	6 mg Ajouter 260 µL de tampon protéinase	20 mg Ajouter 1 mL de tampon protéinase	2 × 50 mg Ajouter 2,5 mL de tampon protéinase à chaque flacon

## 4 Instructions de sécurité

Lorsque vous travaillez avec le kit **NucleoSpin® Tissue XS**, portez des vêtements de protection appropriés (par exemple, une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection). Pour plus d'informations, consultez les fiches de données de sécurité appropriées (les FDS sont disponibles en ligne sur <http://www.mn-net.com/msds>).



Attention : Le chlorhydrate de guanidine contenu dans le tampon B3 peut former des composés très réactifs lorsqu'il est combiné à de l'eau de Javel ! Par conséquent, ne pas ajouter d'eau de Javel ou de solutions acides directement aux déchets liquides issus de la procédure.

Les déchets générés par le kit **NucleoSpin® Tissue XS** n'ont pas été testés pour la présence de matériel infectieux résiduel. Une contamination des déchets liquides par du matériel infectieux résiduel est hautement improbable en raison du tampon de lyse fortement dénaturant et du traitement à la protéinase K, mais elle ne peut être totalement exclue. Par conséquent, les déchets liquides doivent être considérés comme infectieux et doivent être manipulés et éliminés conformément aux réglementations de sécurité locales.

### 4.1 Élimination des déchets

Éliminer les substances dangereuses, potentiellement infectieuses ou contaminées par du matériel biologique de manière sûre et conforme aux dispositions réglementaires locales.

## 5 Protocoles

### 5.1 Protocole pour les tissus humains ou animaux

Avant de débuter la préparation :

- Vérifier que le tampon de lavage B5 et la protéinase K ont été préparés conformément au chapitre 3.
- Régler la température du bloc chauffant à 56 °C et équilibrer l'échantillon à la température ambiante.

#### 1 Préparation de l'échantillon

Placer l'échantillon de **2,5 mg maximum** dans un tube de microcentrifugation de 1,5 mL (non fourni).

*Pour les échantillons de 2,5 à 10 mg, doubler les volumes de protéinase K à l'étape 2 soit 16 µL, et de tampon T1, tampon B3 et éthanol aux étapes 2, 3 et 4 soit 160 µL chacun.*

#### 2 Prélyse de l'échantillon

Ajouter **80 µL de tampon T1** et **8 µL de solution de protéinase K** et mélanger en vortexant 2 × 5 s. Veiller à ce que l'échantillon soit complètement recouvert de solution de lyse.



**+80 µL T1**  
**+8 µL**  
**Protéinase K**

*Si l'on traite plusieurs échantillons, la protéinase K et le tampon T1 peuvent être pré-mixer directement avant l'utilisation. Ne jamais mélanger le tampon T1 et la protéinase K plus de 10 à 15 minutes avant de les ajouter à l'échantillon : la protéinase K a tendance à s'autodigérer dans le tampon T1 sans substrat.*

Incuber à **56 °C** jusqu'à obtention d'une lyse complète (environ **1 à 4 h** ou **toute la nuit**). Vortexer de temps en temps pendant l'incubation ou utiliser un incubateur à agitation. À la fin de l'incubation, régler la température du bloc chauffant à 70 °C pour l'étape suivante.

**56 °C,**  
**1 – 4 h**

ou

**56 °C,**  
**pendant une**  
**nuit**

*Si l'ADN sans ARN est crucial pour les applications en aval, une digestion à la RNase peut être effectuée : Ajouter 20 µL de solution de RNase A (20 mg/mL) (non fournie ; voir les informations de commande) et incubé pendant 5 minutes supplémentaires à température ambiante.*

*Note : Dans de rares cas, il peut être utile d'augmenter la quantité de protéinase K de 8 µL à 16 µL.*

**3 Lyse de l'échantillon**

Ajouter **80 µL de tampon B3**, mélanger au vortex  $2 \times 5$  s et incuber à  $70\text{ °C}$  pendant 5 min. Vortexer brièvement à la fin de l'incubation.



**+80 µL B3**  
**70 °C,**  
**5 min**

*Optionnel : régler la température du bloc chauffant à  $90\text{ °C}$  pour la dernière étape du protocole.*

Laisser le lysat refroidir à température ambiante.

*Un précipité blanc peut se former dans le lysat lors de l'ajout du tampon B3, en particulier si de très petits échantillons sont utilisés. Les précipités se dissolvent pendant l'étape d'incubation à  $70\text{ °C}$ .*

*Si des particules insolubles sont visibles après les étapes d'incubation à chaud, centrifuger pendant 5 minutes à grande vitesse (par exemple,  $11,000 \times g$ ) et transférer le surnageant dans un nouveau tube de microcentrifugation (non fourni).*

**4 Ajustement des conditions de fixation de l'ADN**

Ajouter **80 µL d'éthanol (96–100 %)** au lysat et mélanger en vortexant  $2 \times 5$  s.



**+80 µL**  
**d'éthanol**

Centrifuger brièvement pour éliminer les gouttes du bouchon.

**5 Fixation de l'ADN**

Pour chaque échantillon, placer une **colonne NucleoSpin® Tissue XS** dans un **tube collecteur (2 mL)**. Appliquer l'échantillon sur la colonne. Centrifuger pendant **1 minute** à  **$11,000 \times g$** . Éliminer le filtrat et placer la colonne dans un nouveau tube collecteur (2 mL).



**Charger le lysat**



**$11\ 000 \times g$ ,**  
**1 min**

*Si l'échantillon n'est pas passé complètement à travers la membrane, répéter l'étape de centrifugation à  $11,000 \times g$ .*

**6 Lavage de la membrane de silice**

1<sup>er</sup> lavage

Ajouter **50 µL de tampon B5** à la colonne NucleoSpin® Tissue XS. Centrifuger pendant **1 min à 11,000 x g**. Il n'est pas nécessaire de jeter le filtrat. Réutiliser le tube collecteur.



+50 µL B5

11 000 x g,  
1 min



2<sup>ème</sup> lavage

Ajouter **50 µL de tampon B5** à la colonne NucleoSpin® Tissue XS. Centrifuger pendant **2 minutes à 11,000 x g**. Jeter le tube collecteur avec le filtrat.



+50 µL B5

11 000 x g,  
2 min



**7 Elution de l'ADN**

Placer la colonne NucleoSpin® Tissue XS dans un nouveau tube de microcentrifugation de 1,5 mL (non fourni) et appliquer **20 µL de tampon BE** directement au centre de la membrane de silice de la colonne. Centrifuger pendant **1 min à 11,000 x g**.



+20 µL BE

11 000 x g,  
1 min



Le volume d'élué peut varier d'environ 5 à 30 µL. Pour une corrélation entre le volume d'élué, la concentration d'ADN et la quantité d'ADN élué de la colonne, voir les paragraphes 2.4–2.5.

**8 Optionnel: Éliminer l'éthanol résiduel**

*Incuber la fraction d'élué avec le bouchon ouvert pendant **8 minutes à 90 °C**.*



**Optionnel :**

**8 min,  
90 °C**

*Voir le paragraphe 2.5 pour d'autres commentaires et d'autres durées et températures d'incubation pour l'élimination de l'éthanol résiduel.*

## 5.2 Protocole pour les cellules en culture

### Avant de débuter la préparation :

- Vérifier que le tampon de lavage B5 et la protéinase K ont été préparés conformément au chapitre 3.
- Régler la température du bloc chauffant à 56 °C et équilibrer l'échantillon à la température ambiante.

#### 1 Préparation de l'échantillon

Remettre en suspension jusqu'à  $10^4$  cellules dans un volume final de **80 µL de tampon T1**.



**+80 µL T1**

#### 2 Prélyse de l'échantillon

Ajouter **8 µL** de solution de **protéinase K** et mélanger en vortexant 2 × 5 s.

**+8 µL  
Protéinase K**

Incuber à **56 °C** pendant **10 minutes**. Ajuster la température du bloc chauffant à 70 °C à la fin de l'incubation pour l'étape suivante.

**56 °C,  
10 min**

*Si l'on traite plusieurs échantillons, la protéinase K et le tampon T1 peuvent être pré-mixer directement avant l'utilisation. Ne jamais mélanger le tampon T1 et la protéinase K plus de 10 à 15 minutes avant de les ajouter à l'échantillon : La protéinase K a tendance à s'autodigérer dans le tampon T1 sans substrat.*



*Note : Dans de rares cas, il peut être utile d'augmenter la quantité de protéinase K de 8 µL à 16 µL.*

#### 3 Lyse de l'échantillon

Ajouter **80 µL de tampon B3**, mélanger au vortex 2 × 5 s et incuber à 70 °C pendant 5 min. Vortexer brièvement à la fin de l'incubation.

**+80 µL B3**

**70 °C,  
5 min**

*Optionnel : Régler la température du bloc chauffant à 90 °C pour la dernière étape du protocole.*

Laisser le lysat refroidir à température ambiante.

*Un précipité blanc peut se former dans le lysat lors de l'ajout du tampon B3, en particulier si de très petits échantillons sont utilisés. Les précipités se dissolvent pendant l'étape d'incubation à 70 °C.*



*Si des particules insolubles sont visibles après l'incubation à chaud, centrifuger pendant 5 minutes à grande vitesse (par exemple, 11,000 x g) et transférer le surnageant dans un nouveau tube de microcentrifugation (non fourni).*

**4 Ajustement des conditions de fixation**

Ajouter **80 µL d'éthanol** (96 – 100 %) au lysat et mélanger en vortexant 2 x 5 s.

Centrifuger brièvement pour éliminer les gouttes du bouchon.



**+80 µL  
d'éthanol**

**5 Fixation de l'ADN**

Pour chaque échantillon, placer une **colonne NucleoSpin® Tissue XS** dans un **tube collecteur (2 mL)**. Appliquer l'échantillon sur la colonne. Centrifuger pendant **1 minute à 11,000 x g**. Éliminer le filtrat et placer la colonne dans un nouveau tube collecteur (2 mL).

*Si l'échantillon n'est pas passé complètement à travers la membrane, répéter l'étape de centrifugation à 11,000 x g.*



**Charger le lysat**



**11 000 x g,  
1 min**

**6 Lavage de la membrane de silice****1<sup>er</sup> lavage**

Ajouter **50 µL de tampon B5** à la colonne NucleoSpin® Tissue XS. Centrifuger pendant **1 min à 11,000 x g**. Il n'est pas nécessaire de jeter le filtrat. Réutiliser le tube collecteur.



**+50 µL B5  
11 000 x g,  
1 min**

**2<sup>ème</sup> lavage**

Ajouter **50 µL de tampon B5** directement sur la membrane de la colonne NucleoSpin® Tissue XS. Centrifuger pendant **2 minutes à 11,000 x g**. Jeter le filtrat avec le tube collecteur.



**+50 µL B5  
11 000 x g,  
2 min**

**7 Elution de l'ADN**

Placer la colonne NucleoSpin® Tissue XS dans un nouveau tube de microcentrifugation de 1,5 mL (non fourni) et appliquer **20 µL de tampon BE** directement au centre de la membrane de silice de la colonne. Centrifuger pendant **1 min à 11,000 x g**.

*Le volume d'élué peut varier d'environ 5 à 30 µL. Pour une corrélation entre le volume d'élué, la concentration d'ADN et la quantité d'ADN élué de la colonne, voir le paragraphe 2.4 – 2.5.*



**+20 µL BE  
11 000 x g,  
1 min**

**8 Optionnel : Éliminer l'éthanol résiduel**

Incuber la fraction d'élué avec le bouchon ouvert pendant **8 minutes à 90 °C**.

Voir le paragraphe 2.5 pour d'autres commentaires et d'autres durées et températures d'incubation pour l'élimination de l'éthanol résiduel.



**En option :  
8 min,  
90 °C**

## 5.3 Protocole pour les tissus inclus en paraffine

---

### 1 Préparation de l'échantillon

En alternative à ce protocole, le kit NucleoSpin® FFPE DNA (voir les informations relatives à la commande) est recommandé pour les échantillons FFPE.

Préparer de petites sections (jusqu'à 3 mg ; pour des échantillons plus importants, voir les indications ci-dessous) à partir de blocs de tissus fixés et inclus. Si possible, enlever l'excès de paraffine du bloc avant de le découper. Manipuler les coupes avec des pinces ou des cure-dents et placer les échantillons dans des tubes de microcentrifugation (non fournis).

Ajouter **300 µL de n-octane ou de xylène** dans chaque tube. Vortexer vigoureusement et incubé à température ambiante pendant environ 30 min. Vortexer de temps en temps.

Centrifuger à **11,000 x g** pendant **3 minutes**. Prélever le surnageant à la pipette.

Ajouter **1 mL d'éthanol** (96–100%) dans chaque tube. Fermer et mélanger en inversant plusieurs fois. Centrifuger à **11,000 x g** pendant **3 minutes**. Prélever le surnageant à la pipette.

Répéter l'étape de lavage à l'éthanol. Prélever à la pipette la plus grande quantité possible d'éthanol.

Incuber le tube ouvert à **37 °C** jusqu'à évaporation de l'éthanol (~ **15 min**).

Note : pour les échantillons de 3 à 10 mg, les volumes de tampon T1, B3 et d'éthanol aux étapes 2, 3 et 4 doivent être doublés (160 µL chacun). Cependant, pour les échantillons plus importants, le volume indiqué (300 µL) de n-octane ou de xylène peut également être utilisé.

---

## 2 Prélyse de l'échantillon

Ajouter **80 µL de tampon T1** et **8 µL de solution de protéinase K** et mélanger en vortexant 2 × 5 s. Veiller à ce que l'échantillon soit complètement recouvert de solution de lyse.

*Si l'on traite plusieurs échantillons, la protéinase K et le tampon T1 peuvent être pré-mixer directement avant l'utilisation. Ne jamais mélanger le tampon T1 et la protéinase K plus de 10 à 15 minutes avant de les ajouter à l'échantillon : la protéinase K a tendance à s'autodigérer dans le tampon T1 sans substrat.*

Incuber à **56 °C** jusqu'à obtention d'une lyse complète (environ **1 à 4 h** ou **toute la nuit**). Vortexer de temps en temps pendant l'incubation ou utiliser un incubateur à agitation. À la fin de l'incubation, régler la température du bloc chauffant à 70 °C pour l'étape suivante.

Note : Dans de rares cas, il peut être utile d'augmenter la quantité de protéinase K de 8 µL à 16 µL.

+80 µL T1

+8 µL  
Protéinase K



56 °C,  
1 – 4 h

ou

56 °C,  
pendant une  
nuit

## 3 Lyse de l'échantillon

Ajouter **80 µL de tampon B3**, mélanger au vortex 2 × 5 s et incuber à 70 °C pendant 5 min. Vortexer brièvement à la fin de l'incubation.

*Optionnel : Régler la température du bloc chauffant à 90 °C pour la dernière étape du protocole.*

Laisser le lysat refroidir à température ambiante.

*Un précipité blanc peut se former dans le lysat lors de l'ajout du tampon B3, en particulier si de très petits échantillons sont utilisés. Les précipités se dissolvent pendant l'étape d'incubation à 70 °C.*

*Si des particules insolubles sont visibles après l'incubation à chaud, centrifuger pendant 5 minutes à grande vitesse (par exemple 11,000 x g) et transférer le surnageant dans un nouveau tube de microcentrifugation (non fourni).*

+80 µL B3

70 °C,  
5 min



## 4 Ajustement des conditions de fixation

Ajouter **80 µL d'éthanol** (96 – 100 %) au lysat et mélanger en vortexant 2 × 5 s.

Centrifuger brièvement pour éliminer les gouttes du bouchon.



+80 µL  
d'éthanol

## 5 Fixation de l'ADN

Pour chaque échantillon, placer une **colonne NucleoSpin® Tissue XS** dans un **tube collecteur (2 mL)**. Appliquer l'échantillon sur la colonne. Centrifuger pendant **1 minute à 11,000 x g**. Eliminer le filtrat et placer la colonne dans un nouveau tube collecteur (2 mL).



**Charger le lysat**

*Si l'échantillon n'est pas passé complètement à travers la membrane, répéter l'étape de centrifugation à 11,000 x g.*



**11 000 x g,  
1 min**

## 6 Lavage de la membrane de silice

### 1<sup>er</sup> lavage

Ajouter **50 µL de tampon B5** à la colonne NucleoSpin® Tissue XS. Centrifuger pendant **1 min à 11,000 x g**. Il n'est pas nécessaire de jeter le filtrat. Réutiliser le tube collecteur.



**+50 µL B5  
11 000 x g,  
1 min**

### 2<sup>ème</sup> lavage

Ajouter **50 µL de tampon B5** directement sur la membrane de la colonne NucleoSpin® Tissue XS. Centrifuger pendant **2 minutes à 11,000 x g**. Jeter le tube collecteur avec le filtrat.



**+50 µL B5  
11 000 x g,  
2 min**

## 7 Elution de l'ADN

Placer la colonne NucleoSpin® Tissue XS dans un nouveau tube de microcentrifugation de 1,5 mL (non fourni) et appliquer **20 µL de tampon BE** directement au centre de la membrane de silice de la colonne. Centrifuger pendant **1 min à 11,000 x g**.



**+20 µL BE**

*Le volume d'éluat peut varier d'environ 5 à 30 µL. Pour une corrélation entre le volume d'éluat, la concentration d'ADN et la quantité d'ADN élué de la colonne, voir les paragraphes 2.4–2.5.*



**11 000 x g,  
1 min**

## 8 Optionnel : Éliminer l'éthanol résiduel

*Incuber la fraction d'éluat avec le bouchon ouvert pendant 8 minutes à 90 °C.*



**En option :**

*Voir le paragraphe 2.5 pour d'autres commentaires et d'autres durées et températures d'incubation pour l'élimination de l'éthanol résiduel.*

**8 min,  
90 °C**

## 5.4 Protocole pour les taches de sang séché (cartes de Guthrie)

### Avant de débiter la préparation :

- Vérifier que le tampon de lavage B5 et la protéinase K ont été préparés conformément au chapitre 3.
  - Régler la température du bloc chauffant 56 °C et équilibrer l'échantillon à la température ambiante.
- 

#### 1 Préparation de l'échantillon

Découper une tâche de sang séché. N'utilisez que du papier imbibé de sang. Découper les tâches en petits morceaux et les placer dans un tube de microcentrifugation de 1,5 mL (non fourni).

La surface de la tâche de sang séché doit être inférieure à 30 mm<sup>2</sup> (correspond à environ 20 µL de sang).

---

#### 2 Prélyse de l'échantillon

Ajouter **160 µL de tampon T1** et mélanger en vortexant pendant 2 × 5 s.

Incuber l'échantillon pendant **10 minutes** à **94 °C**. Régler ensuite la température du bloc chauffant à 56 °C pour l'étape suivante. Laissez l'échantillon refroidir jusqu'à la température ambiante. Ajouter **16 µL** de solution de **protéinase K**. Mélangez par vortex et centrifuger l'échantillon brièvement.

Incuber à **56 °C** pendant **1 heure**. Vortexer de temps en temps pendant l'incubation ou utiliser un incubateur à agitation. Régler le bloc chauffant à 70 °C pour l'étape suivante.

*Veiller à ce que l'échantillon soit complètement recouvert de tampon de lyse pendant l'incubation.*

*Si l'on traite plusieurs échantillons, la protéinase K et le tampon T1 peuvent être pré-mixer directement avant l'utilisation. Ne jamais mélanger le tampon T1 et la protéinase K plus de 10 à 15 minutes avant de les ajouter à l'échantillon : la protéinase K a tendance à s'autodigérer dans le tampon T1 sans substrat.*

---

#### 2a Séparer la solution de lyse des morceaux de papier

##### Alternative A :

Placer un **NucleoSpin® Filter** (non fourni ; voir les informations relatives à la commande) dans un tube collecteur (2 mL). Transférer le lysat complet, y compris les morceaux de papier, avec une pointe de pipette de 1 mL sur le NucleoSpin® Filter. Centrifuger pendant 1 minute à **11,000 x g**. Jeter le NucleoSpin® Filter. Poursuivre avec le flow-through.

##### Alternative B :

Transférer autant que possible la solution de lysat dans un tube de microcentrifugation de 1,5 mL (non fourni). Jeter les morceaux de papier et continuer avec la solution récupérée.

---

### 3 Lyse de l'échantillon

Ajouter **160 µL de tampon B3**, mélanger au vortex 2 × 5 s et incuber à **70 °C** pendant **5 min**. Vortexer brièvement après l'incubation.

Laisser le lysat refroidir à température ambiante.

---

### 4 Ajustement des conditions de fixation

Ajouter **160 µL d'éthanol (96 – 100 %)** à l'échantillon et mélanger au vortex 2 × 5 s.

Centrifuger brièvement pour éliminer les gouttes du bouchon.

---

Passer à l'étape 5 (fixation de l'ADN) du protocole standard (voir le point 5.1).

---

## 5.5 Protocole pour les écouvillons buccaux

### Avant de débiter la préparation :

- Vérifier que le tampon de lavage B5 et la protéinase K ont été préparés conformément au chapitre 3.
  - Régler la température du bloc chauffant à 56 °C et équilibrer l'échantillon à la température ambiante.
  - Des tampons supplémentaires T1 et B3 peuvent être nécessaires, voir les informations de commande.
- 

### 1 Préparation de l'échantillon

Prélever les échantillons avec des écouvillons en coton, en dacron® (Daigger) ou en C.E.P. (Gibco BRL).

Grattez fermement l'intérieur de chaque joue plusieurs fois et laissez les tampons sécher à l'air libre.

*La personne concernée ne doit pas avoir consommé de nourriture ou de boisson dans les 30 minutes précédant le prélèvement des échantillons.*

---

### 2 Prélyse de l'échantillon

Placer le matériau sec de l'écouvillon dans des tubes de microcentrifugation de 1,5 mL (non fournis).

Ajouter un mélange de **200 à 400 µL de tampon T1** et de **20 à 40 µL de solution de protéinase K**.

*Une quantité supplémentaire de tampon T1 et de protéinase K est nécessaire pour cette application (voir les informations relatives à la commande, paragraphe 6.2).*

La quantité appropriée de tampon T1 dépend de la taille réelle du type d'écouvillon buccal. Veiller à ce que l'écouvillon buccal soit entièrement recouvert de tampon de lyse pendant l'incubation.

Mélanger au vortex **2 à 5 s** et incuber **10 min** à **56 °C**.

---

## 2a Séparation de la solution de lyse des écouvillons buccaux

### Alternative A :

Placer un **NucleoSpin® Filter** (non fourni ; voir les informations relatives à la commande) dans un tube collecteur (2 mL). Transférer l'extrémité de l'écouvillon (couper la tige de l'écouvillon) et la solution restante sur le NucleoSpin® Filter. Centrifuger pendant **1 minute à 11 000 x g**. Jeter le NucleoSpin® Filter. Poursuivre avec le flow-through.

### Alternative B :

Transférer autant que possible la solution de lysat dans un tube de microcentrifugation de 1,5 mL (non fourni). Jeter l'écouvillon et continuer avec la solution récupérée.

---

## 3 Lyse de l'échantillon

Ajouter **un volume de tampon B3** (200–400 µL), vortexer 2 × 5 s et incubé à **70 °C** pendant **5 min**. Vortexer brièvement après l'incubation.

Laisser le lysat refroidir à température ambiante.

---

## 4 Ajustement des conditions de fixation

Ajouter **un volume d'éthanol** (96–100 % ; 200–400 µL) à chaque échantillon et mélanger au vortex 2 × 5 s.

Centrifuger brièvement pour éliminer les gouttes du bouchon.

---

Passer à l'étape 5 (fixation de l'ADN) du protocole standard (voir le point 5.1).

---

## 5.6 Protocole pour les tissus microdisséqués au laser

### Avant de débiter la préparation :

- Vérifier que le tampon de lavage B5 et la protéinase K ont été préparés conformément au chapitre 3.
  - Régler la température du bloc chauffant à 56 °C et équilibrer l'échantillon à la température ambiante.
  - L'extraction d'ADN génomique à partir d'échantillons microdisséqués au laser est un défi : la quantité d'échantillon est très faible et la qualité de l'ADN est affectée par les procédures de fixation et de coloration. L'utilisation de cryosections ou de procédures de fixation et de coloration différentes doit toujours être considérée comme une alternative.
- 

#### 1 Préparation de l'échantillon

Placer l'échantillon microdisséqué au laser dans un tube de microcentrifugation de 1,5 mL (non fourni).

---

#### 2 Prélyse de l'échantillon

Ajouter **80 µL de tampon T1** et **8 µL de solution de protéinase K**.

Mélanger au vortex **2 à 5 s** et incuber pendant environ **1 à 4 h ou toute la nuit à 56 °C**.

*Le temps d'incubation optimal peut varier en fonction du type et de la quantité d'échantillon.*

*Note : Dans de rares cas, il peut être utile d'augmenter la quantité de protéinase K de 8 µL à 16 µL.*

---

#### 3 Lyse de l'échantillon

Ajouter **80 µL de tampon B3**, vortexer 2 × 5 s et incuber à **70 °C** pendant **5 min**. Vortexer brièvement après l'incubation.

Laisser le lysat refroidir à température ambiante.

---

#### 4 Ajustement des conditions de fixation

Ajouter **80 µL d'éthanol (96–100 %)** à chaque échantillon et mélanger en vortexant 2 × 5 s.

Centrifuger brièvement pour éliminer les gouttes du bouchon.

---

Passer à l'étape 5 (fixation de l'ADN) du protocole standard (voir le point 5.1).

---

## 5.7 Protocole pour les échantillons de sang

### Avant de débuter la préparation :

- Vérifier que le tampon de lavage B5 et la protéinase K ont été préparés conformément au chapitre 3.
  - Régler la température du bloc chauffant à 70 °C et équilibrer l'échantillon à la température ambiante.
- 

#### 1 Préparation de l'échantillon

Pas nécessaire

---

#### 2 Lyse des échantillons de sang

Pipeter **8 µL** de solution de **protéinase K** et **jusqu'à 20 µL de sang** dans un tube de microcentrifugation de 1,5 mL (non fourni).

Ajouter **60 µL de tampon T1**.

Note : pour les échantillons de sang plus importants (20–30 µL), ajouter 16 µL de protéinase K et ajouter 120 µL de tampon T1. Les volumes de tampon B3 et d'éthanol doivent être augmentés à 160 µL au cours de la procédure suivante.

---

#### 3 Lyse de l'échantillon

Ajouter **80 µL de tampon B3** à l'échantillon et agiter vigoureusement le mélange au vortex (10–20 s).

Incuber les échantillons à **70 °C** pendant **10 à 15 minutes**.

---

#### 4 Ajustement des conditions de fixation

Ajouter **80 µL d'éthanol** (96–100 %) au lysat et mélanger au vortex 2 × 5 s.

Centrifuger brièvement pour éliminer les gouttes du bouchon.

---

#### 5 Fixation de l'ADN

Pour chaque échantillon, placer une colonne NucleoSpin® Tissue XS dans un tube collecteur (2 mL). Appliquer l'échantillon sur la colonne. Centrifuger pendant **1 minute** à **11,000 x g**. Jeter le filtrat et placer la colonne dans un nouveau tube collecteur (2 mL).

---

Passer à l'étape 6 (lavage de la membrane de silice) du protocole standard (voir paragraphe 5.1).

---

## 6 Annexe

### 6.1 Guide de résolution des problèmes

Problème	Cause possible et suggestions
Faible rendement d'ADN	<p><i>Faible teneur en ADN de l'échantillon</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>La teneur en ADN dépend fortement du type, de la quantité et de la qualité de l'échantillon.</li> </ul>
Colmatage de la colonne	<p><i>L'échantillon contient des débris cellulaires ou des cellules résiduelles</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Le lysat peut contenir des matières particulières résiduelles. Veiller utiliser après l'étape de lyse qu'un lysat clair avant d'ajouter de l'éthanol pour créer les conditions de liaison.</li> </ul>
Pas d'augmentation du signal PCR malgré l'augmentation du volume de l'éluat utilisé comme matrice dans la PCR	<p><i>Éthanol résiduel dans l'éluat</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Voir la description détaillée de l'élimination des traces résiduelles d'éthanol au paragraphe 2.6.</li> </ul>
Divergence entre les valeurs de quantification de l' $A_{260}$ et les valeurs de quantification de la PCR	<p><i>Abrasion de la membrane par la silice</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>En raison de la faible teneur en ADN des très petits échantillons et de la faible quantité totale d'ADN isolé qui en résulte, la quantification de l'ADN par la mesure d'absorption <math>A_{260}</math> est souvent entravée par la faible sensibilité de la mesure d'absorption. Lorsque les mesures d'absorption sont prises à la limite de détection du photomètre, la mesure peut être influencée par une légère abrasion de la silice. Afin d'éviter une quantification incorrecte de petites quantités d'ADN, centrifuger l'éluat pendant 30 s à <math>&gt; 11\ 000 \times g</math> et prélever une aliquote pour la mesure sans perturber le sédiment. Une autre solution consiste à utiliser une méthode de quantification de l'ADN insensible à l'abrasion de la silice (par exemple, le colorant fluorescent PicoGreen®).</li> </ul>
Rapport $A_{260}/A_{280}$ inattendu	<p><i>Mesure hors de la plage de la limite de détection du photomètre</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Pour obtenir un rapport <math>A_{260}/A_{280}</math> significatif, il est nécessaire que les valeurs <math>A_{260}</math> et <math>A_{280}</math> initialement mesurées soient nettement supérieures à la limite de détection du photomètre utilisé. Une valeur <math>A_{280}</math> proche du bruit de fond du photomètre entraînera des rapports <math>A_{260}/A_{280}</math> inattendus.</li> </ul>

## 6.2 Informations de commande

Produit	REF	Conditionnement
NucleoSpin® Tissue XS	740901.10 / .50 / .250	10 / 50 / 250
NucleoSpin® Tissue	740952.10 / .50 / .250	10 / 50 / 250
NucleoSpin® DNA FFPE XS	740980.10 / .50 / .250	10 / 50 / 250
Tampon T1	740940.25	50 mL
Tampon B3	740920	100 mL
Tampon B5 (Concentré) (pour 100 mL de tampon B5)	740921	20 mL
Tampon BE	740306.100	100 mL
Protéinase K	740506	100 mg
RNase A	740505.50 7410505	50 mg 100 mg
NucleoSpin® Forensic Filters	740988.10 / .50 / .250	10 / 50 / 250 pièces
NucleoSpin® Forensic Filters (en vrac)	740988.50B / .250B / 1000B	50 / 250 / 1000 pièces
NucleoCard®	740403.10 / .100	10 / 100
NucleoSpin® Filters	740606	50
Tubes Collecteurs (2 mL)	740600	1000

Visitez le site [www.mn-net.com](http://www.mn-net.com) pour obtenir des informations plus détaillées sur le produit.

## 6.3 Restriction d'utilisation / garantie

Tous les produits MACHEREY-NAGEL sont conçus uniquement pour l'usage auquel ils sont destinés. Ils ne sont pas destinés à être utilisés pour un autre usage. La description de l'usage prévu des produits est disponible dans les notices originales des produits MACHEREY-NAGEL. Avant d'utiliser nos produits, veuillez lire attentivement le mode d'emploi et les consignes de sécurité figurant dans la Fiche de Données de Sécurité du produit.

Ce produit MACHEREY-NAGEL comporte une documentation énonçant les spécifications et d'autres informations techniques. MACHEREY-NAGEL garantit la conformité du produit aux spécifications déclarées. La garantie fournie est limitée aux spécifications et descriptions des données indiquées dans la documentation originale MACHEREY-NAGEL.

Aucune autre déclaration, verbale ou écrite, par des employés, agents ou représentants de MACHEREY-NAGEL n'est autorisée, à l'exception des déclarations écrites signées par un représentant dûment habilité de MACHEREY-NAGEL. Le client ne doit pas s'y fier et elles ne font pas partie d'un contrat de vente ou de la présente garantie.

La responsabilité pour tous les dommages éventuels survenant en lien avec nos produits est limitée au strict minimum, comme indiqué dans les conditions générales de vente de MACHEREY-NAGEL, dans leur dernière version, disponibles sur le site internet de la société. MACHEREY-NAGEL n'assume aucune autre garantie.

Les produits et leur application sont susceptibles de modifications. Par conséquent, veuillez contacter notre Equipe Service Technique pour obtenir les informations les plus récentes sur les produits MACHEREY-NAGEL. Vous pouvez également contacter votre revendeur local pour obtenir des informations scientifiques à caractère général. Les descriptions figurant dans la documentation MACHEREY-NAGEL sont fournies à titre d'information uniquement.

Dernière mise à jour : 08/2022, Rev. 04

Veuillez contacter :  
MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG  
Tel. : +49 24 21 969-333  
support@mn-net.com

## 6.4 Versions linguistiques et prédominance

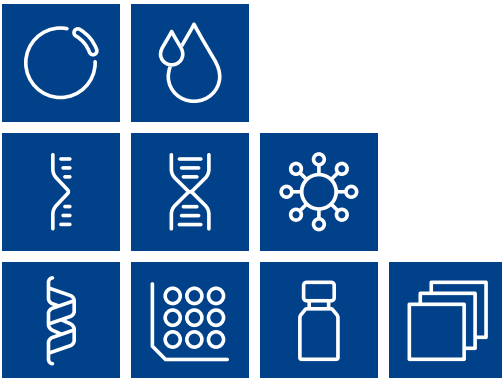
Ce document est disponible en plusieurs langues. En cas de divergence ou de problème d'interprétation, la version anglaise prévaut.

---

Marques déposées :

Dacron® est une marque déposée de Daigger.  
DyNAmo™ est une marque de Finnzymes Oy  
LightCycler™ est une marque déposée d'un membre du groupe Roche  
NucleoSpin® est une marque déposée de MACHEREY-NAGEL GmbH & Co KG  
PicoGreen® est une marque déposée de Molecular Probes, Inc.  
SYBR® est une marque déposée de Molecular Probes, Inc.

Tous les noms et dénominations utilisés peuvent être des marques, des marques déposées ou des marques enregistrées par leurs propriétaires respectifs, même s'ils ne sont pas des dénominations spéciales. La mention de produits et de marques n'est qu'une information (c'est-à-dire qu'elle ne porte pas atteinte aux marques et aux marques déposées et ne peut être considérée comme une recommandation ou une évaluation). En ce qui concerne ces produits ou services, nous ne pouvons accorder aucune garantie quant à leur sélection, leur efficacité ou leur fonctionnement.



Plasmid DNA

Clean up

RNA

DNA

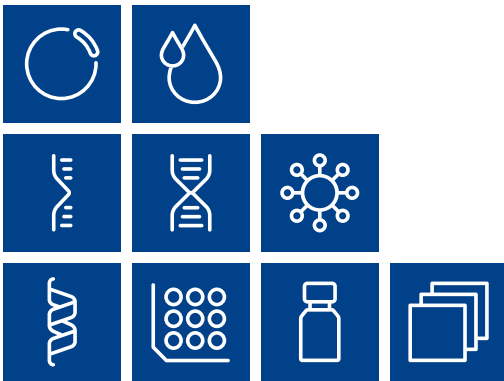
Viral RNA and DNA

Protein

High throughput

Accessories

Auxiliary tools



# MACHEREY-NAGEL

[www.mn-net.com](http://www.mn-net.com)

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Germany

DE +49 24 21 969-0 [info@mn-net.com](mailto:info@mn-net.com)

CH +41 62 388 55 00 [sales-ch@mn-net.com](mailto:sales-ch@mn-net.com)

FR +33 388 68 22 68 [sales-fr@mn-net.com](mailto:sales-fr@mn-net.com)

US +1 888 321 62 24 [sales-us@mn-net.com](mailto:sales-us@mn-net.com)

