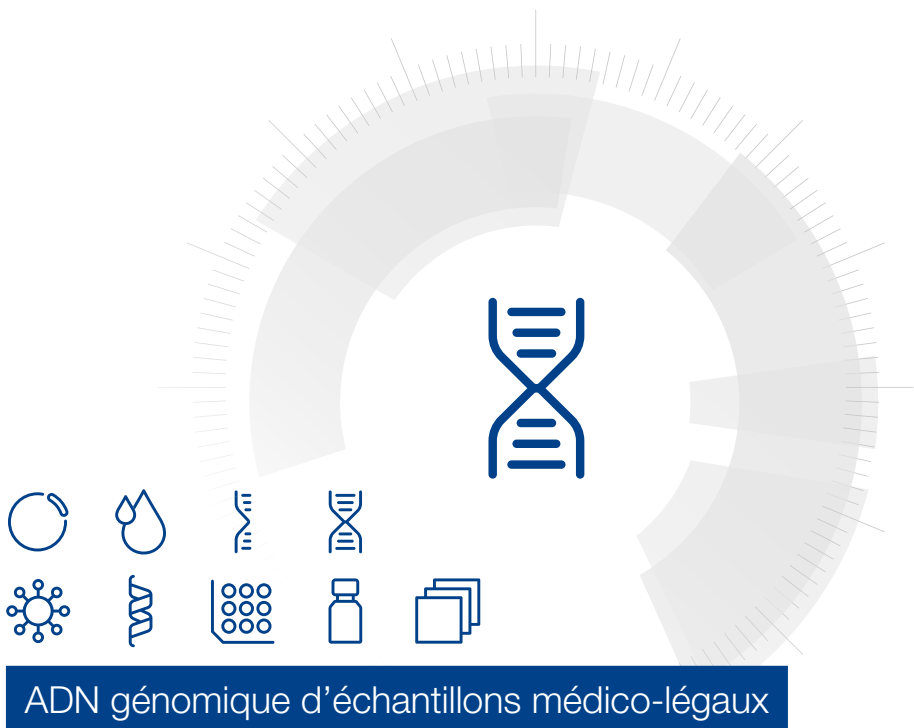


MACHEREY-NAGEL

# Manuel d'utilisation



ADN génomique d'échantillons médico-légaux

■ NucleoMag® DNA Forensic

Septembre 2024 / Rev. 04

## 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](mailto:info@mn-net.com)

### Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-333  
E-mail: [support@mn-net.com](mailto:support@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](mailto: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](mailto: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](mailto:sales-ch@mn-net.com)

## Sommaire

1 Composants	4
1.1 Contenu du kit	4
1.2 Consommables et équipements à fournir par l'utilisateur	5
1.3 A propos de ce manuel	5
2 Description du produit	6
2.1 Principe général	6
2.2 Caractéristiques du kit	6
2.3 Systèmes de séparation magnétique	8
2.4 Réglage des paramètres d'agitation	9
2.5 Manipulation des billes	10
2.6 Procédures d'éluion	11
3 Conditions de stockage et préparation des réactifs	12
4 Instructions de sécurité	13
4.1 Elimination des déchets	13
5 Protocole pour l'extraction d'ADN génomique à partir d'échantillons médico-légaux	14
6 Annexes	20
6.1 Guide de résolution des problèmes	20
6.2 Les informations de commande	22
6.3 Restriction de l'utilisation du produit /garantie	23
6.4 Versions linguistiques et prédominance	23

# 1 Composants

## 1.1 Contenu du kit

<b>NucleoMag® DNA Forensic</b>		
<b>REF</b>	<b>1 × 96 preps 744660.1</b>	<b>4 × 96 preps 744660.4</b>
NucleoMag® F-Beads	1,4 mL	2 × 2,6 mL
Tampon de lyse FOL	50 mL	250 mL
Tampon de fixation FOB	100 mL	300 mL
Tampon de lavage FOW1	80 mL	200 mL
Tampon de lavage FOW2	25 mL	100 mL
Tampon d'éluion FOE	13 mL	60 mL
Protéinase K liquide	2 × 1250 µL	9 mL
Agent réducteur TCEP	14 mg	2 × 14 mg
Manuel d'utilisation	1	1

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

## 1.2 Consommables et équipements à fournir par l'utilisateur

Produit	REF	Conditionnement
<b>Séparateur magnétique</b> NucleoMag® SEP (voir chapitre 3).	744900	1
<b>Plaque de séparation pour la séparation des billes magnétiques,</b> Square-well Block (Bloc 96 puits avec des puits carrés de 2.1 mL)	740481 740481.24	4 24
<b>Tubes de lyse pour l'incubation des échantillons et la lyse,</b> p.e., Rack of Tubes Strips (1 set comprend 1 Rack, 12 barrettes de 8 tubes (puits de 1,2 mL) chacune, et 12 barrettes de 8 bouchons)	740477 740477.24	4 sets 24 sets
<b>Plaque d'éluion pour la collecte d'acides nucléiques purifiés,</b> p.e., plaque d'éluion à fond en U (microplaque de 96 puits de 0,3 mL avec des puits à fond en U)	740486.24	24
<b>Pour l'utilisation du kit sur l'instrument KingFisher® 96 :</b> p.e., kit d'accessoires 96 puits A pour KingFisher® (Square-well Blocks, Deep-well tip combs, Plaques pour 4 × 96 NucleoMag® Trace preps utilisant la plateforme KingFisher® 96)	744950	1 set

## 1.3 A propos de ce manuel

Il est fortement recommandé aux personnes qui utilisent pour la première fois le kit **NucleoMag® DNA Forensic** de lire les paragraphes détaillés du protocole de ce manuel d'utilisation. Les utilisateurs expérimentés peuvent toutefois se référer au résumé du protocole. Le résumé du protocole est conçu pour être utilisé uniquement comme un outil complémentaire permettant de se référer rapidement aux différentes étapes lors de la procédure de purification.

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

Veuillez contacter le service technique pour obtenir des informations sur les modifications apportées au présent manuel d'utilisation par rapport aux révisions précédentes.

## 2 Description du produit

### 2.1 Principe général

La procédure **NucleoMag® DNA Forensic** est basée sur l'adsorption réversible des acides nucléiques sur des billes paramagnétiques dans des conditions de tampons appropriées. La lyse est réalisée par incubation des échantillons avec la protéinase K à 56 °C (optionnel : à TA). Pour ajuster les conditions de fixation des acides nucléiques aux billes paramagnétiques ou à la membrane de silice, le tampon FOB et les NucleoMag® F-Beads sont ajoutés au lysat. Après la séparation magnétique, les billes paramagnétiques sont lavées trois fois pour éliminer les contaminants et les sels à l'aide des tampons de lavage FOW1 et FOW2. L'éthanol résiduel des étapes de lavage précédentes est éliminé par une étape de séchage. Enfin, l'ADN hautement purifié est élué avec le tampon d'éluion à faible teneur en sel (FOE) et peut être directement utilisé pour des applications en aval. Le kit **NucleoMag® DNA Forensic** peut être utilisé manuellement ou automatiquement sur des robots pipeteurs standards ou des séparateurs magnétiques automatisés.

Nous pouvons fournir une assistance personnalisée, des informations sur les protocoles ou des programmes vérifiés pour de nombreuses plateformes. Pour plus d'informations, veuillez contacter notre support technique ou visiter le site [www.mn-net.com/automation](http://www.mn-net.com/automation).

### 2.2 Caractéristiques du kit

- **NucleoMag® DNA Forensic** est conçu pour la préparation rapide, manuelle et automatisée, d'ADN génomique très pur à partir d'écouvillons buccaux ou d'autres échantillons médico-légaux, par exemple des taches de sang séché, des échantillons « trace et toucher » ou des filtres de cigarettes. Le kit est conçu pour être utilisé avec le séparateur magnétique **NucleoMag® SEP** (voir les informations de commande) ou tout autre système de séparation magnétique (voir paragraphe 2.3). Le temps de préparation manuelle de 96 échantillons est d'environ 120 minutes. L'ADN purifié peut être utilisé directement comme matrice pour la PCR ou tout autre type de réaction enzymatique.
- **NucleoMag® DNA Forensic** permet une automatisation facile sur les instruments courants de manipulation des liquides ou les séparateurs magnétiques automatisés. Le temps de préparation réel dépend de la configuration de l'instrument et du système de séparation magnétique utilisé. Typiquement, 96 échantillons peuvent être purifiés en moins de 120 minutes en utilisant le **NucleoMag® SEP** sur la plateforme d'automatisation.
- Le kit fournit des réactifs pour la purification d'un maximum de 7 µg d'ADN génomique pur à partir d'échantillons appropriés (rendements typiques pour l'extraction d'ADN à partir d'écouvillons buccaux : 1 – 3 µg d'ADN). En fonction du volume d'éluion utilisé, des concentrations de 10 – 30 ng/µL peuvent être obtenues.
- Après lyse des échantillons avec la protéinase K à 56 °C (recommandé, optionnel : le traitement à la protéinase K peut être effectué à TA), le **NucleoMag® DNA Forensic** peut

être entièrement traité à température ambiante ; toutefois, l'élu­tion à 56 °C augmentera le rendement d'environ 15 à 20 %.

- Les NucleoMag® F-Beads sont des billes superparamagnétiques hautement réactives. La capacité de fixation est de 0,4 µg d'ADNg pour 1 µL de suspension de NucleoMag® F-Beads ; 1 µL de suspension contient 140 µg de billes.
- Le kit NucleoMag® DNA Forensic est conforme à toutes les exigences de la norme ISO 18385.
- La norme ISO 18385 spécifie les exigences relatives à la fabrication de produits utilisés pour la collecte, le stockage et l'analyse de matériel biologique à des fins d'ADN médico-légal. Nous avons mis en œuvre la norme ISO 18385 pour la production de kits destinés à des applications médico-légales. Par conséquent, nous avons minimisé le risque de contamination par l'ADN humain dans tous nos produits étiquetés pour l'extraction d'acides nucléiques à partir d'échantillons médico-légaux. Tous les consommables utilisés dans notre gamme de produits médico-légaux sont traités (après production) avec de l'oxyde d'éthylène (OE), la méthode recommandée pour éliminer l'ADN amplifiable avant l'échantillonnage médico-légal\*.
- Réserver à l'usage de la recherche

## 2.3 Systèmes de séparation magnétique

Pour une manipulation appropriée du kit **NucleoMag® DNA Forensic**, l'utilisation du séparateur magnétique NucleoMag® SEP est recommandée. La séparation est effectuée dans un Square-well Blocks (voir les informations de commande). Le kit peut également être utilisé avec d'autres séparateurs courants.

Séparateur magnétique	Plaque ou tube de séparation
NucleoMag® SEP (MN REF 744900)	Square-well Block (MN REF 740481)
Tecan Te-MagS™	Tubes de 1,5 mL sans couvercle (Sarstedt)

### Séparation à aimants statiques

Les séparateurs dotés d'aimants magnétiques statiques, par exemple le NucleoMag® SEP ou d'autres séparateurs magnétiques courants, conviennent à une utilisation manuelle et à une utilisation sur des stations de travail de manipulation de liquides : ce type de séparateur est recommandé en combinaison avec un agitateur de microplaques approprié pour une remise en suspension optimale des billes pendant les étapes de lavage et d'élution. Alternativement, les billes peuvent être remises en suspension dans le tampon par pipetages successifs. Pour une utilisation entièrement automatisée sur les stations de travail de manipulation des liquides, un bras manipulateur est nécessaire ; la plaque est transférée vers le séparateur magnétique pour la séparation des billes et transférée vers le module d'agitation pour la remise en suspension des billes.

### Systèmes magnétiques mobiles

Séparateurs à aimants magnétiques mobiles : Les aimants magnétiques sont déplacés d'un côté à l'autre du puits et vice versa. Les billes suivent ce mouvement et sont ainsi entraînées à travers le tampon pendant les étapes de lavage et d'élution. La séparation a lieu lorsque le système s'arrête.

### Séparateurs automatisés

Séparateurs à aimants mobiles : Les billes magnétiques sont transférées dans des plaques ou des tubes appropriés. Les billes sont remises en suspension à l'aide des aimants recouverts de protection. Après la fixation, le lavage ou l'élution, les billes sont à nouveau recueillies avec les aimants recouverts de protection et transférées dans la plaque ou le tube suivant.

## 2.4 Réglage des paramètres d'agitation

Lors de l'utilisation d'un agitateur de plaques pour les étapes de lavage et d'élution, les réglages des paramètres d'agitation doivent être soigneusement ajustés pour chaque plaque de séparation spécifique et chaque agitateur afin d'éviter toute contamination croisée d'un puits à l'autre. Procéder comme suit :

### Réglage de la vitesse de l'agitateur pour les étapes de fixation et de lavage :

- Verser 600  $\mu\text{L}$  d'eau colorée dans les puits de la plaque de séparation. Placer la plaque sur l'agitateur et commencer à agiter avec une vitesse modérée pendant 30 secondes. Éteindre l'agitateur et vérifier la présence de petites gouttelettes d'eau colorée à la surface de la plaque.
- Augmenter la vitesse, agiter pendant 30 secondes supplémentaires et vérifier à nouveau la présence de gouttelettes à la surface de la plaque.
- Continuer à augmenter la vitesse jusqu'à ce qu'à obtenir des gouttelettes sur le dessus de la plaque de séparation. Réduire la vitesse, vérifier à nouveau et utiliser ce réglage pour l'étape de lavage.

### Réglage de la vitesse de l'agitateur pour l'étape d'élution :

- Introduire 100 à 200  $\mu\text{L}$  d'eau colorée dans les puits de la plaque de collecte et procéder comme décrit ci-dessus.

## 2.5 Manipulation des billes

### Distribution des billes

Une distribution homogène des billes magnétiques dans les différents puits de la plaque de séparation est essentielle pour assurer une grande cohérence d'un puits à l'autre. Par conséquent, avant de distribuer les billes, s'assurer que les billes sont complètement remises en suspension. Bien agiter le flacon de stockage ou le placer brièvement sur un vortex. Le fait de mélanger au préalable les billes magnétiques avec le tampon de fixation permet une distribution plus homogène des billes dans les différents puits de la plaque de séparation. Lors de l'automatisation, il est recommandé de procéder à une étape de prémélange avant d'aspirer le mélange billes / tampon de fixation du réservoir afin de maintenir les billes remises en suspension.

### Temps de séparation magnétique

L'attraction des billes magnétiques sur les aimants dépend de la force magnétique des aimants, de la plaque de séparation sélectionnée, de la distance entre la plaque de séparation et les aimants et du volume à traiter. Les durées individuelles pour l'attraction complète des billes sur les aimants magnétiques doivent être vérifiées et ajustées sur chaque système. Il est recommandé d'utiliser les plaques ou tubes de séparation spécifiés par le fournisseur du séparateur magnétique.

### Lavage des billes

Le lavage des billes peut être réalisé en agitant ou en mélangeant. Contrairement au mélange par pipetages successifs, le mélange par agitateur ou magnétique permet de mélanger simultanément tous les échantillons. Cela permet de réduire le temps et le nombre d'embouts nécessaires à la préparation. La remise en suspension par pipetages successifs est cependant plus efficace que le mélange par agitateur ou magnétique.

Méthode	Efficacité de la remise en suspension	Vitesse	Possibilité d'un faible volume d'éluion	Nombre de cônes nécessaires
Mélange magnétique	+	++	+	Faible
Agitateur	++	++	+++	Faible
Pipetage	+++	+*	++	Haut

+ : acceptable, ++ : bon, +++ : excellent

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

## 2.6 Procédures d'élution

L'ADN purifié peut être élué directement avec le tampon d'élution FOE fourni. L'élution peut être effectuée dans un volume  $\geq 50 \mu\text{L}$ . Il est essentiel de recouvrir complètement les NucleoMag<sup>®</sup> F-Beads avec le tampon d'élution pendant l'étape d'élution. Le volume de tampon d'élution distribué dépend du système de séparation magnétique (p.e., la position du culot à l'intérieur de la plaque de séparation). Pour une élution efficace, le culot de billes magnétiques doit être entièrement remis en suspension dans le tampon d'élution. Pour certains séparateurs, des volumes d'élution plus élevés peuvent être nécessaires pour couvrir la totalité du culot.

L'élution est possible à température ambiante. Le rendement peut être augmenté de 15 à 20 % si l'élution est effectuée à 56 °C.

### 3 Conditions de stockage et préparation des réactifs

Attention : Les tampons FOL, FOB et FOW1 contiennent des sels chaotropiques ! **Porter des gants et des lunettes !**

**ATTENTION :** Les tampons FOB et FOW1 contiennent du thiocyanate de guanidinium qui peut former des composés très réactifs lorsqu'il est combiné avec de l'eau de Javel (hypochlorite de sodium). **NE PAS ajouter d'eau de Javel ou de solutions acides directement aux déchets de préparation des échantillons.**

#### Conditions de stockage :

- Tous les composants du kit **NucleoMag® DNA Forensic** doivent être conservés à température ambiante (15–25 °C) et sont stables jusqu'à : voir l'étiquette du kit. Le stockage à des températures inférieures peut entraîner la précipitation de sels. Si une précipitation de sels est observée, incuber le flacon à 30–40 °C pendant quelques minutes et bien mélanger jusqu'à ce que tout le précipité soit redissous. La performance des kits n'est pas affectée par la formation réversible de précipités de sels.

Avant de débiter la procédure **NucleoMag® DNA Forensic**, préparer les éléments suivants :

- Tampon de lavage FOW2 :** Ajouter le volume indiqué d'éthanol (96–100 %) au **tampon FOW2 concentré** avant utilisation. Marquer l'étiquette du flacon pour indiquer que l'éthanol a été ajouté. Conserver le tampon de lavage FOW2 entre 15 et 25 °C jusqu'à un an.
- Agent réducteur TCEP :** Ajouter 1 mL de H<sub>2</sub>O stérile au flacon de TCEP et incuber pendant plusieurs minutes à température ambiante. Mélanger le flacon pour dissoudre complètement le TCEP. Conserver le TCEP dissous à -20 °C.

NucleoMag® DNA Forensic		
REF	1 x 96 preps 744660.1	4 x 96 preps 744660.4
Tampon de lavage FOW2 (concentré)	25 mL <i>Ajouter 100 mL d'éthanol</i>	100 mL <i>Ajouter 400 mL d'éthanol</i>
Agent réducteur TCEP	1 flacon (14 mg) <i>Ajouter 1 mL de H<sub>2</sub>O</i>	2 flacons (14 mg/fiole) <i>Ajouter 1 mL de H<sub>2</sub>O à chaque flacon</i>

## 4 Instructions de sécurité

Lorsque vous travaillez avec le kit **NucleoMag® DNA Forensic**, portez des vêtements de protection appropriés (p.e. 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 sont disponibles en ligne sur [www.mnnet.com/msds](http://www.mnnet.com/msds)).



Attention : Le chlorhydrate de guanidine dans le tampon FOL et le thiocyanate de guanidinium dans les tampons FOB et FOW1 peuvent former des composés très 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 aux déchets de préparation d'échantillons.

Les déchets générés par le kit **NucleoMag® DNA Forensic** n'ont pas été testés pour détecter 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 Elimination 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 génomique à partir d'échantillons médico-légaux

### Résumé du protocole

- Pour les exigences supplémentaires en matière d'équipement et de matériel, voir les paragraphes 1.2 et 2.3, respectivement.
- Pour des informations détaillées sur chaque étape, voir page 17 (protocole détaillé).

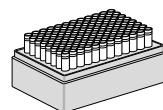
### Avant de débiter la procédure :

- Vérifier si le tampon de lavage FOW2 et le TCEP ont été préparés conformément au chapitre 3.

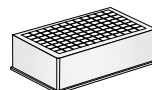
- |                                |  |
|--------------------------------|--|
| <b>1 Lyse de l'échantillon</b> | Ajouter <b>20 µL de protéinase K liquide</b> ,<br><b>5 µL de solution de TCEP (14 mg/mL)</b> et<br><b>450 µL de tampon FOL</b> |
|--------------------------------|--|

Mélanger

56 °C, 1 h



- |   |  |
|---|--|
| <b>2 Fixation de l'ADN aux NucleoMag® F-Beads</b> | <b>400 µL de lysat</b><br><b>12 µL NucleoMag® F-Beads</b><br><b>580 µL FOB</b> |
|---|--|

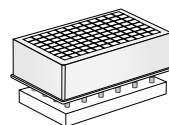


**Mélanger en agitant pendant 10 min à TA**

(Optionnel : mélanger par pipetages successifs)



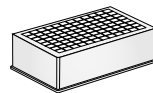
**Retirer le surnageant après 2 min de séparation.**



**3 Lavage avec le tampon FOW1**

Retirer le Square-well Blocks du NucleoMag® SEP

**400 µL FOW1**

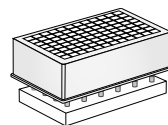


**Remettre en suspension : Agiter 1 min à TA**

(Optionnel : mélanger par pipetages successifs)



**Retirer le surnageant après 2 min de séparation.**

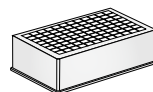


**4 Lavage avec le tampon FOW2**

**1<sup>er</sup> lavage**

Retirer le Square-well Blocks du NucleoMag® SEP

**400 µL FOW2**

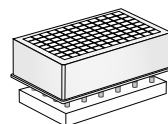


**Remettre en suspension : Agiter 1 min à TA**

(Optionnel : mélanger par pipetages successifs)



**Retirer le surnageant après 2 min de séparation.**

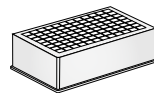


**5 Lavage avec le tampon FOW2**

**2<sup>ème</sup> lavage**

Retirer le Square-well Blocks sur le NucleoMag® SEP

**400 µL FOW2**

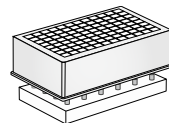


**Remettre en suspension : agiter 1 min à TA**

(Optionnel : mélanger par pipetages successifs)



**Retirer le surnageant après 2 min de séparation.**



**6 Séchage des billes magnétiques**

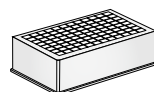
**15 min à TA**



**7 Elution de l'ADN**

**Ajouter 25–100 µL de FOE**

(Optionnel : élution à 56 °C)

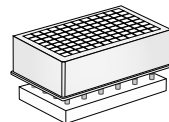


**Agiter 5 min à TA**

(Optionnel : mélanger par pipetages successifs)



**Séparer 2 min et transférer l'ADN dans la plaque d'élution.**



## Protocole détaillé

Ce protocole est conçu pour les séparateurs magnétiques à aimants statiques (par exemple, NucleoMag® SEP) et les agitateurs de plaques adaptés (voir paragraphe 2.2). Il est recommandé d'utiliser un Square-well Blocks pour la séparation (voir paragraphe 1.2). L'extraction de l'ADN peut également être réalisée dans des tubes de réaction avec des séparateurs magnétiques appropriés. Ce protocole est destiné à une utilisation manuelle et sert de guide pour l'adaptation du kit aux instruments robotisés.

### Avant de débiter la procédure :

- Vérifier que le tampon de lavage FOW2 et le TCEP ont été préparés conformément au paragraphe

---

#### Collecte d'échantillons

Prélever les échantillons à l'aide d'écouvillons en coton, en Dacron ou en C.E.P.. Frotter fermement l'intérieur de chaque joue à plusieurs reprises et laissez les écouvillons sécher à l'air.

*La personne concernée ne doit pas avoir consommé de nourriture ou de boisson dans les 30 min précédant le prélèvement de l'échantillon.*

Les échantillons doivent être traités immédiatement ou conservés à 4 °C.

---

### 1 Lyse de l'échantillon

Ajouter **20 µL de protéinase K** liquide, **5 µL de TCEP (14 mg/ml)** et **450 µL de tampon de lyse FOL** à un tube de réaction contenant l'échantillon. Bien **mélanger** par agitation vigoureuse ou par pipetages successifs pendant 10 à 15 s. Centrifuger brièvement (15 s ; 1 500 × g) pour recueillir tout l'échantillon au fond du tube.

Note : Les écouvillons buccaux doivent être immergés dans la solution de lyse. Par conséquent, selon le type ou la taille de l'écouvillon buccal utilisé, le volume du tampon FOL doit être augmenté. Il n'est pas nécessaire d'augmenter le volume de protéinase K ou de TCEP.

*Il est également possible d'effectuer la lyse avec le tampon FOL/protéinase K/TCEP dans une plaque NucleoSpin® Trace Filter (voir les informations de commande). Cette plaque permet une séparation pratique du lysat de l'écouvillon par centrifugation et réduit la perte de lysat.*

Incuber à **56 °C** pendant **60 min** sous agitation. Pour une lyse optimale, mélanger de temps en temps pendant l'incubation. S'assurer que les tubes de lyse sont bien fermés. L'étape de lyse peut également être réalisée dans des barrettes de tubes (voir les informations de commande).

Après l'incubation de la lyse, centrifuger pour recueillir tout l'échantillon de la lyse des bouchons et transférer chaque lysat dans les puits d'une Square-well Block. Lors de l'utilisation d'écouvillons buccaux, retirer l'écouvillon buccal et centrifuger pour obtenir **400 µL de lysat**.

Lors de l'utilisation de la plaque NucleoSpin® Trace Filter, centrifuger la plaque NucleoSpin® Trace Filter empilée sur un bloc 96 puits 'Square-well Block' pendant 5 min à 5 600 × g pour extraire le lysat de l'écouvillon.

---

## 2 Fixation de l'ADN aux NucleoMag® F-Beads

A chaque lysat de 400 µL de l'étape précédente, ajouter **12 µL** de billes **NucleoMag® F-Beads** et **580 µL** de **tampon de fixation FOB**. Mélanger par pipetages successifs 6 fois et **agiter** pendant **5 min** à **température ambiante**. Alternativement, lors de la procédure du kit sans agitateur, pipeter de haut en bas 10 fois et incuber pendant 5 min à température ambiante.

Note : Les NucleoMag® F-Beads et le tampon FOB peuvent être mélangés au préalable. Pour chaque puits à traiter, mélanger 12 µL de NucleoMag® F-Beads avec 580 µL de tampon MB2. Vortexer brièvement. En fonction du volume mort du réservoir, des quantités supplémentaires de suspension de billes et de tampon de fixation sont nécessaires.

*Veiller à remettre en suspension les NucleoMag® F-Beads avant de les retirer du flacon de stockage. Vortexer brièvement le flacon de stockage jusqu'à ce qu'une suspension homogène se forme.*

Séparer les billes magnétiques contre la paroi des puits en plaçant le Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP. Attendre au moins 2 min jusqu'à ce que toutes les billes aient été attirées par les aimants. Retirer et jeter le surnageant à l'aide d'une pipette.

Note : Ne pas perturber les culots de billes attirés lors de l'aspiration du surnageant. Le culot de billes peut ne pas être visible lors de cette étape. Prélever le surnageant de l'autre côté du puits.

---

## 3 Lavage avec le tampon FOW1

Retirer le Square-well Block du séparateur magnétique NucleoMag® SEP.

Ajouter **400 µL de tampon FOW1** dans chaque puits et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à ce que les billes soient complètement remises en suspension (1 – 3 min). Alternativement, remettre les billes en suspension complètement par pipetages successifs.

---

Séparer les billes magnétiques en plaçant le Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP. Attendre au moins 2 min jusqu'à ce que toutes les billes aient été attirées par l'aimant. Retirer et jeter le surnageant à l'aide d'une pipette.

---

## 4 Lavage avec le tampon FOW2

1<sup>er</sup> lavage

Retirer le Square-well Block du séparateur magnétique NucleoMag® SEP.

Ajouter **400 µL de tampon FOW2** dans chaque puits et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à ce que les billes soient complètement remises en suspension (**1 – 3 min**). Alternativement, remettre les billes en suspension complètement par pipetages successifs.

Séparer les billes magnétiques en plaçant le Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP. Attendre au moins **2 min** jusqu'à ce que toutes les billes aient été attirées par l'aimant. Retirer et jeter le surnageant à l'aide d'une pipette.

---

## 5 Lavage avec le tampon FOW2

2<sup>ème</sup> lavage

Retirer le Square-well Block du séparateur magnétique NucleoMag® SEP.

Ajouter **400 µL de tampon FOW2** dans chaque puits et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à ce que les billes soient complètement remises en suspension (1 – 3 min). Alternativement, remettre les billes en suspension complètement par pipetages successifs.

Séparer les billes magnétiques en plaçant le Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP. Attendre au moins **2 min** jusqu'à ce que toutes les billes aient été attirées par l'aimant. Retirer et jeter le surnageant à l'aide d'une pipette.

---

## 6 Séchage des billes NucleoMag® F-Beads

Sécher les billes à l'air libre pendant 10 à 15 min à température ambiante.

---

## 7 Elution de l'ADN

Retirer le Square-well Block du séparateur magnétique NucleoMag® SEP.

Ajouter le volume souhaité de **tampon FOE (25 – 100 µL)** à chaque puits du Square-well Block et remettre les billes en suspension en agitant pendant **5 – 10 min à température ambiante**. Alternativement, remettre les billes en suspension complètement par pipetages successifs et incubé pendant **5 – 10 min à température ambiante ou à 56 °C**.

Séparer les billes magnétiques en plaçant le Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP. Attendre au moins **2 min** jusqu'à ce que toutes les billes soient attirées par les aimants. Transférer le surnageant contenant l'ADN génomique purifié dans des plaques d'élution ou des barrettes de tubes (voir les informations de commande).

Note : Le rendement peut être augmenté de 15 à 20 % en utilisant un tampon d'élution préchauffé (56 °C) ou en incubant la suspension billes/tampon d'élution à 56 °C pendant 10 min.

---

## 6 Annexes

### 6.1 Guide de résolution des problèmes

Problèmes	Causes possible et suggestions
Faible rendement en ADN	<p><i>Lyse incomplètes des échantillons</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>L'échantillon n'a pas été complètement homogénéisé et mélangé avec le tampon de lyse, la protéinase K et le TCEP. Le mélange doit être agité en permanence. Alternativement, prolonger le temps d'incubation avec la protéinase K.</li> </ul>
	<p><i>Réactifs mal préparés</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Préparer le tampon FOW2 et le TCEP conformément aux instructions (paragraphe 3).</li> </ul>
	<p><i>Volume de tampon d'éluion insuffisant</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Le culot de billes doit être entièrement recouvert de tampon d'éluion.</li> </ul>
	<p><i>Performance insuffisante du tampon d'éluion pendant l'étape d'éluion</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Éliminer complètement les tampons résiduels lors des étapes de séparation. Les tampons résiduels diminuent l'efficacité des étapes de lavage et d'éluion.</li> </ul>
	<p><i>Séchage excessif des billes</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ne pas laisser sécher les billes, car cela pourrait entraîner une baisse de l'efficacité de l'éluion.</li> </ul>
	<p><i>Aspiration d'une partie des billes présents sur l'aimant</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ne pas perturber les billes attirées lors de l'aspiration du surnageant, en particulier lorsque le culot de billes n'est pas visible dans le lysat.</li> </ul>
Pureté insuffisante / Faible sensibilité	<p><i>Aspiration et perte de billes</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Le temps de séparation magnétique était trop court ou la vitesse d'aspiration trop élevée.</li> </ul>
	<p><i>Procédure de lavage insuffisante</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Utiliser uniquement les combinaisons appropriées de séparateur et de plaque, par exemple, le Square-well Blocks en combinaison avec le NucleoMag<sup>®</sup> SEP.</li> <li>S'assurer que les billes sont remises en suspension complètement pendant la procédure de lavage. Si l'agitation n'est pas suffisante pour remettre les billes en suspension complètement, mélanger par pipetages successifs.</li> </ul>

<b>Problèmes</b>	<b>Causes possible et suggestions</b>
Mauvaise performance de l'ADN lors des applications avales	<p><i>Élimination de l'éthanol des tampons de lavage</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Veiller à éliminer toute la solution de lavage éthanolique, car l'éthanol résiduel interfère avec les applications en aval.</li></ul> <p><i>Évaporation de l'éthanol des tampons de lavage</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Fermer hermétiquement les flacons de tampons, éviter l'évaporation de l'éthanol des flacons de tampons ainsi que des tampons remplis dans les réservoirs. Ne pas réutiliser les tampons des réservoirs de tampons.</li></ul>
Perte des billes	<p><i>Durée de séparation magnétique trop courte</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Augmenter la durée de séparation pour permettre aux billes d'être complètement attirées par les aimants magnétiques avant d'aspirer tout liquide du puits.</li></ul> <p><i>Vitesse d'aspiration trop élevée (étape d'élution)</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Une vitesse d'aspiration élevée pendant l'étape d'élution peut entraîner une perte des billes. Réduire la vitesse d'aspiration pour l'étape d'élution.</li></ul>
Contamination croisée	<p><i>Contamination des parties supérieures des puits</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Ne pas humidifier les bords du Square-well Blocks lors du transfert du lysat. Si le bord des puits est contaminé, sceller le Square-well Block avec une feuille PE auto-adhésive (voir les informations de commande) avant de mettre l'agitateur en marche.</li></ul>

## 6.2 Les informations de commande

Produit	REF	Conditionnement
NucleoMag® DNA Forensic	744660.1	1 × 96 preps
	744660.4	4 × 96 preps
NucleoSpin® DNA Forensic	740840.10	1 × 10 preps 1 × 50 preps
	740840.50	
	740840.250	1 × 250 preps
NucleoSpin® Forensic Filters (en vrac)	740988.50B	50 pièces
	740988.250B	250 pièces
	740988.1000B	1000 pièces
Plaque NucleoSpin® Trace Filters	740677	20
NucleoMag® SEP	744900	1
Square-well Blocks	740481	4
	740481.24	24
Square-well Blocks, traités à l'oxyde d'éthylène	740481EO	4
Film PE auto-adhésif	740676	50 feuilles
Rack de Tubes Strips (le set comprend 1 rack, 12 barrettes avec 8 tubes chacun, et 12 barrettes de 8 bouchons)	740477	4 sets
	740477.24	24 sets
Caps Strips (barrettes de 8 bouchons)	740638	30 barrettes
96-well Accessory Kit A for KingFisher®	744950	1 set
Plaques 96 Deep-Well pour les systèmes avec des barreaux magnétiques	744955	25
Tip Combs 8-Well pour les systèmes avec des barreaux magnétiques	744960	50
Kit d'accessoires 8-Well pour les systèmes avec des barreaux magnétiques (5 × 96 Deep-Well, 10 x Tips Combs 8-Well)	744961	1 set

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

## 6.3 Restriction de l'utilisation du produit / garantie

Tous les produits MACHEREY-NAGEL sont conçus uniquement pour l'usage auquel ils sont destinés. Ils ne sont pas destinés à être utilisés pour un autre usage. La description de l'usage prévu des produits est disponible dans les notices originales des produits MACHEREY-NAGEL.

Avant d'utiliser nos produits, veuillez lire attentivement le mode d'emploi et les consignes de sécurité figurant dans la Fiche de Données de Sécurité du produit.

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

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

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

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

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

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

## 6.4 Versions linguistiques et prédominance

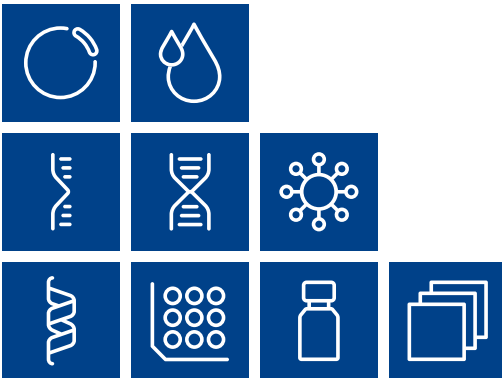
Ce document est disponible en plusieurs langues. En cas de divergence ou de problème d'interprétation, la version anglaise prévaut.

---

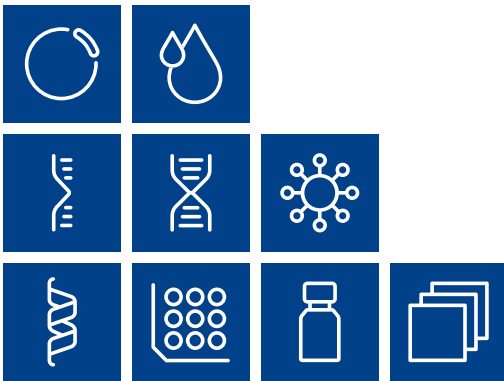
Marques déposées :

KingFisher<sup>®</sup> est une marque déposée de Thermo Fisher Scientific.  
NucleoMag<sup>®</sup> est une marque déposée de MACHEREY-NAGEL GmbH & Co KG.  
Te-MagS<sup>™</sup> 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.



Plasmid DNA  
Clean up  
RNA  
DNA  
Viral RNA and DNA  
Protein  
High throughput  
Accessories  
Auxiliary tools



**MACHEREY-NAGEL**

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

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

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

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

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

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

