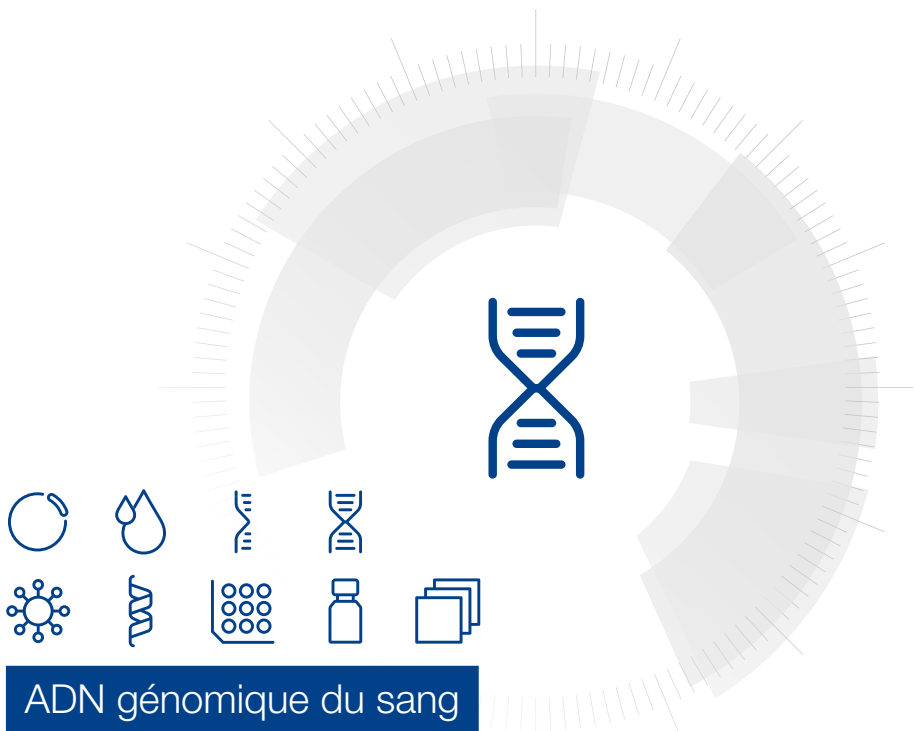


MACHEREY-NAGEL

Manuel d'utilisation



■ NucleoMag® Blood 200 µL

Janvier 2022 / Rev. 05

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Germany
Tel.: +49 24 21 969-0
Toll-free: 0800 26 16 000 (Germany only)
E-mail: info@mn-net.com

Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-270
E-mail: tech-bio@mn-net.com

USA

MACHEREY-NAGEL Inc.
924 Marcon Blvd. · Suite 102 · Allentown PA, 18109 · USA
Toll-free: 888 321 6224 (MACH)
E-mail: sales-us@mn-net.com

France

MACHEREY-NAGEL SAS
1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt Cedex · France
Tel.: +33 388 68 22 68
E-mail: sales-fr@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

Switzerland

MACHEREY-NAGEL AG
Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Switzerland
Tel.: +41 62 388 55 00
E-mail: sales-ch@mn-net.com

Sommaire

1	Composition du kit	4
1.1	Composants	4
1.2	Réactifs, consommables et équipement nécessaires	5
1.3	A propos de ce manuel	5
2	Description du kit	6
2.1	Principe général	6
2.2	Caractéristiques du kit	6
2.3	Système de séparation magnétique	7
2.4	Réglage de l'agitateur	8
2.5	Manipulation des billes	9
2.6	Procédures d'élution	10
3	Conditions de stockage et préparation des réactifs	11
4	Instructions de sécurité	12
4.1	Élimination des déchets	12
5	Protocole pour l'extraction d'ADN du sang	13
6	Annexes	18
6.1	Guide de résolution des problèmes	18
6.2	Informations de commande	20
6.3	Restriction d'utilisation / garantie	20

1 Composition du kit

1.1 Composants

NucleoMag® Blood 200 µL		
REF	1x 96 preps 744501.1	4 x 96 preps 744501.4
Billes NucleoMag® B-Beads	2 x 1.5 mL	12 mL
Tampon de lyse MBL1	13 mL	45 mL
Tampon de fixation MBL2	40 mL	160 mL
Tampon de lavage MBL3	300 mL	900 mL
Tampon de lavage MBL4	125 mL	500 mL
Tampon d'éluion MBL5*	30 mL	125 mL
Protéinase K, lyophilisée**	50 mg	4 x 50 mg
Tampon PB de protéinase K	8 mL	15 mL
Manuel d'utilisation	1	1

* Tampon d'éluion MBL5: Tris 5 mM, pH 8.5

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

1.2 Réactifs, consommables et équipement nécessaires

Réactifs

- Ethanol 80 % (pour la dernière étape de lavage)

Equipelement / Consommables

Produit	REF	Conditionnement
<ul style="list-style-type: none"> Plaque de séparation pour le séparateur magnétique, ex : blocs 'Square-well Block' (96 puits carrés de 2.1 mL) 	740481 740481.24	4 24
<ul style="list-style-type: none"> Plaque d'élution pour collecter l'ADN purifié, Ex : plaques d'élution 'U-bottom' (96 puits de 0.3 mL, fond en 'U') 	740486.24	24
<ul style="list-style-type: none"> Pour une utilisation sur un instrument KingFisher®, Ex : Set d'accessoires 'KingFisher® Accessory Kit B' (Blocs 96 puits, Tip combs, Plaques d'élution pour 4 x 96 preps NucleoMag® Blood 200 µL) 	744951	1 set

1.3 A propos de ce manuel

Nous recommandons vivement la lecture du protocole détaillé aux nouveaux utilisateurs du kit **NucleoSpin® Blood 200 µL**. Les utilisateurs expérimentés, quant à eux, pourront utiliser le résumé du protocole. Ce dernier est conçu pour un suivi rapide des différentes étapes de la procédure.

Toute la documentation technique est disponible sur notre site internet www.mn-net.com.

2 Description du kit

2.1 Principe général

La procédure NucleoMag® Blood 200 µL est basée sur l'adsorption réversible des acides nucléiques sur les billes paramagnétiques en présence des tampons adéquats. Le sang total est lysé en présence du tampon de lyse MBL1 et de la Protéinase K. Après la lyse, les billes magnétiques sont ajoutées ainsi que le tampon MBL2 afin de créer les conditions optimales de fixation de l'ADN. Après séparation magnétique et élimination des surnageants, les billes paramagnétiques sont lavées pour éliminer les contaminants et les sels. Une étape de séchage à l'air n'est pas nécessaire: l'éthanol peut être éliminé avec le tampon de lavage MBL4. Pour finir, l'ADN purifié est élué dans un tampon faiblement salin (MBL5) et est directement utilisable pour les applications avals. Le kit **NucleoMag® Blood 200 µL** peut être utilisé de manière manuelle ou automatisée sur les robots pipeteurs ainsi que la plupart des séparateurs magnétiques automatisés.

2.2 Caractéristiques du kit

NucleoMag® Blood 200 µL est conçu pour la purification rapide, à petite échelle, d'ADN génomique à partir de 200 µL de sang total en utilisant le séparateur magnétique NucleoMag® SEP (voir 'Informations de commandes') ou un autre système de séparation (voir 2.3). La durée de préparation pour 96 échantillons est d'environ 120 minutes. L'ADN obtenu peut être directement utilisé pour les applications de PCR, de blotting ou pour différents types de réactions enzymatiques.

NucleoMag® Blood 200 µL est aisément automatisable sur les plateformes de pipetage courantes ou sur les séparateurs magnétiques automatisés, comme par exemple les robots KingFisher® (Thermo Fischer Scientific). Le temps de traitement dépend de la configuration de votre plateforme et du système de séparation magnétique utilisé. En général, avec le séparateur NucleoMag® SEP sur un robot pipeteur, 96 échantillons peuvent être extraits en moins de 120 minutes.

Le kit fournit les réactifs pour la purification de 2–8 µg d'ADN génomique à partir de 200 µL de sang total avec un ratio $A_{260}/A_{280} \geq 1.6-1.9$ et des concentrations de l'ordre de 20–40 ng/µL. En fonction de l'origine des échantillons et du volume d'élué utilisé, des concentrations de 10–160 ng/µL peuvent être obtenues.

Le sang utilisé peut être frais ou congelé, traité à l'EDTA ou au citrate. La procédure est optimisée pour un volume de sang de 200 µL.

NucleoMag® Blood 200 µL est utilisé à température ambiante. Cependant, l'élué à 55°C ou 72°C permet d'accroître le rendement de 15–20 %.

Les billes **NucleoMag® B-Beads** sont des billes superparamagnétiques hautement réactives. Leur capacité de fixation d'ADN est d'environ 0.4 µg d'ADNg pour 1 µL de suspension NucleoMag® Blood Bead, 1 µL de suspension contient 140 µg de billes.

2.3 Système de séparation magnétique

Pour utiliser le kit NucleoMag® Blood 200 µL, le séparateur magnétique NucleoMag® SEP est recommandé. La séparation s'effectue en blocs 96 puits carrés 'Square-well Block' (voir 'Informations de commande'). Le kit peut aussi être utilisé sur d'autres séparateurs magnétiques courants

Séparateur magnétique	Plaque ou tube de séparation
NucleoMag® SEP (MN REF 744900)	Blocs 'Square-well Block' (MN REF 740481)
Tecan Te-MagS™	Tubes 1.5 mL sans bouchon (Sarstedt)

Séparateurs à aimants fixes

Les séparateurs à aimants fixes, comme le NucleoMag® SEP (utilisable manuellement ou sur automates pipeteurs), sont recommandés en association avec un agitateur pour plaques, permettant une resuspension optimale des billes pendant les étapes de lavages et d'élution. Alternativement, les billes peuvent être resuspendues dans les tampons par plusieurs cycles de pipetage. Pour automatiser totalement la procédure sur un robot pipeteur, un bras manipulateur de plaques est nécessaire, afin de transférer la plaque du séparateur magnétique vers l'agitateur pour la resuspension des billes.

Système à aimants mobiles

Ces séparateurs disposent d'aimants se déplaçant d'un côté à l'autre des puits, entraînant les billes à travers les tampons. La séparation magnétique a lieu lors de l'arrêt du système.

Séparateurs automatisés (par exemple : les instruments King Fisher®)

Ces séparateurs transfèrent les billes dans les différents tubes ou plaques. Les billes sont resuspendues par rétractation des aimants à l'intérieur de leur protection. Après chaque étape de fixation, lavage ou d'élution, les billes sont collectées et transportées dans le tube ou plaque correspondant à la solution suivante*.

* Contacter le support technique MN.

2.4 Réglage de l'agitateur

Lors de l'utilisation d'un agitateur à plaques pour les étapes de lavages et d'élution, la vitesse d'agitation doit être ajusté précautionneusement afin de garantir la bonne resuspension des billes en évitant tout risque de contaminations croisées :

Réglage de l'agitation pour les étapes de fixation et les lavages :

- Déposer 800 μL d'eau colorée (pour l'étape de fixation) ou 600 μL (pour les étapes de lavage) dans les puits de la plaque de séparation. Placer la plaque sur l'agitateur et lancer l'agitation à vitesse modérée pendant 30 secondes. Stopper et vérifier l'absence de projections.
- Augmenter la vitesse d'agitation pour une durée de 30 sec supplémentaires et vérifier l'absence de projections.
- Continuer à augmenter la vitesse d'agitation jusqu'à observer des projections au-dessus de la plaque de séparation. Réduire ensuite progressivement la vitesse, vérifier l'absence de projections et utiliser ce réglage pour les étapes de lavages.

Réglage de l'agitation pour l'étape d'élution:

- Déposer 100 μL d'eau colorée dans les puits de la plaque de séparation et procéder comme mentionné ci-dessus.

2.5 Manipulation des billes

Distribution des billes

Une distribution homogène des billes dans les puits de la plaque de séparation est essentielle pour une bonne reproductibilité. Avant de distribuer les billes, veiller à bien les resuspendre. Agiter le flacon ou placer le sur un vortex brièvement.

Un mélange préliminaire des billes magnétiques avec le tampon de fixation MBL2 permet une distribution plus homogène des billes dans les différents puits de la plaque de séparation. Lors de l'automatisation, une étape de mélange des billes et du tampon de fixation dans les réservoirs avant leur distribution dans les plaques de séparation est recommandée afin de s'assurer que les billes demeurent bien en suspension.

Durée de la séparation magnétique

L'attraction des billes magnétiques par les aimants dépend de la force de l'aimant, du type de plaque de séparation utilisé, de la distance entre les parois des puits et les aimants ainsi que du volume présent dans les puits. Les temps d'aimantation des billes doivent être ajustés en fonction de chaque système. Il est recommandé d'utiliser des plaques ou tubes de séparation validés pour le type de séparateur magnétique utilisé.

Lavage des billes

Le lavage des billes est effectué par agitation ou pipetage. Contrairement au pipetage, l'agitation permet la resuspension des billes dans tous les puits simultanément. Ceci permet de réduire le temps de la procédure et le nombre de cônes nécessaires. Cependant, la resuspension par pipetage est plus efficace que l'agitation de la plaque ou l'agitation magnétique.

Méthode	Efficacité de resuspension	Rapidité	Nombre de cônes
Magnétique	+	++	Faible
Agitateur	++	++	Faible
Pipetage	+++	+*	Elevé

+: acceptable, ++: bon, +++: excellent; * pipette 8-canaux.

* En fonction du système de pipetage multicanaux.

2.6 Procédures d'élution

L'ADN total purifié peut être élué directement avec le tampon d'élution fourni MBL5. L'élution peut être réalisée dans un volume $\geq 50 \mu\text{L}$. Il est essentiel de recouvrir totalement les billes NucleoMag® B-Beads avec le tampon MBL5 lors de l'étape d'élution. Le volume optimal de tampon MBL5 dépend du système de séparation magnétique utilisé (ex: position des colots de billes dans les puits). Pour une élution optimale, les colots de billes magnétiques doivent être resuspendus totalement dans le tampon d'élution MBL5. Avec certains séparateurs, des volumes d'élution supérieurs peuvent être nécessaires afin de recouvrir totalement les culots de billes magnétiques.

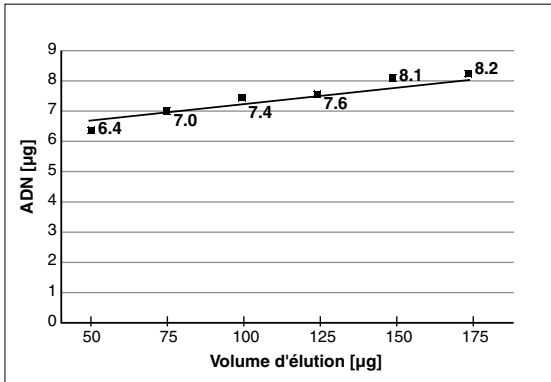


Figure 1 Influence du volume d'élution sur le rendement d'ADN (exemple)

L'élution est possible à température ambiante. Cependant, le rendement en ADN peut être amélioré de 15– 20 % si l'élution est effectuée à 72 °C (voir Figure 2).

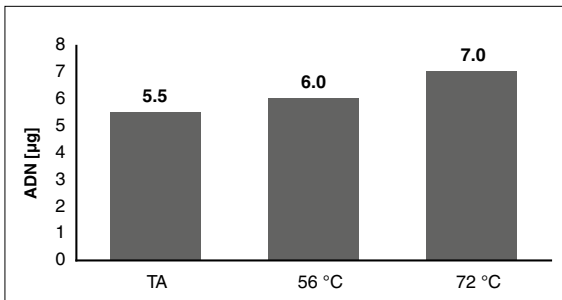


Figure 2 Influence de la température d'élution sur le rendement d'ADN

3 Conditions de stockage et préparation des réactifs

Attention: les tampons MBL1, MBL2, et MBL3 contiennent des sels chaotropiques! Porter des gants et des lunettes de protection!

ATTENTION : le tampon MBL1 contient du chlorhydrate de guanidine pouvant former des composants réactifs en présence d'eau de Javel (hypochlorite de sodium). NE PAS ajouter d'eau de Javel ou de solutions acides directement dans les déchets liquides issus de la procédure.

- Tous les composants du kit **NucleoMag® Blood 200 µL** doivent être stockés à température ambiante (15–25 °C) et sont stables pendant 1 an maximum.
- Tous les tampons sont fournis prêts à l'emploi.

Avant de débiter la procédure **NucleoMag® Blood 200 µL**, préparer la solution de protéinase K :

- Ajouter le volume indiqué de tampon PB pour dissoudre la protéinase K lyophilisée (voir tableau ci-dessous). La solution de protéinase K est stable à -20°C pendant au plus 6 mois.

NucleoMag® Blood 200 µL		
REF	1 x 96 preps 744501.1	4 x 96 preps 744501.4
Protéinase K	50 mg Ajouter 2.5 mL de tampon PB Protéinase K	4 x 50 mg Ajouter 2.5 mL de tampon PB Protéinase K dans chaque flacon

4 Instructions de sécurité

Lorsque vous travaillez avec le kit **NucleoMag® Blood 200 µL**, 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 (FDS disponibles en ligne sur www.mn-net.com/msds).



Attention : Le chlorhydrate de guanidine dans le tampon MBL1 et le perchlorate de sodium dans les tampons MBL2 et MBL3 peuvent former des composés hautement réactifs lorsqu'ils sont combinés avec de l'eau de Javel ! Par conséquent, n'ajoutez pas d'eau de Javel ou de solutions acides directement dans les déchets liquides issus de la procédure.

Les déchets générés par le kit **NucleoMag® Blood 200 µL** 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 Protocole pour l'extraction d'ADN du sang

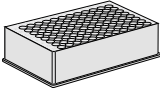
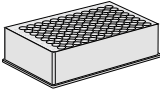
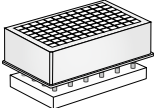
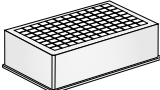
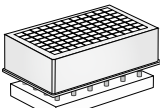
Résumé du protocole

A propos de l'équipement et du matériel requis, voir les chapitres 1.2 et 2.3.

Pour des informations détaillées sur chaque étape, voir page 15

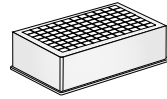
Avant de débiter la préparation:

- Vérifier que la protéinase K a été préparée selon les instructions du chapitre 3.

<p>1 Lyse des échantillons</p>	<p>Déposer 20 µL Protéinase K dans le Bloc</p> <p>200 µL de sang</p> <p>80 µL MBL1</p> <p>Mélanger 3–5 fois</p> <p>Agiter 10 min à TA</p>	
<p>2 Fixation de l'ADN aux billes NucleoMag® B-Beads</p>	<p>25 µL B-Beads</p> <p>300 µL MBL2</p> <p>Agiter 5 min à TA</p> <p><i>(Option: Mélanger par pipetage)</i></p>	 <p style="text-align: center;">↔</p>
	<p>Prélever le surnageant après 2 min de séparation</p>	
<p>3 Lavage MBL3 (1^{er} lavage)</p>	<p>Enlever le bloc du NucleoMag® SEP</p> <p>800 µL MBL3</p> <p>Resuspandre: agiter 5 min à TA</p> <p><i>(Option: Mélanger par pipetage)</i></p>	 <p style="text-align: center;">↔</p>
	<p>Prélever le surnageant après 2 min de séparation</p>	

4 Lavage MBL3
(2^{ième} lavage)

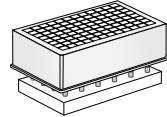
Enlever le bloc du NucleoMag® SEP
800 µL MBL3



Resuspendre: agiter 5 min à TA
(Option: Mélanger par pipetage)

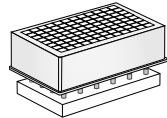


**Prélever le surnageant après
2 min de séparation**



**5 Lavage avec 80 %
ethanol**

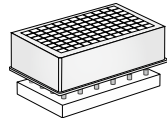
Enlever le bloc du
NucleoMag® SEP
800 µL d'éthanol 80 %



Resuspendre: agiter 5 min à TA
(Option: Mélanger par pipetage)



Prélever le surnageant après
2 min de séparation



6 Lavage MBL4

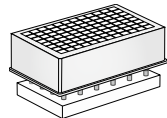
Laisser le bloc sur le NucleoMag® SEP
900 µL MBL4



Incuber pendant 45–90 s

Aspirer et jeter le surnageant

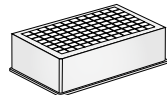
*Note: Ne pas resuspendre les billes
dans le tampon MBL4!*



7 Elution de l'ADN

Enlever le bloc du
NucleoMag® SEP

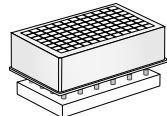
50-100 µL MBL5
(Option: Eluer à 55 °C)



Agiter à 5–10 min à TA
(Option : Mélanger par pipetage)



**Séparer les billes 2 min et transférer
l'ADN dans une plaque / des tubes
de collecte**



Protocole détaillé

Ce protocole décrit la procédure utilisant un séparateur magnétique à aimants statiques (ex: NucleoMag® SEP) et un agitateur pour plaques adéquat (voir chapitre 2.3). Il est recommandé d'utiliser les blocs 96 puits carrés pour la séparation (voir chapitre 1.2). Par ailleurs, l'extraction de l'ADN peut s'effectuer en tube, avec un séparateur magnétique compatible. Cette procédure manuelle est également un guide pour l'automatisation du kit sur les robots pipeteurs.

Avant de débiter :

- Vérifier que la protéinase K a été préparée selon les instructions du chapitre 3.
-

1 Lyse des échantillons

Déposer **20 µL de solution de Protéinase K** dans les puits du bloc 96 puits carrés.

Transférer **200 µL de sang** (équilibré à température ambiante) dans chacun des puits. Veiller à ne pas contaminer la partie supérieure des puits.

Note: voir nos recommandations à propos des compatibilités entre les plaques/ tubes de séparation et les différents séparateurs magnétiques (chapitre 2.3).

Ajouter **80 µL de tampon MBL1** à chaque échantillon, **mélanger** par pipetages répétés (3–5 fois) et agiter pendant **5–10 min à température ambiante**.

Alternativement, sans agitateur pour plaques, pipeter le mélange 10 fois et incubé 5–10 min à température ambiante.

2 Fixation de l'ADN aux billes NucleoMag® B-Beads

Ajouter **25 µL de billes NucleoMag® B-Beads** à chaque échantillon. Homogénéiser la suspension de billes avant de les distribuer dans les échantillons.

Ajouter **300 µL de tampon MBL2** dans chaque échantillon, **mélanger** par pipetage 3–5 fois et **agiter** pendant **5 min** pour permettre à l'ADN de se fixer aux billes magnétiques. Alternativement, sans agitateur, pipeter le mélange 10 fois et incubé pendant 5 min à température ambiante.

Note: les billes NucleoMag® B-Beads et le tampon MBL2 peuvent être mélangés au préalable. Pour chaque échantillon à extraire, mélanger 25 µL de billes NucleoMag® B-Beads et 300 µL de tampon MBL2. Vortexer brièvement. En fonction du volume mort des réservoirs utilisés, des excédents de suspension de billes et de tampon de fixation peuvent être nécessaires. Mélanger la solution plusieurs fois pour éviter aux billes de sédimenter. Ne pas stocker le mélange NucleoMag® B-Beads et le tampon MBL2 pendant plus de 12 h.

Veiller à resuspendre les billes NucleoMag® B-Beads avant de les prélever dans le flacon. Vortexer le flacon jusqu'à ce que la suspension soit homogène.

Séparer les billes magnétiques contre les parois des puits en plaçant le bloc 96 puits sur le séparateur magnétique. Attendre au moins **2 min** jusqu'à ce que toutes les billes aient été attirées par les aimants. Retirer et jeter le surnageant.

Note: ne pas perturber les culots de billes pendant l'aspiration des surnageants. Les culots sont très peu visibles à cette étape. Pipeter les surnageants du côté opposé des puits.

3 Lavage MBL3 (1^{er})

Enlever le bloc du séparateur magnétique.

Ajouter **800 µL de tampon MBL3** dans chaque puits et remettre en suspension les complexes billes/ADN en agitant à température ambiante jusqu'à totale resuspension des billes (**5 min**). Alternativement, resuspendre les billes par pipetage (15 fois).

Note: veiller à suspendre totalement les billes magnétiques, une suspension homogène brunâtre doit apparaître. Si nécessaire, augmenter la durée d'agitation ou le nombre de cycles de pipetage. Un mélange incomplet peut impacter négativement la pureté de l'ADN élué.

Séparer les billes magnétiques en plaçant le bloc 96 puits sur le séparateur magnétique. Attendre au moins **2 min** jusqu'à ce que toutes les billes aient été attirées par les aimants. Retirer et jeter les surnageants.

Note: les surnageants sont brunâtres, les culots de billes sont maintenant visibles.

4 Lavage MBL3 (2nd)

Enlever le bloc 96 puits du séparateur magnétique.

Ajouter **800 µL de tampon MBL3** dans chaque puits pour un second lavage MBL3. Laver les complexes billes/ADN en **agitant (5 min)** à **température ambiante**. Alternativement, resuspendre les billes par pipetage (15 fois).

Séparer les billes magnétiques en plaçant le bloc sur le séparateur magnétique. Attendre au moins **2 min** jusqu'à ce que toutes les billes aient été attirées par les aimants. Retirer et jeter les surnageants.

Note: les surnageants sont incolores, les culots de billes magnétiques sont clairement visibles.

5 Laver à l'éthanol 80 %

Enlever le bloc 96 puits du séparateur magnétique.

Ajouter **800 µL d'éthanol 80 %** dans chaque puits et laver le complexe billes/ADN en **agitant (5 min)** à **température ambiante**. Alternativement, resuspendre les billes par pipetage (15 fois).

Séparer les billes magnétiques en plaçant le bloc 96 puits sur le séparateur magnétique. Attendre au moins **2 min** jusqu'à ce que toutes les billes aient été attirées par les aimants. Retirer et jeter les surnageants.

Note: les surnageants sont incolores, les culots de billes sont clairement visibles.

6 Lavage MBL4

Laisser le bloc 96 puits sur le séparateur magnétique.

Déposer doucement 900 µL de tampon MBL4 dans chaque puits et incuber pendant 45–90 sec alors que les billes restent sur les aimants.

Retirer et jeter les surnageants.

Note: NE PAS resuspendre les billes dans le tampon MBL4. Cette étape élimine les traces d'éthanol et évite de recourir à une étape de séchage à l'air.

Option: le lavage des billes avec le tampon MBL4 peut diminuer légèrement le rendement en ADN. Il est possible de remplacer ce lavage par un séchage à l'air des billes magnétiques en incubant 10–15 min à TA pour évaporer l'éthanol. En cas d'éthanol résiduel, les billes apparaissent brillantes. Chauffer modérément (37 °C) peut faciliter et raccourcir l'étape de séchage. Un séchage excessif, à contrario, peut induire une diminution de l'efficacité d'élution.

7 Elution de l'ADN

Enlever le bloc 96 puits du séparateur magnétique.

Ajouter le volume adéquat de MBL5 (50–100 µL) dans les puits et agiter pour resuspendre les billes (5–10 min). Alternativement, pipeter pour mélanger (15 fois).

Séparer les billes magnétiques en plaçant le bloc sur le séparateur magnétique. Attendre au moins **2 min** jusqu'à ce que toutes les billes aient été attirées par les aimants. Transférer les surnageants contenant l'ADN génomique purifié dans une plaque / des tubes d'élution.

Note: le rendement peut être accru de 15–20% en utilisant le tampon d'élution préchauffé (55– 72 °C) ou en incubant la suspension de billes/tampon d'élution à 55–72 °C pendant 10 min.

6 Annexes

6.1 Guide de résolution des problèmes

Problèmes	Cause possible et suggestions
Faible rendement en ADN	<i>Volume de tampon d'éluion insuffisant</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Les billes doivent être recouvertes totalement par le tampon.
	<i>Performance insuffisante du tampon d'éluion</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Eliminer complètement les tampons résiduels à chaque étape de séparation. Les tampons résiduels restant diminuent l'efficacité des lavages et de l'éluion.
	<i>Billes séchées excessivement</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Ne pas trop sécher les billes, l'éluion en serait impactée.
	<i>Eluion partiel de l'ADN dans le tampon de lavage MBL4</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Maintenir la plaque de séparation sur l'aimant lors de la distribution du tampon de lavage MBL4. Ne pas remettre en suspension les billes dans ce tampon, ni incuber les billes plus de 2 min dans ce tampon. Le tampon MBL4 étant aqueux, il pourrait conduire à l'éluion prématurée de l'ADN.
	<i>Aspiration du culot de billes présents sur l'aimant</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Ne pas perturber les culots de billes sur l'aimant lors de l'aspiration des surnageants, en particulier lorsque les culots ne sont pas visibles dans les lysats.
	<i>Incubation après distribution des billes dans les lysats.</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Mélanger immédiatement après distribution des billes NucleoMag® B-Beads et du tampon de fixation MBL2.
Pureté faible	<i>Sang de faible qualité</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Veiller à l'absence de caillots sanguins lors du transfert dans les puits. Les échantillons peuvent être stockés à 2–8 °C pendant 2 semaines. Congeler pour une conservation à plus long terme.
	<i>Procédure de lavage insuffisante</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Utiliser uniquement des plaques / tubes recommandés pour les séparateurs magnétiques, par exemple les blocs 96 puits carrés 'Square-well Block' en association avec le séparateur magnétique NucleoMag® SEP.

Problèmes	Cause possible et suggestions
Performance insuffisante de l'ADN dans les applications	<p><i>Contamination par de l'éthanol issu des tampons de lavage</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Veiller à éliminer l'éthanol issu de l'étape de lavage. L'éthanol peut interférer avec les applications avales. Utiliser correctement le lavage avec le tampon MBL4 ou ajouter un séchage à l'air. <p><i>Faible pureté</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Voir ci-dessus.
Perte de billes	<p><i>Durée de la séparation magnétique insuffisante</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Augmenter la durée de séparation magnétique pour permettre aux billes d'être complètement attirées par les aimants avant d'aspirer les liquides. <p><i>Vitesse d'aspiration trop élevée (étape d'élution)</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Une vitesse d'aspiration élevée à l'étape d'élution peut induire la perte de billes. Réduire la vitesse d'aspiration lors de l'élution. • Pour éliminer les billes magnétiques des éluats, placer la plaque d'élution sur le séparateur magnétique, et transférer les éluats lorsque les résidus de billes ont été suffisamment attirés par les aimants.
Contaminations croisées	<p><i>Contaminations des parties supérieures des puits</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Ne pas souiller les parties hautes des puits lors du transfert du sang. En cas de souillure, filmer le bloc avec un film adhésif en PE (voir 'Informations de commandes') avant de lancer l'agitation.

6.2 Informations de commande

Produit	REF	Conditionnement
NucleoMag® Blood 200 µL	744501.1	1 x 96 preps
	744501.4	4 x 96 preps
NucleoMag® SEP	744900	1
Blocs 96 puits carrés 'Square-well Blocks'	740481.4	4
	740481.24	24
Plaque d'élution à fond en 'U'	740486.24	24
Films adhésifs en PE	740676	50 feuilles
Kit B Accessoires pour KingFisher	744951	1 set
(set comprenant : Blocs 96 puits, Tip combs, Plaques d'élution pour 4 x 96 preps)		

Visitez notre site web www.mn-net.com pour des informations plus détaillées.

6.3 Restriction d'utilisation / garantie

Les composants du kit **NucleoMag® Blood 200 µL** ont été développés, conçus et vendus **UNIQUEMENT À DES FINS DE RECHERCHE**, à l'exception, toutefois, de toute autre fonction du produit qui est expressément décrite dans les notices originales des produits MACHEREY-NAGEL.

Les produits MACHEREY-NAGEL sont destinés à une utilisation GÉNÉRALE en LABORATOIRE UNIQUEMENT ! Les produits MACHEREY-NAGEL sont EXCLUSIVEMENT destinés à un PERSONNEL QUALIFIÉ ! Lorsqu'ils manipulent des produits MACHEREY-NAGEL, les utilisateurs doivent toujours porter des VÊTEMENTS DE PROTECTION adéquats. Pour des informations détaillées, veuillez-vous référer à la fiche de données de sécurité du produit ! Les produits MACHEREY-NAGEL doivent être utilisés exclusivement dans un ENVIRONNEMENT DE TEST ADÉQUAT. MACHEREY-NAGEL décline toute responsabilité pour les dommages dus à une utilisation incorrecte de ses produits dans tous autres domaines d'application. L'application sur le corps humain est STRICTEMENT INTERDITE. L'utilisateur est responsable de tous les dommages résultant d'une telle application.

Les produits de purification d'ADN/ARN/PROTÉINES de MACHEREY-NAGEL conviennent UNIQUEMENT aux UTILISATIONS IN VITRO !

SEULS les produits MACHEREY-NAGEL portant la mention « IVD » peuvent également être utilisés pour le diagnostic IN VITRO. Veuillez prêter attention à l'emballage du produit. La mention « IVD » doit figurer expressément sur l'emballage des produits de diagnostic IN

S'IL N'Y A PAS LA MENTION « IVD », LE PRODUIT NE PEUT PAS ÊTRE UTILISÉ POUR LE DIAGNOSTIC IN-VITRO !

TOUS LES AUTRES PRODUITS NE PORTANT PAS LA MENTION « IVD » NE SONT PAS ADAPTÉS À UN USAGE CLINIQUE (Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, À UN USAGE DIAGNOSTIQUE, THÉRAPEUTIQUE ET/OU PRONOSTIQUE).

Aucune revendication ni déclaration n'est prévue concernant son utilisation pour identifier un organisme spécifique ou pour un usage clinique (y compris, mais sans s'y limiter, à des fins diagnostiques, pronostiques, thérapeutiques ou dans les banques du sang). Il incombe plutôt à l'utilisateur ou – dans tous les cas de revente des produits – au revendeur de contrôler et de veiller à ce que les produits de purification d'ADN/ARN/protéines de MACHEREY-NAGEL soient utilisés pour une application bien définie et spécifique.

MACHEREY-NAGEL est responsable uniquement des spécifications et des performances des produits MN conformément aux spécifications de contrôle qualité interne, de la documentation du produit et du matériel de marketing.

Ce produit MACHEREY-NAGEL est livré avec une documentation précisant les spécifications et d'autres informations techniques. MACHEREY-NAGEL garantit la conformité du produit aux spécifications déclarées. La seule obligation de MACHEREY-NAGEL et le seul recours du client se limitent au remplacement gratuit des produits qui n'offriraient pas les performances garanties. Il est également fait référence aux conditions générales de vente MACHEREY-NAGEL, qui sont imprimées sur la liste tarifaire et dont un exemplaire sera remis sur simple demande.

MACHEREY-NAGEL ne saurait être tenu responsable : des dommages ou défauts se produisant pendant le transport et la manipulation (hors assurance expédition du client), ou par suite d'un accident ou d'une utilisation impropre ou anormale du présent produit ; des défauts des produits ou des composants non fabriqués par MACHEREY-NAGEL ; ni des dommages résultant de tels produits et composants de fabricants autres que MACHEREY-NAGEL ; pour lesquels il n'existe aucune garantie.

MACHEREY-NAGEL n'accorde aucune autre garantie d'aucune sorte, et DÉCLINE ET EXCLUT SPÉCIFIQUEMENT TOUTE AUTRE GARANTIE DE TOUTE SORTE OU NATURE QUE CE SOIT, DIRECTEMENT OU INDIRECTEMENT, EXPRESSE OU IMPLICITE, Y COMPRIS, SANS S'Y LIMITER, RELATIVE AU CARACTÈRE APPROPRIÉ, À LA REPRODUCTIBILITÉ, LA DURABILITÉ, L'ADAPTATION À UN BUT OU UN USAGE PARTICULIER, LA QUALITÉ MARCHANDE, L'ÉTAT OU TOUT AUTRE SUJET EN CE QUI CONCERNE LES PRODUITS MACHEREY-NAGEL.

MACHEREY-NAGEL ne saurait en aucun cas être tenue pour responsable en cas de réclamations pour tout autre dommage, qu'il soit direct, indirect, fortuit, compensatoire, prévisible, consécutif ou particulier (y compris, mais sans s'y limiter, la perte d'utilisation, de revenus ou de profits), que ce soit sur la base d'une garantie, d'un contrat, d'un délit civil (y compris la négligence) ou d'une responsabilité stricte découlant de la vente ou du défaut d'exécution d'un produit MACHEREY-NAGEL conformément aux spécifications énoncées. La garantie est exclusive et MACHEREY-NAGEL ne donne aucune autre garantie expresse ou implicite.

La garantie fournie dans le présent document et les données, spécifications et descriptions de ce produit MACHEREY-NAGEL figurant dans les catalogues publiés et la documentation sur le produit de MACHEREY-NAGEL sont les seules représentations de MACHEREY-NAGEL concernant le produit et la garantie. Aucune autre déclaration ou représentation, écrite ou orale, par des employés, agents ou représentants de MACHEREY-NAGEL, à l'exception des déclarations écrites signées par un agent dûment agréé par MACHEREY-NAGEL, n'est autorisée ; le client ne doit pas se fier à de telles déclarations ou représentations, lesquelles ne font pas partie du contrat de vente ou de la présente garantie.

Les allégations relatives au produit sont susceptibles d'être modifiées. Nous vous invitons par conséquent à contacter notre service d'assistance technique pour obtenir les informations

les plus récentes sur les produits MACHEREY-NAGEL. Vous pouvez également contacter votre revendeur habituel, pour obtenir des informations scientifiques à caractère général. Les applications mentionnées dans la documentation fournie par MACHEREY-NAGEL le sont uniquement à titre informatif. MACHEREY-NAGEL ne garantit pas que toutes les applications ont été testées dans les laboratoires de MACHEREY-NAGEL, avec les produits MACHEREY-NAGEL. MACHEREY-NAGEL ne garantit en aucun cas le caractère correct de ces applications.

Dernière mise à jour : 07/2010, Rév. 03

Veillez contacter :
MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Tel.: +49 24 21 969-270
tech-bio@mn-net.com

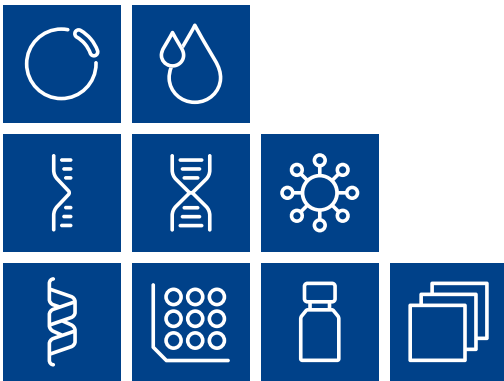
Marques déposées :

KingFisher[®] est une marque déposée de Thermo Fisher Scientific.

NucleoMag[®] est une marque déposée de MACHEREY-NAGEL GmbH & Co KG.

Te-MagS est une marque déposée de Tecan Group Ltd., Suisse.

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.



MACHEREY-NAGEL

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

CH +41 62 388 55 00 sales-ch@mn-net.com

FR +33 388 68 22 68 sales-fr@mn-net.com

US +1 888 321 62 24 sales-us@mn-net.com

