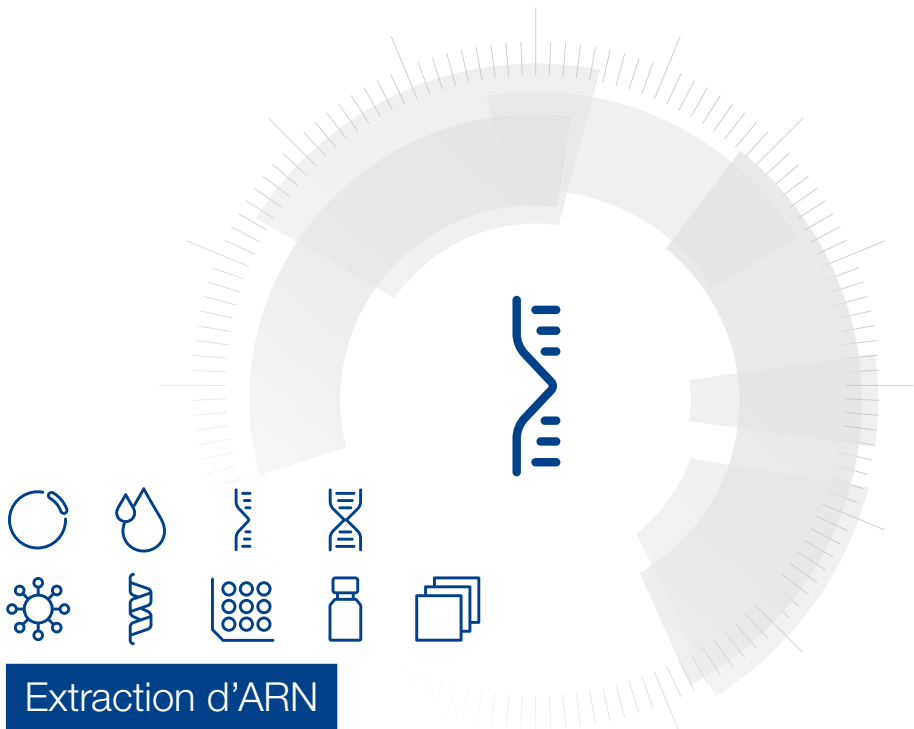


MACHEREY-NAGEL

Manuel d'utilisation



- NucleoMag® RNA Pro
- NucleoMag® RNA/DNA Pro

Janvier 2025 / Rev. 02

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciennener 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 21 969-333
E-mail: 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

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 Composants	4
1.1 Contenu du kit	4
1.2 Réactifs, équipements et consommables à fournir par l'utilisateur	5
1.3 A propos de ce manuel	6
2 Description du produit	7
2.1 Principe général	7
2.2 Caractéristiques du kit	7
2.3 Manipulation, préparation et stockage des échantillons	8
2.4 Systèmes de séparation magnétique	9
2.5 Réglage des paramètres d'agitation	10
2.6 Manipulation des billes	10
2.7 Procédures d'élution	11
3 Conditions de stockage et préparation des réactifs	12
4 Instructions de sécurité	14
4.1 Elimination des déchets	14
5 Protocole pour l'extraction d'ARN à partir de cellules et de tissus	15
6 Protocole pour l'extraction d'ARN à partir de matériel végétal	21
7 Protocole pour l'extraction de l'ARN et de l'ADN dans des éluats séparés	27
8 Annexes	30
8.1 Guide de résolution des problèmes	30
8.2 Informations de commande	32
8.3 Restrictions d'utilisation du produit / garantie	33
8.4 Versions linguistiques et prédominance	33

1 Composants

1.1 Contenu du kit

REF	NucleoMag® RNA Pro		NucleoMag® RNA/DNA Pro
	1 × 96 preps 744360.1	4 × 96 preps 744360.4	1 × 96 preps 744370.1
NucleoMag® B-Beads	2 × 1.5 mL	6 × 1.5 mL	2 × 1.5 mL
Tampon de lyse MRL	60 mL	250 mL	60 mL
Tampon de fixation MRB	80 mL	400 mL	80 mL
Tampon de lavage MRW	125 mL	400 mL	125 mL
Tampon d'éluion MRE*	30 mL	125 mL	30 mL
Agent réducteur TCEP	1 flacon (107 mg / flacon)	4 flacons (107 mg / flacon)	1 flacon (107 mg / flacon)
rDNase, lyophilisée**	3 flacons (taille D)	12 flacons (taille D)	3 flacons (taille D)
Tampon de réaction pour la rDNase	30 mL	2 × 60 mL	30 mL
H ₂ O RNase-free	13 mL	30 mL	13 mL
Tampon de lavage DNA Wash (concentré)**.			2 × 12 mL
Tampon d'éluion DNA Elute			12 mL
Notice d'utilisation	1	1	1

* Tampon d'éluion MRE : Eau RNase-free

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

1.2 Réactifs, équipements et consommables à fournir par l'utilisateur

Équipements et consommables

Produit	REF	Conditionnement
Système de séparation magnétique p.e., NucleoMag® SEP (voir le paragraphe 2.3).	744900	1
Plaque de séparation pour la séparation des billes magnétiques, p.e., Square-well Block (bloc 96 puits avec des puits carrés de 2.1 mL)	740481 740481.24	4 24
 Tubes de lyse pour l'incubation des échantillons et la lyse, p.e., Rack of Tubes Strips (1 set comprend 1 Rack, 12 barrettes de 8 bouchons chacune (puits de 1,2 mL) et 12 Cap Strips)	740477 740477.24	4 sets 24 sets
Plaque d'éluion pour la collecte d'acides nucléiques purifiés, p.e., plaque d'éluion à fond en U (microplaque 96 puits avec des puits à fond en U de 300 µL) p.e., plaque d'éluion à fond plat (microplaque 96 puits avec des puits à fond plat de 300 µL)	740486.24	24
Pour l'extraction d'ARN à partir de matériel végétal : Tampon de lyse RL1	740385.125	125 mL
NucleoSpin® DNA/RNA Buffer Set pour la purification en parallèle de l'ARN et de l'ADN dans des éluats séparés : Tampon d'éluion DNA Elute, Tampon de lavage DNA Wash.	740944	100 preps
Pour l'utilisation du kit sur l'instrument KingFisher® Flex : p.e. 96-well Accessory Kit B (Square-well Blocks, Deep-well tip combs, plaques d'éluion pour 4 × 96-preps NucleoMag® RNA (Pro) avec le KingFisher® Flex platform)	744951	1 sets
Pour l'utilisation du kit sur le MagnetaPure 32 Plus ou l'IsoPure Mini : Plaques 96 Deep-well pour les systèmes à barreaux magnétiques	744955	25
Pour l'utilisation du kit sur le MagnetaPure 32 Plus ou l'IsoPure Mini : Peignes Tip combs 8-positions pour les systèmes à barreaux magnétiques	744960	50

1.3 A propos de ce manuel

Il est fortement recommandé aux nouveaux utilisateurs de lire les paragraphes détaillés du protocole du kit **NucleoMag® RNA Pro/ NucleoMag® RNA/ DNA Pro** avant d'utiliser ce produit. Les utilisateurs expérimentés peuvent toutefois se référer au résumé du protocole. Le résumé du protocole est conçu pour être utilisé uniquement comme un outil de suivi des étapes pour l'exécution de la procédure de purification.

Toute la documentation technique est disponible en ligne à l'adresse suivante : **www.mn-net.com**.

2 Description du produit

2.1 Principe général

La procédure du **NucleoMag® RNA Pro** ainsi que celle du **NucleoMag® RNA/DNA Pro** est basée sur l'adsorption réversible des acides nucléiques sur des billes paramagnétiques dans des conditions de tampons appropriées. La lyse des échantillons est réalisée par homogénéisation dans une solution contenant des ions chaotropiques. Pour ajuster les conditions dans lesquelles les acides nucléiques se lient aux billes paramagnétiques, des solvants à base d'alcool et les **NucleoMag® B-Beads** sont ajoutés au lysat. Les contaminants et les sels sont éliminés à l'aide du tampon de lavage MRW et d'éthanol à 70 %. Après la séparation magnétique, les billes paramagnétiques sont incubées avec une DNase recombinante pour éliminer l'ADN copurifié. Après une étape de re-fixation de l'ARN, une dernière étape de lavage est effectuée avec de l'éthanol à 70 %. L'éthanol résiduel de l'étape de lavage est éliminé par séchage à l'air. Enfin, l'ARN très pur est élué avec le tampon d'éluion et l'ARN peut être directement utilisé pour des applications avales. En combinaison avec le **NucleoSpin® RNA/DNA Buffer Set** ainsi qu'avec le **kit NucleoMag® RNA/DNA Pro**, il est également possible d'extraire l'ARN et l'ADN du même échantillon dans des fractions séparées. Le kit **NucleoMag® RNA/DNA Pro** est identique au kit **NucleoMag® RNA Pro** mais contient en plus les tampons pour extraire l'ADN dans une fraction séparée. Les deux kits peuvent être utilisés manuellement ou de manière automatisée sur des robots pipeteurs ou avec des systèmes à aimant.

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.

2.2 Caractéristiques du kit

Le **NucleoMag® RNA Pro** ainsi que le kit **NucleoMag® RNA/DNA Pro** sont conçus pour la préparation rapide, manuelle et automatisée à petite échelle d'ARN très pur à partir de 20 mg de tissu ou de 2×10^6 cellules ainsi que de 40 mg de feuilles végétales. Le kit est conçu pour être utilisé avec la plaque de séparation magnétique **NucleoMag® SEP** (voir informations de commande, 8.2) ou d'autres systèmes de séparation magnétique (voir paragraphe 2.4). La durée de la procédure manuelle pour la préparation de 96 échantillons est d'environ 120 minutes ou d'environ 90 minutes avec un système automatisé à barreaux magnétiques. L'ARN purifié peut être utilisé directement comme matrice pour la RT-PCR ou tout autre type de réaction enzymatique.

Les deux kits permettent une automatisation facile sur les instruments courants de manipulation des liquides ou les systèmes de séparation magnétique automatisés, par exemple les instruments **MagnetaPure32 Plus**, **IsoPure Mini** ou **Thermo Fisher Scientific KingFisher®** instruments. Le temps de préparation réel dépend de la configuration de l'instrument et du système de séparation magnétique utilisé.

Réserver à l'usage de la recherche.

Grâce à la DNase recombinante fournie avec le kit, l'ARN élué est pratiquement exempt d'ADN.

Le kit fournit des réactifs pour la purification d'un maximum de 60 µg d'ARN pur à partir d'échantillons appropriés. En fonction du volume d'éluion utilisé, des concentrations de 10 à 600 ng/µL peuvent être obtenues.

Le kit **NucleoMag® RNA Pro** ainsi que le kit **NucleoMag® RNA/DNA Pro** est entièrement utilisable à température ambiante.

Pour plus d'informations, visitez notre site web :

www.mn-net.com/bioanalytik/htp-information

Chez MN, nous vous proposons des scripts pour différentes plateformes. Il vous suffit de nous contacter et nous vous ferons parvenir le script. Si vous êtes à la recherche de solutions plus personnalisées, nous pourrions également vous aider. Il vous suffit de nous contacter et nous ferons en sorte que l'automatisation soit pour vous une expérience agréable grâce à notre soutien.

2.3 Manipulation, préparation et stockage des échantillons

Environnement de travail

Maintenir un environnement de travail exempt de RNases. Porter des gants à tout moment pendant la préparation. Changer de gants fréquemment

Stockage des échantillons et inhibition des RNases

Les RNases peuvent dégrader rapidement l'ARN contenu dans les échantillons si ces derniers ne sont pas protégés de l'activité des RNases après la récolte. Les méthodes suivantes sont recommandées pour éviter la dégradation de l'ARN :

- Utiliser un échantillon fraîchement récolté pour une lyse immédiate et une purification de l'ARN.
- Immerger et conserver les échantillons dans la solution de stabilisation NucleoProtect® RNA ou des solutions similaires. Veiller à ce que l'échantillon soit complètement imprégné de la solution de stabilisation avant de le congeler. Retirer l'excès de solution de stabilisation de l'échantillon avant l'extraction de l'ARN conformément au manuel d'utilisation de la solution de stabilisation.
- Congeler rapidement l'échantillon dans de l'azote liquide immédiatement après la récolte et le conserver à une température comprise entre -70 et -80 °C. Les échantillons congelés sont stables jusqu'à 6 mois. Un mortier et un pilon peuvent être utilisés pour réduire l'échantillon congelé à l'état de poudre. Veiller à ce que l'échantillon ne soit pas décongelé avant d'entrer en contact avec le tampon de lyse.
- Conserver les échantillons dans le tampon de lyse MRL ou RL1 après broyage à -70 / -80 °C jusqu'à un an, à 4 °C jusqu'à 24 heures ou à température ambiante jusqu'à quelques heures. Les échantillons congelés dans le tampon de lyse MRL ou RL1 doivent être décongelés lentement avant de commencer l'extraction de l'ARN.

2.4 Systèmes de séparation magnétique

Pour l'utilisation du **NucleoMag® RNA Pro** ainsi que du kit **NucleoMag® RNA/DNA Pro**, il est recommandé d'utiliser le système de séparation magnétique NucleoMag® SEP. La séparation est effectuée dans un Square-well Block (voir informations de commande, paragraphe 8.2). Le kit peut également être utilisé avec d'autres systèmes de séparation magnétique. Voir les informations de commande du fabricant pour connaître les plaques de séparation appropriées.

Séparateur magnétique	Plaque ou tube de séparation
NucleoMag® SEP (MN REF 744900)	Bloc 96 puits carrés - Square-well Block (MN REF 740481/.24)
Tecan Te-MagS™	Tubes de 1,5 mL sans bouchons (Sarstedt)

Séparation à aimants statiques

Pour les séparateurs à aimants statiques, comme par exemple notre NucleoMag® SEP (une utilisation manuelle ou sur robot pipeteur), leur utilisation est recommandée avec un agitateur de microplaques approprié pour une remise en suspension optimale des billes pendant les étapes de lavage et d'éluion. Alternativement, les billes peuvent être remises en suspension dans le tampon par pipetages successifs. Pour une utilisation entièrement automatisée sur un automate de pipetage, un bras « gripper » est nécessaire pour le transfert des plaques de séparation de l'aimant vers l'agitateur et inversement.

Systèmes à aimants mobiles

Les séparateurs à aimants mobiles font bouger les aimants d'un côté à l'autre des puits, entraînant ainsi les billes à travers les solutions de lavage et d'éluion. La séparation magnétique a lieu lors de l'arrêt des aimants.

Séparateurs automatisés

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

2.5 Réglage des paramètres d'agitation

Lors de l'utilisation d'un agitateur de plaques pour les étapes de lavage et d'élution, les paramètres d'agitation doivent être ajustés avec soin pour chaque plaque de séparation 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 lavage :

- Déposer 900 µL d'eau colorée dans les puits de la plaque de séparation. Placer la plaque sur l'agitateur et commencer à agiter à 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 d'agitation et agiter pendant 30 secondes supplémentaires et vérifier à nouveau la présence de gouttelettes à la surface de la plaque.
- Continuer à augmenter la vitesse d'agitation jusqu'à observer des gouttelettes sur le dessus de la plaque de séparation. Réduire ensuite la vitesse, vérifier l'absence de projection et utiliser ce réglage pour les étapes de lavage.

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

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

2.6 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, une étape de mélange des billes et du tampon de fixation dans les réservoirs avant leur distribution dans les plaques de séparation est recommandée afin de s'assurer que les billes demeurent bien en suspension.

Durée de séparation magnétique

L'attraction des billes magnétiques sur les aimants dépend de la force magnétique des aimants, de la plaque de séparation choisie, de la distance entre la plaque de séparation et les aimants ainsi que du volume présent dans les puits. La durée de récupération des billes sur les aimants doit être vérifiée et ajustée pour chaque système. Il est recommandé d'utiliser les plaques de séparation ou les tubes spécifiés par le fournisseur du séparateur magnétique.

Lavage des billes

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

Méthode	Efficacité de la remise en suspension	Vitesse	Nombre de cônes nécessaires
Mélange magnétique	+	++	Faible
Agitateur	++	++	Faible
Pipetage	+++	+*	Haut

+ : acceptable, ++ : bon, +++ : excellent, * Dispositif de pipetage à 8 canaux

2.7 Procédures d'élution

L'ARN purifié peut être élué directement avec le tampon d'élution MRE fourni. L'élution peut être effectuée dans un volume $\geq 50 \mu\text{L}$. Il est essentiel de recouvrir complètement les NucleoMag[®] B-Beads avec le tampon d'élution MRE pendant l'étape d'élution. Le volume minimal nécessaire dépend du système de séparation magnétique (p.e., la position du culot dans les puits 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 MRE. Avec certains séparateurs magnétiques, le volume d'élution nécessaire pour recouvrir les billes peut être plus important.

3 Conditions de stockage et préparation des réactifs

Attention : Les tampons MRL et MRW contiennent des sels chaotropiques ! Porter des gants et des lunettes de protection !

ATTENTION : Les tampons MRL et MRW 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.

- Tous les composants du **NucleoMag® RNA Pro** ainsi que du **NucleoMag® RNA/DNA Pro** doivent être conservés à une température comprise entre 15 et 25 °C et sont stables jusqu'à : voir l'étiquette du kit.
- Tous les tampons sont livrés prêts à l'emploi.

Avant de démarrer la procédure **NucleoMag® RNA Pro/ NucleoMag® RNA/DNA Pro**, préparer ce qui suit :

- **Solution de travail de la rDNase :** Ajouter 800 µL de H₂O RNase-free à chaque flacon de rDNase et incubé pendant 1 min à température ambiante. Agiter doucement les flacons pour dissoudre complètement la rDNase. Veiller à ne pas mélanger vigoureusement la rDNase car elle est sensible à l'agitation mécanique. Si elle n'est pas complètement utilisée, cette solution de travail peut être conservée à -20 °C pendant au moins 6 mois. Ne pas congeler / décongeler la solution de travail de rDNase plus de trois fois.
- **Mélange réactionnel pour la rDNase :** Ajouter 9,2 mL de tampon de réaction rDNase à 800 µL de solution de travail de la rDNase et mélanger. Le mélange réactionnel obtenu est suffisant pour 32 extractions et est à utiliser rapidement. Lors de séries inférieures à 32 échantillons, préparer un volume plus petit de mélange réactionnel. Pour chaque extraction, mélanger 276 µL de tampon de réaction et 24 µL de solution de rDNase.
- **Agent réducteur TCEP :** ajouter 750 µL d'H₂O RNase-free au flacon de TCEP et incubé pendant plusieurs minutes à 15 – 25 °C. Mélanger le flacon pour dissoudre complètement le TCEP. Conserver le TCEP dissous à -20 °C.
- Le tampon de lavage DNA Wash est fourni sous forme concentrée. Pour préparer la solution finale du tampon de lavage, ajouter quatre volumes d'éthanol (50 %) au concentré de tampon DNA Wash (ajouter 48 mL d'éthanol 50 % à 12 mL de concentré du DNA Wash).
- éthanol à 70 % (v/v) pour les étapes de lavage
- éthanol à 100 % pour l'étape de fixation du protocole d'extraction d'ARN à partir de matériel végétal (voir paragraphe 6)

NucleoMag® RNA Pro / NucleoMag® RNA/DNA Pro			
REF	1 × 96 preps 744360.1	4 × 96 preps 744360.4	1 × 96 preps 744370.1
rDNase (lyophilisée)	3 flacons (taille D) Ajouter 800 µL d'H ₂ O RNase-free dans chaque flacon.	12 flacons (taille D) Ajouter 800 µL d'H ₂ O RNase-free à chaque flacon.	3 flacons (taille D) Ajouter 800 µL d'H ₂ O RNase-free à chaque flacon.
TCEP	1 flacon (107 mg) Ajouter 750 µL d'H ₂ O RNase-free.	4 flacons (107 mg) Ajouter 750 µL d' H ₂ O RNase-free à chaque flacon.	1 flacon (107 mg) Ajouter 750 µL d'H ₂ O RNase-free.
Tampon de lavage DNA Wash (concentré)	-	-	2 × 12 mL Ajouter 48 mL d'éthanol (50 %) dans chaque flacon.

4 Instructions de sécurité

Lorsque vous travaillez avec le kit **NucleoMag® RNA Pro/ NucleoMag® RNA/DNA Pro**, portez des vêtements de protection appropriés (p.e. blouse de laboratoire, gants jetables et lunettes de protection). Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité appropriées (FDS disponibles en ligne sur www.mn-net.com/msds).



Attention : Le thiocyanate de guanidine contenu dans les tampons de lyse MRL et MRW peut former des composés très réactifs lorsqu'il est combiné à 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® RNA Pro/ NucleoMag® RNA/DNA Pro** n'ont pas été testés pour détecter la présence de matériel infectieux résiduel. Une contamination des déchets liquides par du matériel infectieux résiduel est très improbable en raison du tampon de lyse fortement dénaturant, mais elle ne peut pas 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.

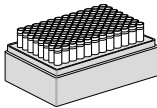
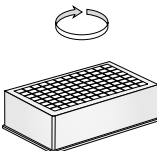
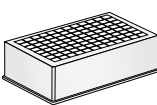

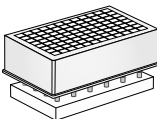
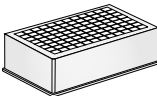
5 Protocole pour l'extraction d'ARN à partir de cellules et de tissus


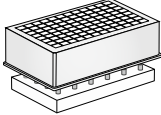
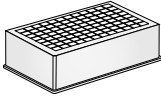

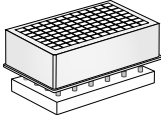
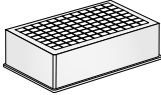
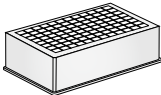

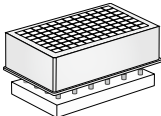
Résumé du protocole

- Pour les exigences supplémentaires en matière d'équipement et de matériel, voir les paragraphes 1.2 et 2.4, respectivement.
- Pour des informations détaillées sur chaque étape, voir page 18.

Avant de débiter la procédure :

- Vérifier que la rDNase a été préparée conformément au chapitre 3.

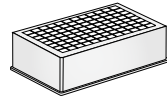
1	Homogénéiser/ lyser les échantillons	<p>Jusqu'à 20 mg de tissu ou 2×10^6 cellules</p> <p>350 μL MRL</p> <p>6 μL TCEP</p> <p>Mélanger ou utiliser un broyage mécanique</p>	
2	<p>Clarifier le lysat par centrifugation, transférer 350 μL de lysate clarifié dans un Square-well Block pour la suite de la procédure.</p>	<p>5 600 x g, 5 min</p> <p>350 μL de lysate clarifié</p>	
3	<p>Fixer les acides nucléiques aux NucleoMag® B-Beads</p>	<p>20 μL NucleoMag® B-Beads</p> <p>250 μL MRB</p>	
		<p>Mélanger par agitation pendant 5 min à TA (Optionnel : Mélanger par pipetages successifs)</p>	
		<p>Retirer le surnageant après 2 min de séparation</p>	
4	<p>Laver avec le tampon MRW</p>	<p>Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP</p> <p>900 μL MRW</p>	

		<p>Remettre en suspension : Agiter 5 min à TA <i>(Optionnel : Mélanger par pipetages successifs)</i></p>	
		<p>Retirer le surnageant après 2 min de séparation</p>	
5	<p>Laver avec le tampon à 70 % d'éthanol</p>	<p>Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP 900 µL Ethanol 70 %</p>	
		<p>Remettre en suspension : Agiter 5 min à TA <i>(Optionnel : Mélanger par pipetages successifs)</i></p>	
		<p>Retirer le surnageant après 2 min de séparation Sécher pendant 5 min à TA</p>	
6	<p>Digérer l'ADN</p>	<p>Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP 300 µL de mélange réactionnel rDNase Mélanger Incuber 15 min à TA</p>	
7	<p>Re-fixer les ARN</p>	<p>350 µL MRB</p>	
		<p>Mélanger par agitation pendant 5 min à TA <i>(Optionnel : Mélanger par pipetages successifs)</i></p>	
		<p>Retirer le surnageant après 2 min de séparation</p>	

8 Laver avec le tampon à 70 % d'éthanol

Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP

900 µL Éthanol 70 %

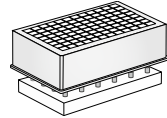


Remettre en suspension : Agiter 5 min à TA

(Optionnel : Mélanger par pipetages successifs)



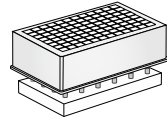
Retirer le surnageant après 2 min de séparation



9 Sécher l'échantillon

Laisser le Square-well Block sur le NucleoMag® SEP

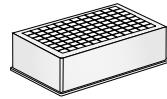
Sécher à l'air 10 – 15 min à TA



10 Eluer l'ARN

Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP

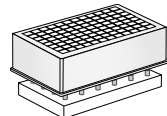
50 – 200 µL MRE



Agiter 5 – 10 min à TA
(Optionnel : Mélanger par pipetages successifs)



Séparer 2 min et transférer l'ARN dans une plaque d'éluion / des tubes



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 2.4). Il est recommandé d'utiliser un Square-well Block pour la séparation (voir paragraphe 1.2). Alternativement, l'extraction de l'ARN peut être effectuée 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 automatisés.

Avant de débiter la procédure :

- Vérifier que la rDNase a été préparée conformément au chapitre 3.
-

1 Homogénéiser / lyser les échantillons

Lyser jusqu'à **20 mg de tissu** ou **2 x 10⁶ cellules** dans **350 µL de tampon MRL + 6 µL TCEP**.

Pour les échantillons de tissus : utiliser un système d'homogénéisation adapté pour homogénéiser les échantillons dans le tampon MRL. Les échantillons peuvent être broyés à l'aide d'outils d'homogénéisation à billes, par exemple GenoGrinder* ou Mixer Mill MM400** (voir les recommandations du fabricant de l'instrument pour les plaques ou les tubes appropriés à l'homogénéisation) ou tout autre système d'homogénéisation approprié.

Pour les cellules : ajouter le tampon MRL au culot cellulaire. Pipeter successivement plusieurs fois pour lyser les cellules.

2 Clarifier les lysats

Centrifuger les échantillons pendant **5 min** à pleine vitesse (**5 600 – 6 000 x g**). Retirer les barrettes de 8 bouchons.

Transférer **350 µL du lysat clarifié** dans un Square-well Block. Ne pas souiller les bords du puits.

Note : Voir les recommandations concernant les plaques/tubes adaptés et les séparateurs magnétiques compatibles au paragraphe .

* GenoGrinder : <http://www.spexcsp.com/sampleprep/>

** Mixer Mill MM400 <http://www.retsche.com/products/milling/ball-mills/mm-400/>

3 Fixier les acides nucléiques aux NucleoMag® B-Beads

Ajouter **20 µL** de **NucleoMag® B-Beads** remises en suspension et **250 µL** de **tampon MRB** à l'échantillon lysé. **Mélanger** par agitation pendant 5 min à température ambiante ou par pipetages successifs 6 fois et laisser incubé pendant 5 min à température ambiante. Les billes NucleoMag® B-Beads et le tampon MRB peuvent être mélangés au préalable.

Veiller à remettre en suspension les NucleoMag® B-Beads avant de les retirer du flacon de stockage. Vortexer brièvement le flacon de stockage jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

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. Éliminer complètement le surnageant.

Note : Ne pas perturber les billes sur l'aimant lors de l'aspiration du surnageant. Le culot de billes n'est pas visible à cette étape. Éliminer le surnageant en pipetant de l'autre côté du puits.

4 Laver avec le tampon MRW

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

Ajouter **900 µL de tampon MRW** dans chaque puits et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à complète resuspension de toutes les billes (**5 min**). Alternativement, remettre en suspension les billes par pipetages successifs (15 fois). Incuber pendant **1 min**.

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 les aimants. Retirer et jeter le surnageant à l'aide d'une pipette.

5 Laver avec le tampon à 70 % d'éthanol

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

Ajouter **900 µL d'éthanol à 70 %** dans chaque puits et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à complète resuspension de toutes les billes (**5 min**). Alternativement, remettre en suspension les billes par pipetages successifs (15 fois). Incuber pendant **1 min**.

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 les aimants. Retirer et jeter le surnageant à l'aide d'une pipette.

Sécher les billes pendant **5 min à température ambiante**. Maintenir le Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP pour l'étape de séchage.

6 Digérer l'ADN

Retirer le Square-well Block du séparateur magnétique NucleoMag® SEP. Ajouter **300 µL de mélange réactionnel rDNase** et remettre les billes en suspension par pipetages successifs. Incuber pendant **15 min** à **température ambiante**. Ne pas séparer les billes !

Note : Si vous souhaitez isoler l'ARN et l'ADN dans le même éluat, il faut omettre l'étape de séchage de l'étape 5 du protocole ainsi que la digestion de l'ADN et poursuivre le protocole à l'étape 8 avec le 2^{ème} lavage à l'éthanol 70 %.

7 Re-fixer les ARN

Ajouter **350 µL tampon MRB** à chaque échantillon. **Mélanger** par agitation pendant 5 min à température ambiante ou par pipetages successifs 6 fois suivi d'une incubation pendant 5 min à température ambiante.

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.

8 Laver avec le tampon à 70 % d'éthanol

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

Ajouter **900 µL d'éthanol à 70 %** dans chaque puits et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à complète resuspension de toutes les billes (**5 min**). Alternativement, remettre en suspension les billes par pipetages successifs (15 fois). Incuber pendant **1 min**.

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 les aimants. Retirer et jeter le surnageant à l'aide d'une pipette. Laisser le Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP pour l'étape suivante.

9 Sécher l'échantillon

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

10 Eluer l'ARN

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

Ajouter le volume désiré de **tampon MRE (au moins 50 µL, 50 – 200 µL)** et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à complète resuspension de toutes les billes (**5 min**). Alternativement, remettre en suspension les billes par pipetages successifs (15 fois).

Incuber la suspension pendant **5 min** à **température ambiante**.

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'ARN purifié dans une plaque de collecte appropriée (voir informations de commande, paragraphe 8.2).

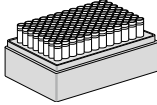
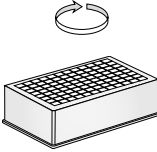
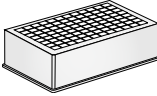

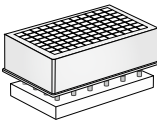
6 Protocole pour l'extraction d'ARN à partir de matériel végétal

Résumé du protocole

- Pour les exigences supplémentaires en matière d'équipement et de matériel, voir les paragraphes 1.2 et 2.4, respectivement.
- Un tampon de lyse supplémentaire RL1 (REF 740385.125) est nécessaire pour l'extraction de l'ARN du matériel végétal (voir les informations de commande, paragraphe 8.2).
- Pour des informations détaillées sur chaque étape, voir page 24.

Avant de débiter la procédure :

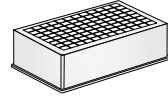
- Vérifier que la rDNase a été préparée conformément au chapitre 3.

1	Homogénéiser / lyser les échantillons	Jusqu'à 40 mg de feuilles de plantes 350 µL RL1 6 µL TCEP Broyer les feuilles des plantes dans de l'azote liquide et ajouter le RL1 ou utiliser le broyage mécanique	
2	Clarifier les lysats clarifiés par centrifugation, transférer 350 µL des lysats clarifiés dans un Square-well Block pour la suite de la procédure.	5 600 x g, 5 min 350 µL de lysat clarifié	
3	Fixer les acides nucléiques aux NucleoMag® B-Beads	20 µL NucleoMag® B-Beads 250 µL d'éthanol 100 %	
		Mélanger par agitation pendant 5 min à TA <i>(Optionnel : Mélanger par pipetages successifs)</i>	
		Retirer le surnageant après 2 min de séparation	

4 Laver avec le tampon MRW

Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP

900 µL MRW

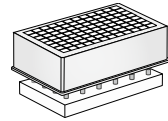


Remettre en suspension : Agiter 5 min à TA

(Optionnel : Mélanger par pipetages successifs)



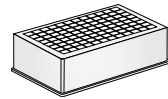
Retirer le surnageant après 2 min de séparation



5 Laver avec le tampon à 70 % d'éthanol

Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP

900 µL d'éthanol à 70 %



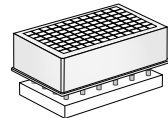
Remettre en suspension : Agiter 5 min à TA

(Optionnel : Mélanger par pipetages successifs)



Retirer le surnageant après 2 min de séparation

Sécher pendant 5 min à TA



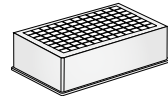
6 Digérer l'ADN

Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP

300 µL de mélange réactionnel rDNase

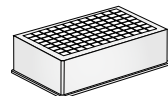
Mélanger


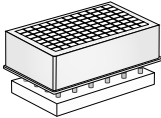
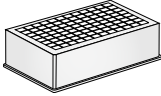

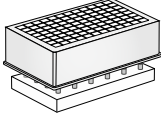
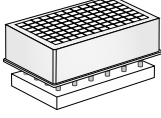
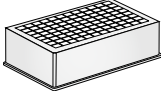

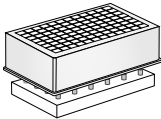
Incuber 15 min à TA



7 Re-fixer l'ARN

350 µL MRB



		<p>Mélanger par agitation pendant 5 min à TA <i>(Optionnel : Mélanger par pipetages successifs)</i></p>	
		<p>Retirer le surnageant après 2 min de séparation</p>	
8	<p>Laver avec le tampon à 70 % d'éthanol</p>	<p>Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP 900 µL d'éthanol à 70 %</p>	
		<p>Remettre en suspension : Agiter 5 min à TA <i>(Optionnel : Mélanger par pipetages successifs)</i></p>	
		<p>Retirer le surnageant après 2 min de séparation</p>	
9	<p>Sécher l'échantillon</p>	<p>Laisser le Square-well Block sur le NucleoMag® SEP Sécher à l'air 10–15 min à TA</p>	
10	<p>Elution de l'ARN</p>	<p>Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP 50–200 µL MRE</p>	
		<p>Agiter 5–10 min à TA <i>(Optionnel : Mélanger par pipetages successifs)</i></p>	
		<p>Séparer 2 min et transférer l'ARN dans une plaque d'élution / des tubes</p>	

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 2.4). Il est recommandé d'utiliser un Square-well Block pour la séparation (voir paragraphe 1.2). Alternativement, l'extraction de l'ARN peut être effectuée 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 automatisés.

- Le tampon de lyse RL1 est nécessaire pour l'extraction de l'ARN du matériel végétal (voir informations de commande, paragraphe 8.2).

Avant de débiter la procédure :

- Vérifier que la rDNase a été préparée conformément au chapitre 3.
-

Homogénéiser / lyser les échantillons

Lyser jusqu'à **40 mg de feuilles de plantes** dans **350 µL de tampon RL1 + 6 µL de TCEP**.

Broyer le matériel végétal dans de l'azote liquide et mélanger soigneusement avec le tampon RL1 avant décongélation ou utiliser un système d'homogénéisation approprié pour homogénéiser les échantillons dans le tampon RL1. Les échantillons peuvent être broyés à l'aide de systèmes de broyage à billes, par exemple GenoGrinder* ou Mixer Mill MM400** (voir les recommandations du fabricant de l'instrument pour les plaques ou les tubes appropriés pour l'homogénéisation) ou tout autre système d'homogénéisation approprié.

1 Clarifier les lysats

Centrifuger les échantillons pendant **5 min** à pleine vitesse (**5 600 – 6 000 x g**). Retirer les barrettes de 8 bouchons.

Transférer **350 µL du lysat clarifié** dans un Square-well Block. Ne pas souiller les bords du puits.

Note : Voir les recommandations concernant les plaques ou tubes appropriés et les séparateurs magnétiques compatibles au paragraphe 1.2.

* GenoGrinder : <http://www.spexcsp.com/sampleprep/>

** Mixer Mill MM400 <http://www.retsch.com/products/milling/ball-mills/mm-400/>

2 Fixer les acides nucléiques aux NucleoMag® B-Beads

Ajouter **20 µL de NucleoMag® B-Beads remises en suspension** et **250 µL d'éthanol 100 %** à l'échantillon lysé. **Mélanger** par agitation pendant 5 min à température ambiante ou par pipetages successifs 6 fois suivi d'une incubation de 5 min à température ambiante. Les billes NucleoMag® B-Beads et l'éthanol peuvent être mélangés au préalable.

Veiller à remettre en suspension les NucleoMag® B-Beads avant de les retirer du flacon de stockage. Vortexer brièvement le flacon de stockage jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

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. Éliminer complètement le surnageant.

Note : Ne pas perturber les billes sur l'aimant lors de l'aspiration du surnageant. Le culot de billes n'est pas visible à cette étape. Éliminer le surnageant en pipetant de l'autre côté du puits.

3 Laver avec le tampon MRW

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

Ajouter **900 µL de tampon MRW** dans chaque puits et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à complète resuspension de toutes les billes (**5 min**). Alternativement, remettre en suspension les billes par pipetages successifs (15 fois). Incuber pendant **1 min**.

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 les aimants. Retirer et jeter le surnageant à l'aide d'une pipette.

4 Laver avec le tampon 70 % d'éthanol

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

Ajouter **900 µL d'éthanol à 70 %** dans chaque puits et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à complète resuspension de toutes les billes (**5 min**). Alternativement, remettre en suspension les billes par pipetages successifs (15 fois). Incuber pendant **1 min**.

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 les aimants. Retirer et jeter le surnageant à l'aide d'une pipette.

Sécher les billes pendant **5 min à température ambiante**. Maintenir le Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP pour l'étape de séchage.

5 Digérer l'ADN

Retirer le Square-well Block du séparateur magnétique NucleoMag® SEP. Ajouter **300 µL de mélange réactionnel rDNase** et remettre les billes en suspension par pipetages successifs. Incuber pendant **15 min** à **température ambiante**. Ne pas séparer les billes !

Note : Si vous souhaitez isoler l'ARN et l'ADN dans le même éluat, il faut omettre l'étape de séchage de l'étape 5 du protocole ainsi que la digestion de l'ADN et poursuivre le protocole à l'étape 8 avec le 2^{ème} lavage à l'éthanol 70 %.

6 Re-fixer les ARN

Ajouter **350 µL de tampon MRB** à chaque échantillon. **Mélanger** par agitation pendant 5 min à température ambiante ou par pipetages successifs 6 fois et une incubation ultérieure pendant 5 min à température ambiante.

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.

7 Laver avec le tampon à 70 % d'éthanol

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

Ajouter **900 µL d'éthanol à 70 %** dans chaque puits et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à complète resuspension de toutes les billes (**5 min**). Alternativement, remettre en suspension les billes par pipetages successifs (15 fois). Incuber pendant **1 min**.

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 les aimants. Retirer et jeter le surnageant à l'aide d'une pipette. Laisser le Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP pour l'étape suivante.

8 Sécher l'échantillon

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

9 Eluer l'ARN

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

Ajouter le volume souhaité de **tampon MRE (au moins 50 µL, 50 – 200 µL)** et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à complète resuspension de toutes les billes (**5 min**). Alternativement, remettre en suspension les billes par pipetages successifs (15 fois).

Incuber la suspension pendant **5 min** à **température ambiante**.

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 les aimants. Transférer le surnageant contenant l'ARN purifié dans une plaque de collecte appropriée (voir informations de commande, paragraphe 8.2).



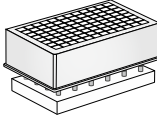
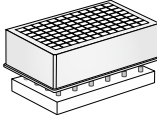
7 Protocole pour l'extraction de l'ARN et de l'ADN dans des éluats séparés

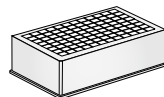
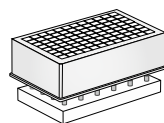
Résumé du protocole

- Pour les exigences supplémentaires en matière d'équipement et de matériel, voir les paragraphes 1.2 et 2.4, respectivement.
- **Le kit NucleoMag® RNA/DNA Pro (744370.1) ou le kit NucleoMag® RNA Pro en combinaison avec le kit NucleoSpin® RNA/DNA Buffer (REF 740944) est nécessaire pour réaliser le protocole** (voir les informations de commande, paragraphe 8.2).
- Pour des informations détaillées sur chaque étape, voir page 28.

Avant de débiter la procédure :

- Vérifier que la rDNase a été préparée conformément au chapitre 3.
- Préparer le tampon de lavage DNA Wash conformément au chapitre 3 du manuel.

	Homogénéiser / lyser des échantillons / 1 ^{er} lavage	Effectuer le protocole d'extraction de l'ARN à partir de cellules, de tissus ou de matériel végétal jusqu'à l'étape 4, laver avec le tampon MRW.	
A	Laver avec le tampon de lavage DNA Wash	Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP 900 µL de tampon DNA Wash	
		Remettre en suspension : Agiter 5 min à TA <i>(Optionnel : Mélanger par pipetages successifs).</i>	
		Retirer le surnageant après 2 min de séparation	
B	Sécher l'échantillon	Laisser le Square-well Block sur NucleoMag® SEP Sécher à l'air 10 – 15 min à TA	

C Eluer l'ADNRetirer le Square-well Block
du NucleoMag® SEP**100 µL de tampon DNA Elute****Agiter 5 – 10 min à TA***(Optionnel : Mélanger par pipetages
successifs)***Séparer 2 min et transférer l'ADN
dans une plaque d'éluion / des
tubes****Digérer l'ADN/ Re-
fixer les ARN/ 3ème
lavage/ Eluer l'ARN****Poursuivre le protocole
d'extraction de l'ARN à partir
de cellules et de tissus ou de
matériel végétal avec l'étape 6,
Digérer l'ADN.****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 2.4). Il est recommandé d'utiliser un Square-well Block pour la séparation (voir paragraphe 1.2). Alternativement, l'extraction de l'ARN peut être effectuée 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 automatisés.

- **Le kit NucleoMag® RNA/DNA Pro (744370.1) ou le kit NucleoMag® RNA Pro en combinaison avec le kit NucleoSpin® RNA/DNA Buffer (REF 740944) est nécessaire pour réaliser le protocole** (voir les informations de commande, paragraphe 8.2).

Avant de débiter la procédure :

- Vérifier que la rDNase a été préparée conformément au chapitre 3.
- Préparer le tampon de lavage DNA Wash conformément au chapitre 3 du manuel.

Homogénéiser/lyser les échantillons/ Clarifier les lysats/ Fixer les acides nucléiques aux NucleoMag® B-Beads/ Laver avec le tampon MRW

Suivre le protocole pour l'extraction d'ARN à partir de cellules et de tissus (paragraphe 5) ou de matériel végétal (paragraphe 6) pour les quatre premières étapes du protocole. Effectuer ensuite les trois étapes A à C suivantes pour extraire dans un premier temps l'ADN.

A Laver avec le tampon DNA Wash

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

Ajouter **900 µL de tampon de lavage DNA Wash** dans chaque puits et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à complète resuspension de toutes les billes (**5 min**). Alternativement, remettre en suspension les billes par pipetages successifs (15 fois). Incuber pendant **1 min**.

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 les aimants. Retirer et jeter le surnageant à l'aide d'une pipette.

B Sécher l'échantillon

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

C Eluer l'ADN

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

Ajouter 100 µL de **tampon d'éluion DNA Wash** et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à complète resuspension de toutes les billes (**5 min**). Alternativement, remettre en suspension les billes par des pipetages successifs (15 fois).

Incuber la suspension pendant **5 min** à **température ambiante**.

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 les aimants. Transférer le surnageant contenant l'ADN purifié dans une plaque de collecte appropriée (voir informations de commande, paragraphe 8.2).

Digérer l'ADN/ Re-fixer les ARN/ 3ème lavage/ Eluer l'ARN

Procéder au protocole respectif pour l'extraction de l'ARN à partir de cellules et de tissus (paragraphe 5) ou de matériel végétal (paragraphe 6) avec l'étape de digestion de l'ADN (étape 6) et exécuter la suite du protocole sans aucune modification supplémentaire.

8 Annexes

8.1 Guide de résolution des problèmes

Problème	Causes possibles et suggestions
ARN dégradé / Rendement en ARN nul	<p><i>Contamination par des RNases</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Créer un environnement de travail exempt de RNases. Porter des gants pendant toutes les étapes de la procédure. Changer de gants fréquemment. Il est recommandé d'utiliser des tubes ou des plaques en polypropylène stériles et jetables. Les éventuels contenants en verre devront avoir été autoclavés pendant au moins 2 heures à 250 °C avant utilisation.
	<p><i>Volume de tampon d'éluion insuffisant</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Le culot des billes doit être entièrement recouvert de tampon d'éluion. <p><i>Performance insuffisante du tampon d'éluion pendant l'étape d'éluion.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Éliminer complètement les tampons résiduels provenant des étapes de séparation. Les tampons résiduels diminuent l'efficacité des étapes de lavage et d'éluion suivantes.
Faible rendement en ARN	<p><i>Séchage excessif des billes</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Ne pas laisser sécher les billes, car cela pourrait entraîner une baisse de l'efficacité de l'éluion. <p><i>Aspiration d'une partie des billes présents sur l'aimant</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Ne pas perturber les billes sur l'aimant lors de l'élimination du surnageant, en particulier lorsque le culot de billes magnétiques n'est pas visible dans le lysat. <p><i>Aspiration et perte de billes</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Durée de séparation magnétique trop courte ou vitesse d'aspiration trop élevée.
	<p><i>Procédure de lavage insuffisante</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Utiliser uniquement les combinaisons appropriées de séparateur et de plaque, par exemple le Square-well Block en combinaison avec le NucleoMag® SEP. S'assurer que les billes sont remises en suspension complètement pendant la procédure de lavage. Si l'agitation ne suffit pas à remettre complètement les billes en suspension, mélanger grâce à des pipetages successifs.

Problème	Causes possibles et suggestions
Faible performance de l'ARN dans les applications en aval	<p data-bbox="333 209 617 228"><i>Contamination par de l'éthanol</i></p> <ul data-bbox="333 248 919 300" style="list-style-type: none"> <li data-bbox="333 248 919 300">• Veillez à éliminer toute la solution de lavage éthanolique, car l'éthanol résiduel interfère avec les applications aval. <p data-bbox="333 320 501 339"><i>Pureté insuffisante</i></p> <ul data-bbox="333 360 505 379" style="list-style-type: none"> <li data-bbox="333 360 505 379">• Voir ci-dessus.
Perte des billes	<p data-bbox="333 405 740 424"><i>Durée de séparation magnétique trop courte</i></p> <ul data-bbox="333 445 975 517" style="list-style-type: none"> <li data-bbox="333 445 975 517">• Augmenter la durée de séparation pour permettre aux billes d'être complètement attirées par les aimants avant d'aspirer tout liquide du puits. <p data-bbox="333 537 773 557"><i>Vitesse d'aspiration trop élevée (étape d'éluion)</i></p> <ul data-bbox="333 577 969 651" style="list-style-type: none"> <li data-bbox="333 577 969 651">• Une vitesse d'aspiration élevée pendant l'étape d'éluion peut entraîner une perte des billes. Réduire la vitesse d'aspiration pour l'étape d'éluion.
Contamination croisée	<p data-bbox="333 676 785 695"><i>Contaminations des parties supérieures des puits</i></p> <ul data-bbox="333 716 949 842" style="list-style-type: none"> <li data-bbox="333 716 949 842">• Ne pas souiller les bords du Square-well Block lors du transfert du lysat tissulaire. Si le bord des puits est contaminé, sceller le Square-well Block avec une feuille PE auto-adhésive (voir informations de commande, paragraphe 8.2) avant de mettre l'agitateur en marche.

8.2 Informations de commande

Produit	REF	Conditionnement
NucleoMag® RNA Pro	744360.1 744360.4	1 × 96 preps 4 × 96 preps
NucleoMag® RNA/DNA Pro	744370.1	1 × 96 preps
NucleoMag® SEP	744900	1
Square-well Blocks	740481.4 740481.24	4 24
Film PE auto-adhésif	740676	50 feuilles
Rack of Tube Strips (le kit comprend 1 Rack, 12 barrettes de 8 bouchons chacune et des Cap Strips)	740477.4 740477.24	4 sets 24 sets
Cap Strips (barrettes de 8 bouchons)	740638	30 barrettes
96 Deep-well plates pour systèmes à barreaux magnétiques	744955	25
8-well Tip Combs pour systèmes à barreaux magnétiques	744960	50
8-well Accessory Kit pour systèmes à barreaux magnétiques	744961	1 sets
Pour l'utilisation du kit sur l'instrument KingFisher® Flex :		
p.e., KingFisher® Accessory Kit B Square-well Blocks, Deep-well tip combs, plaques d'élu­tion pour 4 × 96 NucleoMag® RNA preps	744951	1 sets
NucleoSpin® DNA/RNA Buffer Set	740994	100 preps
Tampon de lyse RL1	740385.125	125 mL

Visitez le site www.mn-net.com pour obtenir des informations plus détaillées sur le produit.

8.3 Restrictions d'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
Tél : +49 24 21 969 333

support@mn-net.com

8.4 Versions linguistiques et prédominance

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

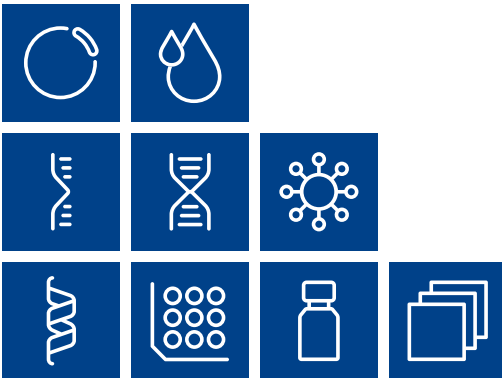
Marques déposées :

KingFisher est une marque déposée de Thermo Fisher Scientific.

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

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

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

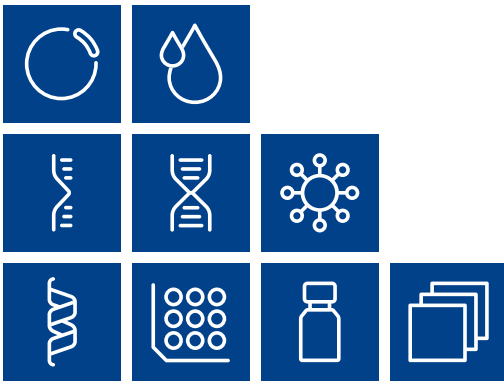
Viral RNA and DNA

Protein

High throughput

Accessories

Auxiliary tools



MACHEREY-NAGEL

www.mn-net.com

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

