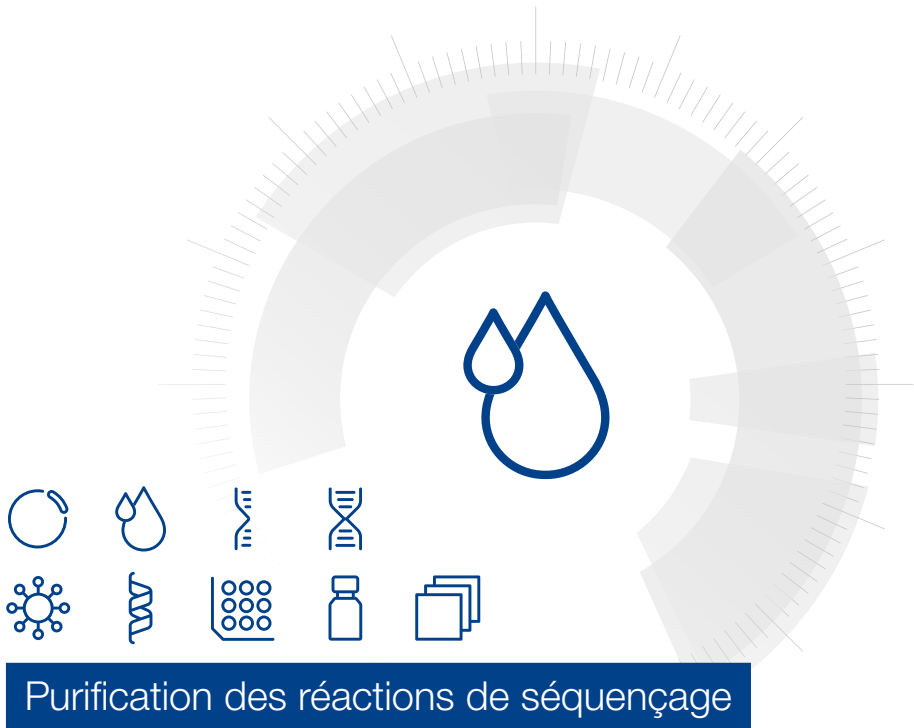


MACHEREY-NAGEL

# Manuel d'utilisation



## Purification des réactions de séquençage

■ NucleoSEQ®

Novembre 2023 / Rev. 06

## 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	Composition	4
1.1	Contenu du kit	4
1.2	Matériel à fournir par l'utilisateur	4
1.3	A propos de ce manuel d'utilisation	4
2	Description du produit	5
2.1	Principe général	5
2.2	Caractéristiques du kit	5
3	Conditions de stockage	5
4	Instructions de sécurité	5
4.1	Élimination des déchets	5
5	Protocole pour la purification de réactions de séquençage	6
6	Annexes	8
6.1	Guide de résolution des problèmes	8
6.2	Informations de commande	8
6.3	Restrictions de l'utilisation / garantie	9
6.4	Versions linguistiques et prédominance	9

# 1 Composition

## 1.1 Contenu du kit

REF	NucleoSEQ®		
	10 preps 740523.10	50 preps 740523.50	250 preps 740523.250
Colonnes NucleoSEQ®	10	50	250
Tubes collecteurs	10	50	250
Manuel d'utilisation	1	1	1

## 1.2 Matériel à fournir par l'utilisateur

- Tubes collecteurs (ex : tube 1,5 mL pour micro centrifugeuse)

## 1.3 A propos de ce manuel d'utilisation

Il est fortement recommandé aux nouveaux utilisateurs du kit NucleoSEQ® de lire la version détaillée du protocole. Toute la littérature technique est disponible en ligne sur [www.mn-net.com](http://www.mn-net.com).

Merci de contacter notre service technique à propos de tout éventuel changement entre la version actuelle du manuel et les précédentes.

## 2 Description du produit

### 2.1 Principe général

Les colonnes NucleoSEQ<sup>®</sup> sont conçues pour la purification rapide et fiable des acides nucléiques. L'utilisation de la technologie d'exclusion de gel en format miniprep à centrifuger permet de séparer efficacement les plus petites molécules des acides nucléiques. Les impuretés telles les sels, l'excès de marqueurs, de nucléotides, les traces de solvants organiques sont retenues par la colonne tandis que les acides nucléiques d'intérêt sont récupérés avec un rendement élevé. Les colonnes sont pré-conditionnées avec le gel d'exclusion de taille.

### 2.2 Caractéristiques du kit

- Volume maximal d'échantillon chargé : 20 µL.
- Elimination des dye terminators y compris BigDye<sup>®</sup>.
- Réservé à l'usage de la recherche.

## 3 Conditions de stockage

- Les colonnes NucleoSEQ<sup>®</sup> contenant la matrice sèche peuvent être stockées à température ambiante et sont stables jusqu'au : voir l'étiquette sur le kit.
- Les colonnes NucleoSEQ<sup>®</sup> contenant la matrice hydratée devront être stockées à 4 °C. Les colonnes peuvent être stockées jusqu'à 14 jours à 4 °C.

## 4 Instructions de sécurité

Les kits NucleoSEQ<sup>®</sup> ne contiennent aucun composant dangereux.




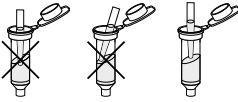

### 4.1 Elimination des déchets

Éliminer les substances usagées d'une manière sûre et conforme aux dispositions réglementaires locales.

## 5 Protocole pour la purification de réactions de séquençage

### Procédure générale

(Pour les détails sur chaque étape voir page 7.)

<p>1 Centrifuger la résine sèche</p>		<p>750 x g 30 s</p>
<p>2 Hydrater la résine avec <b>600 µL d'eau</b>, vortexer et incuber au moins <b>30 min</b> pour une hydratation complète</p>		<p>600 µL eau TA &gt; 30 min</p>
<p>3 Enlever le bouchon inférieur et centrifuger la résine hydratée</p>		<p>750 x g 2 min</p>
<p>4 Charger l'échantillon au centre de la résine</p>		<p>Charger la colonne</p>
<p>5 Centrifuger <b>4–6 min</b> à <b>750 x g</b> pour récupérer l'échantillon purifié</p>		<p>750 x g 4–6 min</p>

## Procédure détaillée

---

Réaliser la réaction de séquençage selon les protocoles standards.

Nous recommandons de ne pas utiliser plus de 1–2 µL de mélange réactionnel Big Dye® Ready par réaction de séquençage de 20 µL afin de ne pas surcharger les colonnes.

---

- 1 Centrifuger les colonnes NucleoSEQ® pendant 30 sec à 750 × g pour collecter la matrice sèche au fond de la colonne.
  - 2 Ajouter **600 µL d'eau distillée** et mélanger au vortex pour hydrater le gel. Éliminer les bulles d'air en vortexant ou en tapotant la colonne. Incuber au moins 30 min ou toute la nuit pour hydrater la résine. L'incubation peut être effectuée à température ambiante ou à 4 °C. Les colonnes hydratées peuvent être stockées à 4 °C pendant 14 jours maximum. Resuspendre la matrice sédimentée en retournant ou en mélangeant au vortex la colonne plusieurs fois. Les bulles d'air doivent avoir disparues. Enlever le bouchon inférieur de la colonne et placer la dans un tube collecteur (fourni avec le kit).
  - 3 Placer la colonne dans la centrifugeuse (la charnière du bouchon de la colonne doit être orientée vers l'extérieur du rotor). Centrifuger 2 min à 750 × g pour enlever le tampon de stockage. Éliminer le tube collecteur avec le tampon de stockage. Placer la colonne dans un tube collecteur approprié pour la collecte des échantillons purifiés (par ex. un tube 1,5 mL pour micro centrifugeuse, non fourni).
  - 4 Ouvrir la colonne. Charger précautionneusement l'échantillon verticalement sur le centre du gel. Pipeter l'échantillon sur les bords de la colonne peut réduire l'efficacité de la purification. Par ailleurs, éviter de toucher la surface du gel. Le volume de l'échantillon ne doit pas dépasser les 20 µL.
  - 5 Placer la colonne dans le rotor de la même manière que précédemment (charnière du bouchon vers l'extérieur). Eluer l'échantillon par centrifugation de la colonne pendant **4–6 min à 750 × g**. Jeter la colonne.
- 

Sécher l'échantillon ou utiliser directement.

---

## 6 Annexes

### 6.1 Guide de résolution des problèmes

Problème	Causes possibles et suggestions
Dye blobs	<i>L'échantillon n'a pas été appliqué correctement sur le gel</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ajouter l'échantillon directement au centre du gel. Distribuer l'échantillon au goutte à goutte. Éviter de déposer l'échantillon sur les bords du gel.</li> </ul>
	<i>Volume d'échantillon trop important</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ajouter 20 µL d'échantillon. Des volumes supérieurs peuvent entraîner une élimination incomplète des dye terminators.</li> </ul>
Faible intensité du signal	<i>Volume d'échantillon trop faible</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>Utiliser un volume d'échantillon de 20 µL. Si nécessaire, ajuster le volume de l'échantillon à 20 µL avec de l'eau distillée.</li> </ul>

### Conversion des forces de centrifugation relatives (RCF) pour différentes centrifugeuses :

$$\text{rpm} = 100 \times \sqrt{\text{RCF}/1.12r}$$

$$\text{RCF} = (\text{rpm} / 1000)^2 \times 1.12r$$

rpm = (revolution per minute) tours par min.

RCF = (relative centrifugal force) force de centrifugation relative. Force centrifuge = RCF x g.

r = rayon en mm.

### 6.2 Informations de commande

Produit	REF	Conditionnement
NucleoSEQ®	740523.10/.50/.250	10/50/250

Visitez notre site web [www.mn-net.com](http://www.mn-net.com) pour des informations plus détaillées.

## 6.3 Restrictions de l'utilisation / garantie

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

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

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

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

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

Veuillez contacter :  
MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG  
Tél : +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.

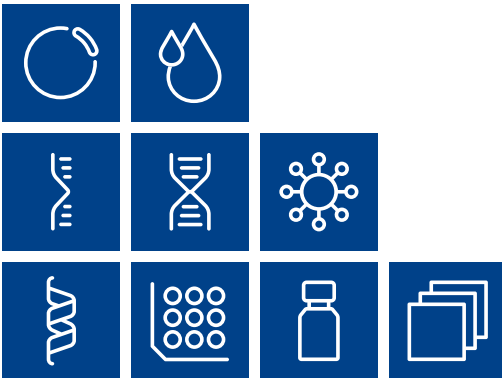
---

Marques déposées :

BigDye® est une marque déposée par Applied Biosystems

NucleoSEQ® est une marque déposée par MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG

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



Plasmid DNA

Clean up

RNA

DNA

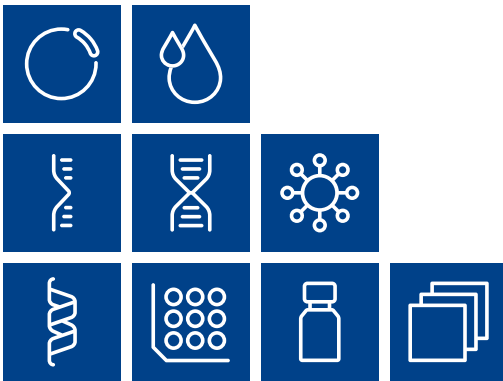
Viral RNA and DNA

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)

