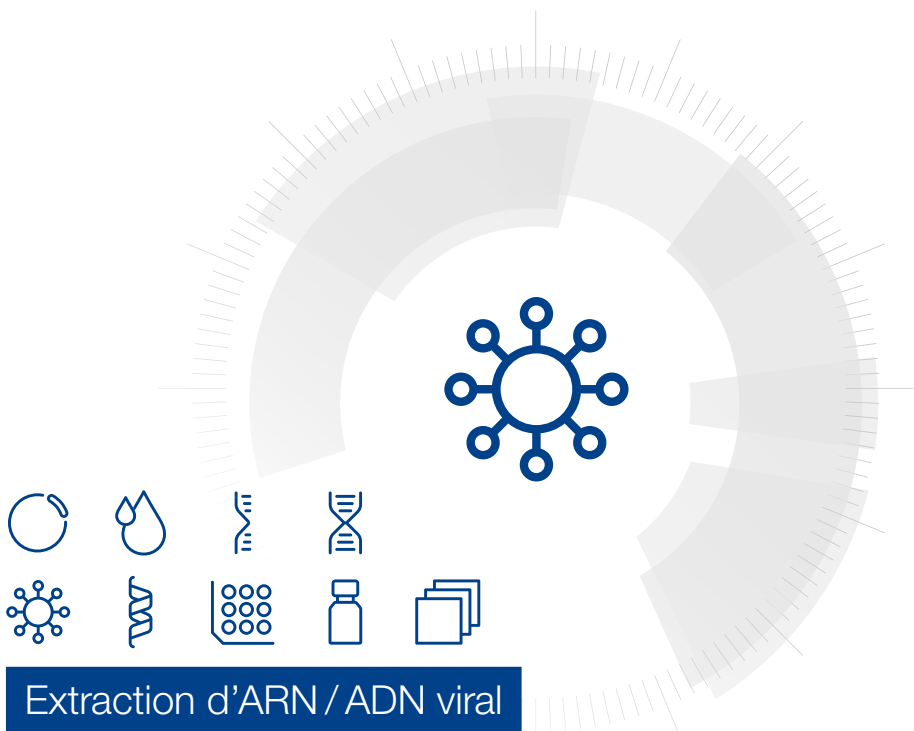


MACHEREY-NAGEL

Manuel d'utilisation



Extraction d'ARN / ADN viral

- NucleoSpin® 96 Virus
- NucleoSpin® 96 Virus Core Kit

Juin 2022 / Rev. 08

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	4
1.1	Composants des kits	4
1.2	Réactifs et équipement nécessaires	5
1.3	A propos de ce manuel d'utilisation	6
2	Description des kits	7
2.1	Principe général	7
2.2	Caractéristiques du kit	8
2.3	Équipement nécessaire	9
2.4	Accessoires recommandés pour les kits NucleoSpin® 96 Virus Core Kit	10
2.5	Automatisation de la procédure sur les plateformes robotiques	12
2.6	Echantillons biologiques	12
2.7	ARN carrier	13
2.8	Procédures d'élution	14
3	Conditions de stockage et préparation des réactifs	15
4	Instructions de sécurité	17
4.1	Élimination des déchets	17
5	Protocoles	18
5.1	NucleoSpin® 96 Virus – procédure par centrifugation	18
5.2	NucleoSpin® 96 Virus (Core Kit) – procédure sur système d'aspiration	23
6	Annexes	29
6.1	Optimisation des performances	29
6.2	Informations de commande	30
6.3	Restriction d'utilisation / garantie	31

1 Composition

1.1 Composants des kits

NucleoSpin® 96 Virus		
REF	2 x 96 preps 740691.2	4 x 96 preps 740691.4
Tampon de lyse RAV1 ¹	3 x 40 mL	6 x 40 mL
Tampon de lavage RAW	2 x 75 mL	300 mL
Tampon de lavage RAV3 (Concentré) ¹	100 mL	2 x 100 mL
H ₂ O RNase-free	125 mL	125 mL
Tampon d'éluion RE ²	125 mL	125 mL
ARN carrier (lyophilisé) ¹	3 x 1 mg	6 x 1 mg
Protéinase K (lyophilisée) ¹	2 x 50 mg	3 x 75 mg
Tampon de Protéinase PB	8 mL	15 mL
Plaques NucleoSpin® 96 Virus (bagues bleues)	2	4
Plaques 'MN Wash Plates ⁴	2	4
Blocs 96 puits ronds avec barrettes de bouchons	2	4
Barrettes de bouchons	24	48
Blocs 96 puits carrés 'MN'	6	12
Rack de barrettes de 8 tubes ³	2	4
Films adhésifs en PE	10	20
Manuel d'utilisation	1	1

¹ Pour la préparation des réactifs et les conditions de stockage, voir le chapitre 3.

² Tampon d'éluion RE : Tris/HCl 5 mM, pH 8.5.

³ Set de 1 rack avec 12 barrettes de 8 tubes chacune et barrettes de bouchons incluses.

⁴ Utilisation sous vide ou à pression positive uniquement.

Composants des kits (suite)

NucleoSpin® 96 Virus Core Kit	
REF	4 x 96 preps 740452.4
Tampon de lyse RAV1 ¹	6 x 40 mL
Tampon de lavage RAW	300 mL
Tampon de lavage RAV3 (Concentré) ¹	2 x 100 mL
H ₂ O RNase-free	125 mL
Tampon d'élution RE ²	125 mL
ARN carrier (lyophilisé) ¹	6 x 1 mg
Plaques NucleoSpin® 96 Virus (bagues bleues)	4
Manuel d'utilisation	1

1.2 Réactifs et équipement nécessaires

Réactif

- Ethanol 96 – 100 % (pour la préparation des réactifs; voir chapitre 3)

Pour des informations détaillées concernant le matériel requis en fonction de la procédure choisie, par centrifugation, sur système d'aspiration ou encore sur système de pression positive, voir le paragraphe 2.3.

Pour les accessoires recommandés lors de l'utilisation des kits **NucleoSpin® 96 Virus Core Kit** (kits de composition réduite; REF 740452.4), voir le paragraphe 2.4.

¹ Pour la préparation des réactifs et les conditions de stockage, voir le chapitre 3.

² Tampon d'élution RE : Tris/HCl 5 mM, pH 8.5.

1.3 A propos de ce manuel d'utilisation

Nous recommandons vivement aux nouveaux utilisateurs de consulter le protocole détaillé des kits **NucleoSpin® 96 Virus** ou **NucleoSpin® 96 Virus Core** avant la première utilisation.

Les utilisateurs expérimentés pourront se référer au résumé du protocole, conçu pour un suivi rapide de la succession des étapes de la procédure de purification.

Toute la documentation technique est disponible en ligne: **www.mn-net.com**.

Merci de contacter notre support technique à propos de toute mise à jour de ce manuel par rapport aux versions antérieures.

2 Description des kits

2.1 Principe général

Le kit **NucleoSpin® 96 Virus** est conçu pour la purification simultanée de l'ARN et de l'ADN viral. Le kit associe la sélectivité de la technologie membrane de silice pour la fixation des acides nucléiques et le format 'haut débit' 96 puits. Selon la méthode utilisée avec le kit **NucleoSpin® 96 Virus**, les ARN viraux sont lysés rapidement et efficacement avec le Tampon de lyse RAV1, fortement concentré en GITC. Les virus à ADN (par exemple: HBV) sont souvent plus difficiles à extraire et nécessitent une digestion des échantillons avec la Protéinase K incluse dans le kit. Le Tampon de lyse et l'éthanol permettent de créer les conditions de fixation adéquates des acides nucléiques à la membrane de silice de la plaque NucleoSpin® Virus. L'ARN carrier contenu dans le Tampon de lyse RAV1 améliore la fixation et le rendement d'extraction à partir des échantillons faiblement titrés en ARN/ADN viral. Les contaminants (potentiels inhibiteurs de PCR), comme les sels, les métabolites et les composants cellulaires macromoléculaires solubilisés sont éliminés lors des étapes de lavages avec les tampons éthanoliques RAW et RAV3. Les acides nucléiques viraux purifiés peuvent être élués dans un tampon faiblement salin ou dans de l'eau exempte de RNase et sont directement utilisables pour les applications de RT-PCR ou de PCR.

Choix du kit NucleoSpin® 8/96 Virus

Le **NucleoSpin® 96 Virus** permet la purification de 96 échantillons en parallèle. Ce kit est originellement conçu pour une utilisation par centrifugation; l'utilisation sur système d'aspiration ou de pression positive est également possible. L'utilisation du kit sur une plateforme robotisée de pipetage (équipée de chambre à vide le plus souvent) nécessite une flexibilité dans les différents types de consommables utilisés pour la lyse, les lavages et l'éluion. MACHEREY-NAGEL répond à ce besoin en proposant les kits **NucleoSpin® 96 Virus Core Kit**, recommandé pour l'utilisation manuelle ou automatisée sur système d'aspiration ou de pression positive. Les 'Core kits' contiennent les composants essentiels comme les plaques de purification 96 puits, les tampons, mais ne comprennent pas les consommables plastiques ou les enzymes. Il est ainsi possible de les compléter en définissant les consommables les plus adaptés aux besoins et contraintes de l'utilisateur parmi les divers accessoires proposés dans notre catalogue. Pour un débit d'extraction plus faible, les kits **NucleoSpin® 96 Virus** sont également proposés au format 'barrettes de 8-puits' (voir 'Informations de commande').

Table 1: Guide de sélection du kit

	Application	Kits recommandés
Utilisation manuelle, par centrifugation	Faible / moyen débit	NucleoSpin® 8 Virus*
	Haut débit	NucleoSpin® 96 Virus
Utilisation manuelle, système d'aspiration ou de pression positive	Faible / moyen débit	NucleoSpin® 8 Virus* NucleoSpin® 8 Virus Core Kit
	Haut débit	NucleoSpin® 96 Virus NucleoSpin® 96 Virus Core Kit
Utilisation automatisée, système d'aspiration ou de pression positive	Faible / moyen débit	NucleoSpin® 8 Virus Core Kit*
	Haut débit	NucleoSpin® 96 Virus Core Kit

2.2 Caractéristiques du kit

- **NucleoSpin® 96 Virus** permet la purification simultanée d'ADN et d'ARN viral à partir de 100 – 150 µL de plasma, de sérum ou d'autres fluides biologiques acellulaires. Les échantillons peuvent être utilisés frais ou congelés. Par ailleurs, les surnageants clarifiés issus de suspensions de tissus, d'échantillons de fèces, d'écouvillons ou encore les échantillons de sang dilué peuvent être également utilisés. Pour des informations concernant le prétraitement des échantillons, merci de consulter le paragraphe 2.6.
- Les acides nucléiques purifiés sont utilisables pour les applications de PCR/RT-PCR en temps réel, la PCR ou tout autre type de réaction enzymatique. La limite de détection pour certains virus dépend de la méthode de détection utilisée, par exemple la (RT-)PCR nichée. L'utilisation d'un contrôle interne d'extraction, ainsi que de contrôles positifs et négatifs d'extraction permettent de vérifier le bon déroulement de la procédure de purification, d'amplification et de détection des acides nucléiques viraux ciblés.
- **NucleoSpin® 96 Virus Core Kit** est conçu à l'origine pour la procédure sur système d'aspiration ou de pression positive (manuelle ou automatisée sur plateforme robotique). L'utilisation sur système d'aspiration ou de pression positive permet une automatisation facile sur les instruments de pipetage automatisés courants. Pour plus d'informations concernant l'automatisation et la disponibilité de scripts prêt-à-l'emploi, disponibles pour certaines plateformes, voir le paragraphe 2.5 et contacter votre distributeur local ou MN directement.

* Consulter le manuel d'utilisation NucleoSpin® 8 Virus. Voir paragraphe 6.2 pour les informations de commande.

Table 2: Résumé des caractéristiques du kit

Paramètre	NucleoSpin® 96 Virus (Core Kit)
Technologie	membrane de silice
Format	Plaques 96 puits
Procédure	Manuelle ou automatisée, système d'aspiration, de pression positive ou par centrifugation
Volume d'échantillon	100 – 150 µL*
Rendement d'extraction	> 90 %
Limite de détection	30 – 60 cp/mL
Volume d'élution	70 – 100 µL
Durée de la procédure	60 min/plaque
Capacité de fixation	40 µg

2.3 Equipement nécessaire

Procédure par centrifugation

Pour la procédure par centrifugation, une centrifugeuse pour microplaques, capable de recevoir les plaques NucleoSpin® Virus positionnées sur un bloc 96 puits ronds ou carrés, et capable d'atteindre une accélération de 5,600–6,000 x g est requise (hauteur minimale nécessaire dans les nacelles: 85 mm).

Procédure sur système d'aspiration

Bien que le kit **NucleoSpin® 96 Virus** soit originellement conçu pour une utilisation par centrifugation, l'utilisation sur système d'aspiration est également possible. Le volume mort de la membrane de silice lors de l'élution est plus élevé que lors de l'utilisation en centrifugeuse. Afin d'obtenir des éluats concentrés et pour éviter les risques de contaminations croisées, nous recommandons d'effectuer l'élution par centrifugation. Les consommables requis pour la procédure sur système d'aspiration sont différents de ceux utilisés en centrifugeuse. Aussi, pour l'utilisation sur une chambre à vide, nous recommandons les kits **NucleoSpin® 96 Virus Core Kit**. Pour l'utilisation manuelle, une chambre à vide 'NucleoVac 96 Vacuum Manifold' (voir 'Informations de commande') est nécessaire pour les kits **NucleoSpin® 96 Virus Core Kit**.



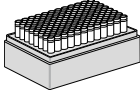


* La lyse doit être effectuée dans des blocs à puits carrés MN si la taille de l'échantillon est de 150 µL. Des blocs à puits carrés MN supplémentaires peuvent être nécessaires (voir les informations de commande).



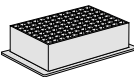

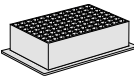
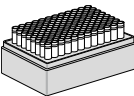

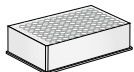
2.4 Accessoires recommandés pour les kits NucleoSpin® 96 Virus Core Kit

Le kit **NucleoSpin® 96 Virus Core Kit** contient les tampons, l'ARN carrier et les plaques NucleoSpin® 96 Virus Binding Plates. Les blocs et composants complémentaires (ex: plaque de lyse, d'éluion et la Protéinase K) ne sont pas inclus dans les 'core kits'. L'utilisateur pourra choisir les consommables les plus adaptés à ses besoins parmi le catalogue d'accessoires proposés par MN.

La procédure **NucleoSpin® 96 Virus Core Kit**, est identique au protocole standard (voir chapitre 5).

Les accessoires recommandés pour les kits **NucleoSpin® 96 Virus Core Kits** sont disponibles au catalogue MACHEREY-NAGEL (voir 'informations de commande'):

Etape du protocole	Consommables adaptés, non inclus dans les 'core kits'		Remarques
1. Lyse des échantillons	Bloc 96 puits ronds avec 12 barrettes de bouchons		Les blocs 96 puits ronds ou les barrettes de tubes peuvent être fermés avec les barrettes de bouchons.
	ou		
	Rack de barrettes de tubes avec 12 barrettes de bouchons	 	
	ou		
	Bloc 96 puits carrés 'MN'		Les blocs 96 puits carrés ne peuvent pas être fermés avec les barrettes de bouchons. Le scellement avec des films adhésifs en PE n'est pas recommandé (risque de décollement lors des étapes de mélange). Le mélange par pipetages répétés est alors recommandé pour homogénéiser les échantillons dans le Tampon de lyse RAV1.
	Blocs 96 puits carrés		
	Protéinase K		Pour certains échantillons, et pour l'extraction de l'ADN viral, l'utilisation de la protéinase K est nécessaire.

Étape du protocole	Consommables adaptés, non inclus dans les 'core kits'		Remarques
2. Création des conditions de fixation	Barrettes de bouchons		Lors de l'utilisation des blocs 96 puits ronds ou des barrettes de tubes pour la lyse des échantillons, des barrettes de bouchons supplémentaires sont nécessaires.
3. Transfert des échantillons	Bloc 96 puits carrés 'MN'		Utilisable pour collecter les déchets liquides.
4. Fixation des acides nucléiques à la membrane	Plaque de lavage 'MN Wash Plate'		La plaque de lavage minimise le risque de contaminations (utilisable lors de la procédure par aspiration uniquement).
5. Lavages de la membrane de silice*	Bloc 96 puits carrés 'MN'		Utilisable pour collecter les déchets liquides.
6. Elution de l'ADN	Barrettes de tubes avec barrettes de bouchons ou Bloc 96 puits ronds	  	Les blocs 96 puits ronds et les barrettes de tubes peuvent être fermés avec les barrettes de bouchons.

* L'utilisation du Bloc 96 puits carrés MN est facultative. Pour la collecte des déchets, le bac à déchets de la chambre à vide NucleoVac peut être utilisé.

2.5 Automatisation de la procédure sur les plateformes robotiques

Les kits **NucleoSpin® 96 Virus Core Kit** sont recommandés pour l'automatisation. Le protocole décrit au paragraphe 5.2 est utilisable comme base de travail pour la création de scripts robotiques pour l'automatisation du kit. Pour connaître la disponibilité de scripts prêts à l'emploi ou des conseils généraux concernant l'automatisation du kit **NucleoSpin® 96 Virus Core Kit** sur certaines plateformes, merci de contacter MACHEREY-NAGEL.

Lors de l'utilisation sur système d'aspiration, l'utilisation de la plaque de lavage à usage unique 'MN Wash Plate', à positionner dans la chambre à vide, est recommandée. Elle permet de minimiser le risque de contaminations croisées induites par la création d'aérosols lors des étapes d'aspiration. Visiter notre site web www.mn-net.com ou contacter votre distributeur local ou MACHEREY-NAGEL directement pour obtenir un support technique concernant l'équipement, les scripts et la sélection du protocole adapté à vos besoins.

2.6 Echantillons biologiques

Echantillons liquides

Les fluides biologiques ou les échantillons semi fluides peuvent être utilisés (ex: sérum, urine, lavages bronchoalvéolaire). Pour le bon déroulement de la purification des acides nucléiques, il est important d'obtenir un lysat clarifié, homogénéisé et non visqueux avant le dépôt sur la plaque NucleoSpin® 96 Virus. Ainsi, vérifier l'absence de précipités dans les échantillons (en particulier s'ils sont anciens ou congelés). Les précipités peuvent être éliminés par centrifugation après l'ajout du tampon de lyse RAV1 et l'incubation de lyse. Eviter de clarifier les échantillons par centrifugation ou filtration avant l'étape de lyse dans le tampon RAV1, car des virus d'intérêt pourraient demeurer associés aux particules solides éliminés. L'incubation dans le tampon de lyse RAV1 peut être prolongée afin de dissoudre et digérer les structures cellulaires, les précipités et les particules virales. L'ARN, cependant, est sensible à la dégradation et une incubation prolongée pourrait réduire le rendement d'extraction.

Echantillons solides (tissus, fèces)

Préparer une suspension à 10 % (masse/volume) de tissus dans le tampon (ex: PBS) en utilisant un broyeur commercial (rotor stator ou système de broyage à billes, etc.) Centrifuger la suspension afin d'éliminer les particules. Utiliser le surnageant clarifié pour la suite de la procédure.

Écouvillons

Incuber l'écouvillon dans un tampon adéquat (ex: PBS) ou du milieu de culture cellulaire pendant 30 min. Poursuivre avec l'échantillons exempt de particules.

* La lyse doit être effectuée dans des blocs 96 puits carrés MN si la taille de l'échantillon est de 150 µL. Des blocs 96 puits carrés MN supplémentaires peuvent être nécessaires (voir les informations de commande).

Echantillons sanguins

Les échantillons de sang total peuvent être utilisés, si possible en les diluent dans du tampon PBS. L'utilisation de sang non dilué peut induire le colmatage de la membrane de silice des plaques NucleoSpin® 96 Virus. Le volume de PBS ajouté pour la dilution doit être optimisé en fonction de la nature et l'origine des échantillons de sang. En règle générale, nous recommandons de débiter avec 50 µL de sang dilué avec 50 µL de tampon PBS.

Volume d'échantillon

Les kits **NucleoSpin® 96 Virus** et **NucleoSpin® 96 Virus Core Kits** sont conçus pour un volume d'échantillon de 100 µL. Si nécessaire, le volume traité peut être augmenté à 150 µL. Pour traiter des échantillons de 150 µL, les volumes de Tampon de lyse RAV1 et d'éthanol doivent être augmentés à 600 µL. En fonction des cônes utilisés, le volume total de lysat (1300 µL) pourra nécessiter deux étapes de chargement sur la plaque NucleoSpin® 96 Virus. Les volumes de tampons contenus dans les kits sont suffisant pour permettre le traitement d'échantillons de 150 µL*.

Traitement à la Protéinase K

L'utilisation de Protéinase K est nécessaire pour l'extraction d'ADN viral ou l'extraction simultanée d'ADN et d'ARN viral. Pour l'extraction d'ARN viral seul, la digestion avec la Protéinase K n'est généralement par nécessaire. Le traitement à la Protéinase K est cependant recommandé pour la purification de l'ARN viral à partir d'échantillons visqueux (ex: crachats).

Lyse des échantillons

Pour l'extraction d'ARN viral, la lyse des échantillons dans le Tampon RAV1 pendant 10 min à 15–25 °C est suffisante. Pour l'extraction d'ARN viral à partir d'échantillons visqueux, par exemple les crachats ou les surnageants de suspension de tissus ou de fèces, une étape de lyse à 70 °C peut être nécessaire. Pour l'extraction, simultanée d'ARN et d'ADN viral, la durée d'incubation (ex: 5–15 min) et la température (ex: TA, 56 °C, ou 70 °C) devront être optimisées en fonctions des échantillons biologiques à traiter.

2.7 ARN carrier

Les kits **NucleoSpin® 96 Virus** contiennent un ARN carrier optimisant la fixation des acides nucléiques viraux à la membrane de silice et réduisant le risque de dégradation de l'ARN viral. Noter que les éluats issus de la procédure **NucleoSpin® 96 Virus** contiennent les acides nucléiques viraux et l'ARN carrier, dont la quantité peut excéder celle des acides nucléiques viraux purifiés. Ainsi, il n'est pas possible de quantifier les acides nucléiques viraux extraits au moyen de méthodes photométriques ou fluorométriques. Des méthodes spécifiques de quantification comme la PCR ou la RT-PCR quantitative sont recommandées. En outre, l'ARN carrier peut inhiber les réactions de PCR. La quantité d'ARN carrier utilisée peut nécessiter des optimisations, selon le système de PCR utilisé.

* La lyse doit être effectuée dans des blocs 96 puits carrés MN si la taille de l'échantillon est de 150 µL. Des blocs 96 puits carrés MN supplémentaires peuvent être nécessaires (voir les informations de commande).

2.8 Procédures d'élution

Le rendement d'élution de l'ARN ou de l'ADN viral fixé sur la membrane de silice dépend du volume de tampon d'élution utilisé. Celui-ci peut être ajusté de 75 à 200 µL, le volume distribué optimal étant de 100–125 µL. Le volume mort de la membrane est d'environ 45 µL, il est ainsi aisé d'estimer le volume final récupéré en fonction du volume déposé sur la membrane.

Concentration optimisée: lorsqu'un volume réduit de tampon d'élution est utilisé (75–100 µL), environ 70–80 % des acides nucléiques fixés peuvent être élués, induisant une forte concentration d'ARN/ADN viral extrait. Il est également possible de procéder à l'élution en deux étapes avec, par exemple, 75 µL chacune, ce qui permet d'obtenir une meilleure efficacité d'élution mais un éluat moins concentré.

Préchauffer le tampon d'élution (70 °C): Utiliser le tampon d'élution préchauffé permet d'améliorer l'efficacité de l'élution et donc le rendement total. En option, il est possible d'incuber la plaque NucleoSpin® 96 Virus pendant 3 min à 60–70 °C après le dépôt du tampon d'élution et avant de procéder à l'élution finale.

3 Conditions de stockage et préparation des réactifs

Attention: les Tampons RAV1 et RAW contiennent des sels de guanidine! Porter des gants et des lunettes de protection !

ATTENTION: le tampon RAV1 contient du thiocyanate de guanidine et le Tampon RAW contient du chlorhydrate de guanidine, pouvant former des composés hautement réactifs en cas de mélange avec de l'eau de Javel. NE PAS ajouter de javel ou de solutions acides directement dans les déchets liquides issus de la procédure.

Avant de débuter toute procédure **NucleoSpin® 96 Virus (Core Kit)**, préparer les réactifs suivants:

- **Tampon de lavage RAV3:** Ajouter le volume d'éthanol 96–100 % indiqué sur le flacon de **Tampon de lavage RAV3 concentré** fourni dans le kit. Indiquer sur l'étiquette que l'ajout d'éthanol a bien été effectué.
- Avant la première utilisation du kit, ajouter le volume de **Tampon de Protéinase PB** indiqué sur le flacon de Protéinase lyophilisé pour dissoudre l'enzyme lyophilisée. La solution de Protéinase K est stable à -20 °C pendant 6 mois. Diviser la solution en aliquotes.
- Avant utilisation, ajouter 1 mL de Tampon de lyse RAV1 dans le tube d'**ARN carrier** lyophilisé. Dissoudre l'ARN carrier et transférer le dans le flacon de RAV1. Indiquer sur le flacon que l'ARN carrier a été ajouté. En raison du mode de production et de la faible quantité d'ARN carrier lyophilisé contenu dans le flacon, celui-ci peut ne pas être visible dans le flacon.

L'ARN carrier dispose d'une durée de conservation limitée une fois dissous dans le tampon de lyse RAV1. Pour cela, les kits **NucleoSpin® 96 Virus (Core Kit)** contiennent plusieurs flacons d'ARN carrier.

Stockage de l'ARN carrier dans le tampon RAV1

Le tampon RAV1 contenant l'ARN carrier peut être stocké à 15–25 °C pendant 1–2 semaines. La conservation à 15–25 °C prévient la précipitation des sels et évite de devoir préchauffer la solution pour les dissoudre.

Pour une conservation jusqu'à 4 semaines du Tampon RAV1 contenant l'ARN carrier, le stockage à 4°C est recommandé. Pour un stockage à long terme, préparer des aliquotes et conserver à -20 °C. La conservation à 4 °C peut induire la précipitation de sels. Ainsi, le mélange devra être réchauffé à 40–60 °C pendant au plus 5 min afin de dissoudre les précipités de sels.

Attention:

Des incubations à chaud répétées, à des températures > 80 °C, ou de longue durée induiront la dégradation de l'ARN carrier et peuvent donc impacter négativement le rendement d'extraction de l'ARN viral, au risque de fausser les résultats des RT-PCR et d'induire des faux négatifs. Ne pas réchauffer le Tampon RAV1 contenant l'ARN carrier plus de 4 fois!

NucleoSpin® 96 Virus		
REF	2 x 96 preps 740691.2	4 x 96 preps 740691.4
Tampon de lavage RAV3 (Concentré)	100 mL Ajouter 400 mL d'éthanol	2 x 100 mL Ajouter 400 mL d'éthanol dans chaque flacon
Protéinase K (lyophilisée)	2 x 50 mg Ajouter 2.5 mL de Tampon de Protéinase PB dans chaque flacon	3 x 75 mg Ajouter 3.5 mL de Tampon de Protéinase PB dans chaque flacon
ARN carrier (lyophilisé)	3 x 1 mg Transférer le contenu de chaque flacon dans une bouteille de 40 mL de Tampon RAV1	6 x 1 mg Transférer le contenu de chaque flacon dans une bouteille de 40 mL de Tampon RAV1

NucleoSpin® 96 Virus Core Kit	
REF	4 x 96 preps 740452.4
Tampon de lavage RAV3 (Concentré)	2 x 100 mL Ajouter 400 mL d'éthanol dans chaque flacon
ARN carrier (lyophilisé)	6 x 1 mg Transférer le contenu de chaque flacon dans une bouteille de 40 mL de Tampon RAV1

4 Instructions de sécurité

Lors de l'utilisation des kits **NucleoSpin® 96 Virus** ou **NucleoSpin® 96 Virus Core Kit**, portez des équipements de protection adaptés (ex: blouse de laboratoire, gants jetables, lunettes de protection). Pour plus d'informations, consulter les Fiches de Données de Sécurité (FDS disponibles en ligne: www.mn-net.com/msds).



Attention: le thiocyanate de guanidine contenu dans les Tampons RAV1 et le chlorhydrate de guanidine contenu dans le Tampon RAW peuvent former des composés hautement réactifs en présence d'eau de Javel! Ne pas ajouter d'eau de Javel ou de solutions acides dans les déchets liquides issus de la procédure.

L'absence de matériel infectieux résiduel dans les déchets issus de la procédure **NucleoSpin® 96 Virus** ou **Core Kit** n'a pas été testée. Une contamination des déchets liquides avec des résidus de matériel infectieux est hautement improbable en raison de l'utilisation d'un tampon de lyse fortement dénaturant et du traitement à la Protéinase K, mais ne peut être totalement exclue. Ainsi, les déchets liquides doivent être considérés comme potentiellement infectieux et être manipulés et éliminés conformément à la réglementation locale.

4.1 Élimination des déchets

Éliminer les substances dangereuses, potentiellement infectieuses ou le matériel biologique contaminé de manière conforme à la réglementation en vigueur.

5 Protocoles

5.1 NucleoSpin® 96 Virus – procédure par centrifugation

- Pour les équipements nécessaires, voir le paragraphe 2.3.
- Pour des informations détaillées à propos de chaque étape, voir page 20.
- Pour utiliser les kits NucleoSpin® 96 Virus Core Kit (REF 740452.4), voir le paragraphe 2.4 à propos des accessoires recommandés.

Avant de débiter la préparation:

- Vérifier que les Tampons RAV1, RAV3 et la Protéinase K ont été préparés selon les recommandations du chapitre 3.
- Régler un incubateur ou une étuve à 25–70 °C.
- Préchauffer le Tampon d'éluion RE ou l'eau à 70 °C.

Résumé du protocole

1	Lyse des échantillons	100 µL d'échantillon 400 µL de Tampon RAV1 (20 µL de Protéinase K) Mélanger 25–70 °C, 10 min
2	Création des conditions de fixation	400 µL d'éthanol (96–100 %) Mélanger
3	Transfert des échantillons dans la plaque NucleoSpin® 96 Virus	
4	Fixation de l'ARN et de l'ADN viral à la membrane de silice de la plaque NucleoSpin® 96 Virus	5,600–6,000 x g, 2 min

5	Lavage de la membrane de silice	500 µL RAW
		5,600–6,000 x g, 2 min
		700 µL RAV3
		5,600–6,000 x g, 2 min
		700 µL RAV3

5,600 x g
15 min

6	Elution de l'ARN et de l'ADN viral	100 µL RE (70 °C)
		5,600–6,000 x g, 2 min

Option: Répéter l'éluion une fois

Protocole détaillé

Ce protocole standard est recommandé pour la purification de l'ARN viral, par exemple HCV ou HIV. Les virus à ADN, comme le CMV peuvent aussi être extraits mais une étape de digestion à la Protéinase K lors de la lyse est alors recommandée.

Placer la plaque NucleoSpin® 96 Virus sur un bloc 96 puits carrés. L'utilisation de deux plaques en parallèle permet d'éviter de devoir équilibrer la centrifugeuse à chaque étape.

- Pour des informations concernant l'équipement nécessaire, voir le paragraphe 2.3.
- Pour utiliser les kits NucleoSpin® 96 Virus Core Kit (REF 740452.4), voir le paragraphe 2.4 pour des informations concernant les accessoires compatibles.

Avant de débiter la procédure:

- Vérifier que les Tampons RAV1, RAV3 et la protéinase K ont bien été préparés selon les instructions du chapitre 3.
- Régler un incubateur ou une étuve à 25–70 °C.
- Préchauffer le Tampon d'éluion RE ou l'eau RNase-Free à 70 °C.

1 Lyse des échantillons

Déposer **400 µL de Tampon RAV1** dans les puits des barrettes de tubes ou dans un bloc à puits ronds. Distribuer le tampon au fond des puits.

Si des échantillons de 150 µL sont traités, pipeter 600 µL de Tampon RAV1 dans les puits.*

L'utilisation d'une pipette électronique 8 canaux munie de cônes longs capables de transférer plus de 650 µL est recommandée.

Déposer **100 µL d'échantillon** dans les puits contenant le Tampon RAV1. Veiller à bien déposer les échantillons directement dans le Tampon RAV1. Mélanger en pipétant plusieurs fois le mélange. Ne pas souiller les parois.

Refermer les barrettes de tubes ou les puits des blocs 96 puits ronds avec les barrettes de bouchons. Incuber le mélange pendant **10 min à température ambiante (18–25 °C)**.

*Option : Ajouter **20 µL de Protéinase K** dans chaque échantillon mélangé avec le Tampon RAV1. Refermer les puits de lyse avec les barrettes de bouchons et incuber pendant **5–10 min à 56–70°C**. L'ajout de la Protéinase K est nécessaire pour l'extraction de l'ADN viral et peut s'avérer utile pour la purification de l'ARN viral à partir de certains échantillons. Pour des détails concernant la durée et la température d'incubation, voir le paragraphe 2.6.*

Centrifuger (**30 s ; 1,500 x g**) avant d'enlever les barrettes de bouchons.

* La lyse doit être effectuée dans des blocs 96 puits carrés MN si la taille de l'échantillon est de 150 µL. Des blocs 96 puits carrés MN supplémentaires peuvent être nécessaires (voir les informations de commande).

2 Création des conditions de fixation des acides nucléiques

Enlever les barrettes de tubes et ajouter **400 µL d'éthanol (96 – 100 %)** dans chaque lysat. Veiller à ne pas souiller les parois supérieures des tubes lors de la distribution de l'éthanol. Refermer les puits avec de nouveaux bouchons (fournis). Retourner le bloc de lyse 10 fois et **mélanger** par agitation pendant **15 s**. Centrifuger (**30 s ; 1,500 x g**) avant d'enlever les barrettes de bouchons.

Si le volume d'échantillon à traiter est de 150 µL, ajouter 600 µL d'éthanol (96 – 100 %) dans chaque lysat.

3 Transfert des échantillons dans les plaques NucleoSpin® 96 Virus

Enlever les bouchons et transférer la totalité de l'échantillon dans les puits de la plaque NucleoSpin® 96 Virus placée sur un bloc 96 puits carrés MN. Ne pas souiller les parois supérieures des puits lors du dépôt afin d'éviter tout risque de contaminations croisées lors de la centrifugation. Sceller la plaque NucleoSpin® 96 Virus avec un film adhésif en PE.

4 Fixation des acides nucléiques viraux à la membrane de silice

Placer le bloc et la plaque NucleoSpin® 96 Virus dans la nacelle de la centrifugeuse. Centrifuger à **5,600 – 6,000 x g** pendant **2 min**.

En général, les échantillons passent totalement à travers la membrane de silice en ≤ 1 min.

Optionnel : Si le volume d'échantillon à traiter est de 150 µL, déposer les échantillons successivement dans la plaque NucleoSpin® 96 Virus comme indiqué à l'étape 3. Dans ce cas, utiliser un nouveau bloc 96 puits carrés pour les étapes de lavages, le volume maximal des puits du bloc pouvant être dépassé (des blocs supplémentaires sont disponibles séparément, voir 'Informations de commande').

5 Lavages de la membrane de silice

1^{er} lavage

Enlever le film adhésif en PE et déposer **500 µL de Tampon RAW** dans les puits de la plaque NucleoSpin® 96 Virus. Sceller la plaque NucleoSpin® 96 Virus avec un nouveau film adhésif en PE. Centrifuger à **5,600 – 6,000 x g** pendant **1 – 2 min**.

Enlever le film adhésif en PE et placer la plaque NucleoSpin® 96 Virus sur un nouveau bloc 96 puits carrés.

2^{ème} lavage

Déposer **700 µL de Tampon RAV3** dans chaque puits de la plaque NucleoSpin® 96 Virus. Sceller la plaque avec un nouveau film adhésif en PE. Centrifuger à **5,600 – 6,000 x g** pendant **1 – 2 min**.

3^{ème} lavage

Répéter le deuxième lavage. Prolonger la centrifugation pendant **15 min** afin d'éliminer l'éthanol provenant du Tampon RAV3

Alternative : enlever le film adhésif en PE et placer la plaque NucleoSpin® 96 Virus dans un incubateur à 37°C pendant 20 min pour permettre l'évaporation de l'éthanol.

L'élimination de l'éthanol par évaporation à 37 °C est plus efficace qu'une étape supplémentaire de centrifugation prolongée (15 min, 6,000 x g).

6 Elution de l'ARN et de l'ADN viral

Placer la plaque NucleoSpin® 96 Virus sur un bloc de barrettes de tubes.

Déposer **75–100 µL d'eau RNase-free** ou de **Tampon RE (préchauffé à 70 °C)** dans chacun des puits de la plaque NucleoSpin® 96 Virus. Déposer le tampon directement sur la membrane de silice. Incuber à température ambiante pendant 1 min. Sceller avec un nouveau film adhésif en PE. Centrifuger à **5,600–6,000 x g** pendant **2–3 min**.

Les barrettes de tubes contenant l'ARN/ADN purifié peuvent être refermés avec les barrettes de bouchons pour le stockage.

Le rendement sera accru de 10–15% en utilisant 100–200 µL de tampon d'éluion. La concentration en acides nucléiques, cependant, sera diminuée. Pour les applications de RT-PCR/PCR, la concentration est généralement à privilégier. Si seul l'ADN viral est à purifier, l'éluion sera effectuée en utilisant le Tampon d'éluion RE, optimisé pour l'éluion et le stockage de l'ADN.

5.2 NucleoSpin® 96 Virus (Core Kit) – procédure sur système d'aspiration

- Pour les équipements nécessaires, voir le paragraphe 2.3.
- Pour des informations détaillées à propos de chaque étape, voir page 26.
- Pour des informations concernant la chambre à vide et son montage, voir page 25.
- Pour utiliser le kit **NucleoSpin® 96 Virus Core Kit** (REF 740452.4), voir le paragraphe 2.4 à propos des accessoires recommandés.

Avant de débiter la préparation:

- Vérifier si les Tampons RAV1, RAV3 et la Protéinase K ont été préparés selon les instructions du chapitre 3.
- Régler un incubateur ou une étuve à 25–70 °C.
- Préchauffer le Tampon d'éluion RE ou l'eau à 70 °C.

Résumé du protocole

1	Lyse des échantillons	100 µL d'échantillon 400 µL de Tampon RAV1 (20 µL Protéinase K) Mélanger 25–70 °C, 10 min
2	Création des conditions de fixation	400 µL d'éthanol (96–100%) Mélanger
3	Transfert de l'échantillon sur la plaque NucleoSpin® 96 Virus	
4	Fixation des acides nucléiques sur la plaque NucleoSpin® 96 Virus	-0.2 bar*, 5 min

* Réduction de la pression atmosphérique.

- | | | |
|----------|---|-------------------------------|
| 5 | Lavage et séchage de la membrane de silice | 500 µL RAW |
| | | - 0.2 bar* |
| | | 5 min |
| | | 700 µL RAV3 – 0.2 bar* |
| | | 2 min |
| | | 700 µL RAV3 – 0.2 bar* |
| | | 5 min |
-

Enlever la plaque 'MN Wash Plate'

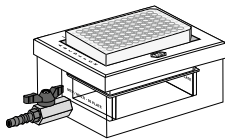
- | | | |
|----------|---|--------------------------|
| 6 | Elution de l'ARN et de l'ADN viral | - 0.6 bar* |
| | | 15 min |
| | | 100 µL RE (70 °C) |
| | | - 0.4 bar* |
| | | 2 min |
-

Option: Répéter l'élution une fois

Note: l'élution par centrifugation est recommandée.

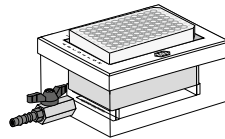
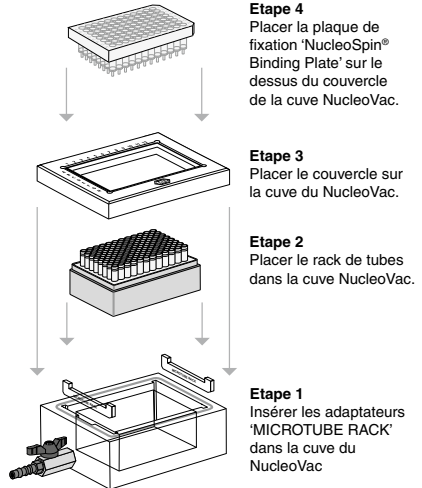
Montage de la chambre à vide:

Etapes de fixation et de lavage



Configuration finale

Etape d'élu­tion



Configuration finale

Protocole détaillé

Alors que pour les kits **NucleoSpin® 96 Virus**, la procédure par centrifugation détermine les consommables à utiliser (barrettes de tubes, blocs 96 puits carrés, etc.) la procédure sur système d'aspiration permet plus de flexibilité au niveau des consommables.

Lorsque de nombreux échantillons sont traités en parallèle selon la procédure par aspiration, la prévention des contaminations croisées potentielles, liées à la création d'aérosols, est cruciale. L'utilisation de la plaque de lavage 'MN Wash Plate' permet de minimiser ce risque. Cet accessoire efficace est donc vivement recommandé lors de la procédure par aspiration.

L'utilisation des kits **NucleoSpin® 96 Virus** et du **Core Kit** par aspiration nécessite la chambre à vide 'NucleoVac 96 Vacuum Manifold' (voir 'Informations de commande'). Placer la plaque NucleoSpin® 96 Virus sur la chambre à vide NucleoVac. Si le nombre d'échantillons à traiter est inférieur à 96, sceller les puits vides avec un film adhésif en PE afin de garantir un vide adéquat lors des étapes de filtration.

Ce protocole standard est recommandé pour la purification de l'ARN viral, par exemple HCV ou HIV. Les virus à ADN comme CMV peuvent également être extraits, la digestion à la protéinase K est alors recommandée (non fournie dans les kits 'core kit')

- Pour les équipements nécessaires, voir le paragraphe 2.3.
- Pour des informations détaillées à propos du montage de la chambre à vide, voir page 25.
- Pour utiliser le kit **NucleoSpin® 96 Virus Core Kit** (REF 740452.4), voir le paragraphe 2.4 à propos des accessoires recommandés.

Avant de débiter la préparation:

- Vérifier que les Tampons RAV1, RAV3 et la Protéinase K ont bien été préparés selon les recommandations du chapitre 3.
- Régler un bloc chauffant ou une étuve à 25 – 70 °C.
- Réchauffer le Tampon d'éluion RE ou l'eau RNase-Free à 70 °C.

1 Lyse des échantillons

Pipeter **400 µL de Tampon RAV1** dans les puits d'un contenant adapté pour la lyse. Distribuer la solution au fond des puits.

Si le volume d'échantillon à traiter est de 150 µL, déposer 600 µL de Tampon RAV1 dans les puits.*

Nous recommandons l'utilisation d'une pipette 8 canaux, dotée de cônes extra-longes et capable de transférer plus de 650 µL.

Déposer **100 µL d'échantillon** dans les puits contenant le Tampon RAV1. Veiller à déposer les échantillons directement dans le Tampon RAV1.

* La lyse doit être effectuée dans des blocs 96 puits carrés MN si la taille de l'échantillon est de 150 µL. Des blocs 96 puits carrés MN supplémentaires peuvent être nécessaires (voir les informations de commande).

Mélanger par pipetages répétés plusieurs fois. Ne pas contaminer la partie supérieure des puits.

Refermer les puits et incuber le mélange pendant **10 min** à **température ambiante (18–25 °C)**.

*Optionnel : Ajouter **20 µL de Protéinase K** (20 mg/mL) dans chaque échantillon mélangé au Tampon RAV1. Fermer les puits et incuber pendant **5–10 min** à **56–70 °C**. L'ajout de Protéinase K est nécessaire pour l'extraction de l'ADN viral et peut s'avérer utile pour l'extraction de l'ARN viral à partir de certains types d'échantillons. Pour des détails concernant la durée et la température d'incubation, voir le paragraphe 2.6.*

Centrifuger brièvement (**30 s, 1,500 x g**) pour collecter les gouttes, si nécessaire, avant d'ouvrir les puits.

2 Création des conditions de fixation

Ouvrir les puits et distribuer **400 µL d'éthanol (96–100 %)** dans chaque échantillon. Veiller à ne pas souiller la partie supérieure des puits lors du pipetage. Refermer les puits avec de nouveaux bouchons, retourner le bloc de lyse 10 x, et mélanger en agitant pendant **15 s**. Centrifuger brièvement (**30 s, 1,500 x g**) pour collecter les gouttes d'échantillons au niveau des bouchons.

Si le volume d'échantillon à traiter est de 150 µL, ajouter 600 µL d'éthanol (96–100 %) dans chaque lysat.

3 Transfert des échantillons dans la plaque NucleoSpin® 96 Virus

Placer la poubelle pour les déchets liquides dans la cuve de la chambre à vide. Des blocs 96 puits peuvent être également utilisés pour la collecte des déchets. Insérer les cales "MTP/MULTI-96 PLATE", échancre vers le haut dans les fentes latérales de la cuve et placer dessus la plaque "MN Wash Plate". Refermer la chambre à vide et placer la plaque NucleoSpin® 96 Virus sur le couvercle.

Transférer les échantillons dans les puits de la plaque en veillant à ne pas souiller le haut des puits.

4 Fixation des acides nucléiques viraux à la membrane de silice

Appliquer un vide de **-0.2 à -0.4 bar*** pour permettre la filtration des échantillons à travers la membrane (**2–5 min**). Le débit de filtration idéal est d'environ 1–2 gouttes par seconde. Régler le vide de manière à obtenir ce flux.

* Réduction de la pression atmosphérique.

5 Lavage et séchage de la membrane de silice

1^{er} lavage

Déposer **500 µL de Tampon RAW** dans les puits de la plaque NucleoSpin® 96 Virus. Appliquer le vide (**- 0.2 à - 0.4 bar***) jusqu'au passage complet du tampon à travers les membranes de silice de la plaque NucleoSpin® 96 Virus (**2–5 min**). Rompre le vide.

2^{ème} lavage

Déposer **700 µL de Tampon RAV3** dans les puits de la plaque NucleoSpin® 96 Virus. Appliquer le vide (**- 0.2 à - 0.4 bar***) jusqu'au passage complet du tampon à travers les membranes de silice de la plaque NucleoSpin® 96 Virus (**2–5 min**). Rompre le vide.

3^{ème} lavage

Déposer **700 µL de Tampon RAV3** dans les puits de la plaque NucleoSpin® 96 Virus. Appliquer le vide (**- 0.2 à - 0.4 bar***) jusqu'au passage complet du tampon à travers les membranes de silice de la plaque NucleoSpin® 96 Virus (**2–5 min**). Rompre le vide.

Enlever la plaque 'MN Wash Plate'

Après le dernier lavage, fermer la valve, rompre le vide et enlever la plaque NucleoSpin® 96 Virus. Déposer le couvercle et retirer la plaque 'MN Wash Plate', ainsi que la poubelle de déchets liquides.

Optionnel : si nécessaire, tapoter la plaque NucleoSpin® 96 Virus sur un papier absorbant propre (inclus avec la 'MN Wash Plate') pour éliminer les gouttelettes de tampon de lavage des embouts des puits

Réassembler la chambre à vide et sécher la membrane en appliquant le vide maximal (**ex : - 0.6 bar***) pendant **15 minutes**.

6 Elution de l'ARN et de l'ADN viral

Placer un bloc d'éluat adapté sur les cales correspondantes (ex : 'MICROTUBE RACK') dans la cuve. Refermer la chambre à vide et placer la plaque NucleoSpin® 96 Virus sur le couvercle. Déposer **100 µL d'eau RNase-free** ou de **Tampon RE (préchauffé à 70 °C)** dans chacun des puits. Distribuer l'eau ou le tampon d'éluat directement sur la membrane de silice. Incuber à température ambiante pendant **2–3 min** et appliquer un vide de **-0.4 bar*** jusqu'au passage complet de l'éluat.

Si seul l'ADN viral est extrait, l'éluat sera effectuée dans le Tampon d'éluat RE, optimisé pour favoriser l'éluat et le stockage de l'ADN.

Optionnel : Répéter l'éluat une fois (l'incubation n'est alors pas nécessaire).

Note : l'éluat par aspiration peut induire des contaminations croisées liées à la formation d'aérosols. Si possible, utiliser la centrifugation pour l'étape d'éluat.

* Réduction de la pression atmosphérique.

6 Annexes

6.1 Optimisation des performances

Problème	Causes possibles et suggestions
Rendement faible ou nul	<p><i>Problèmes avec l'ARN carrier</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Omission de l'ARN carrier. Voir les remarques concernant la conservation du Tampon RAV1 contenant l'ARN carrier (paragraphe 2.7). <p><i>Digestion avec la Protéinase K</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Pour certains types d'échantillons et pour l'extraction de l'ADN viral, l'utilisation de la Protéinase K est requise lors de la lyse. Comparer les résultats obtenus avec et sans digestion à la Protéinase K. <p><i>Acides nucléiques viraux dégradés</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Les échantillons doivent être extraits rapidement. Si nécessaire, ajouter un inhibiteur de RNases aux échantillons. Créer un environnement de travail exempt de nucléases. Utiliser des cônes et réservoirs de tampons appropriés. Vérifier la préparation et les conditions de stockage de tous les tampons. En cas de doute, utiliser de nouvelles aliquotes de Tampon RAV1 et de Tampon d'éluion.
	<p><i>Sensibilité réduite</i></p> <ul style="list-style-type: none"> L'ARN carrier peut interférer avec les systèmes de PCR/RT-PCR utilisés. Changer le volume d'ADN/ARN viral utilisé pour la PCR/RT-PCR. Diluer les éluats afin de réduire les inhibitions. Réduire la concentration en ARN carrier dans le tampon RAV1. La détermination de la concentration optimale d'ARN carrier peut nécessiter quelques tests préliminaires <p><i>Contamination par de l'éthanol</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Prolonger la centrifugation de manière à totalement éliminer le Tampon RAV3. <p><i>Inhibition de la PCR</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Ajouter une étape de lavage supplémentaire avec l'éthanol 96 – 100 % après le dernier lavage avec RAV3.
Problèmes de détection des acides nucléiques viraux	<p><i>Membrane colmatée</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Centrifuger les lysats avant l'ajout de l'éthanol et le chargement de la plaque NucleoSpin® 96 Virus.

6.2 Informations de commande

Produit	REF	Conditionnement
NucleoSpin® 96 Virus	740691.2	2 x 96 preps
	740691.4	4 x 96 preps
NucleoSpin® 96 Virus Core Kit	740452.4	4 x 96 preps
NucleoSpin® 8 Virus	740643	12 x 8 preps
	740643.5	60 x 8 preps
NucleoSpin® 8 Virus Core Kit	740451.4	48 x 8 preps
Protéinase K	740506	100 mg
Blocs 96 puits carrés 'MN'	740476	4
Blocs 96 puits carrés	740481	4
Blocs 96 puits ronds avec barrettes de bouchons (1 set comprend 1 bloc 96 puits ronds et 12 barrettes de bouchons)	740475	4
Rack de barrettes de tubes avec barrettes de bouchons (1 set comprend 1 support, 12 barrettes de 8 tubes 1,2 mL et 12 barrettes de bouchons)	740477	4
Barrettes de bouchons	740478	48
Plaques 'MN Wash Plates'	740479	4
Film adhésif en PE	740676	50
Adaptateur 'MN Frame' (pour l'utilisation des kits sur les chambres à vide des automates BioRobot® 9600, 9604, and 3000 (Qiagen), MultiPROBE® II (PerkinElmer), Biomek® 2000, and FX (Beckman Coulter))	740680	1
Accessoires 'Starter Set A' (pour l'utilisation du format NucleoSpin 8 sur la chambre à NucleoVac 96 ou sur automate)	740682	1
Accessoires 'Starter Set C' (pour l'utilisation du format NucleoSpin 8 par centrifugation)	740684	1
Chambre à vide NucleoVac 96	740681	1
Manomètre NucleoVac	740641	1

Produit	REF	Conditionnement
Adaptateur pour colonnes 'Column Holder A'	740480	1

6.3 Restriction d'utilisation / garantie

Les composants du kit **NucleoSpin® 96 Virus (Core Kit)** 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-VITRO**.

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.

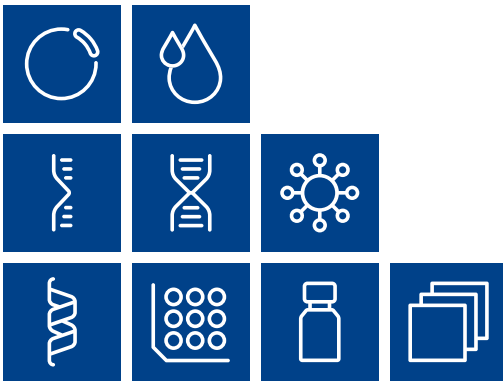
Dernière mise à jour : 07/2010, Rév. 03

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

Marques déposées :

Biomek[®] est une marque déposée de Beckman Coulter Inc.
BioRobot[®] est une marque déposée du groupe Qiagen.
MultiPROBE[®] est une marque déposée de Perkin Elmer Inc.
NucleoSpin[®] est une marque déposée de MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG

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

