Biologie Moléculaire

MACHEREY-NAGEL

Manuel d'utilisation

Purification d'ADN à partir d'échantillons FFPE

■ NucleoSpin® DNA FFPE XS

Septembre 2026 / Rev. 06

Purification d'ADN des échantillons FFPE

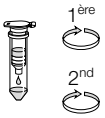
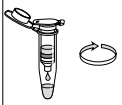
Résumé du protocole (Rev. 06)

	NucleoSpin® DNA FFPE XS	
	Protocole 5.1: **Purification d'ADN avec le Paraffin Dissolver**	***Protocole 5.2:*** **Purification d'ADN avec le xylène**
Préparer l'échantillon	Pour la quantité d'échantillon appropriée, voir la section 2.4.	Pour la quantité d'échantillon appropriée, voir la section 2.4.
1 Déparaffiner l'échantillon	400 µL de Paraffin Dissolver 60 °C, 3 min Mélanger l'échantillon chaud	1 mL de xylène TA, 2 min Mélanger
	Laisser refroidir l'échantillon	11,000 x *g*, 2 min Eliminer le surnageant 1 mL ~ 98 % d'éthanol Mélanger 11,000 x *g*, 2 min Eliminer le surnageant Sécher à 60 °C, 3 –10 min
2 Lyser l'échantillon	100 µL FL Mélanger vigoureusement 11,000 x *g*, 1 min 10 µL Protéinase K Mélanger la phase infé-rieure TA, 3 heures ou pendant la nuit	100 µL FL – 10 µL Protéinase K Mélanger TA, 3 heures ou pendant la nuit
3 Décrosslink	100 µL D-Link Mélanger doucement 11,000 x *g*, 30 s 90 °C, 30 min	100 µL D-Link Mélanger doucement – 90 °C, 30 min
4 Ajuster conditions de fixation	200 µL ~ 98 % d'éthanol Mélanger 1,000 x *g*, 1 s	200 µL ~ 98 % d'éthanol Mélanger –
5 Fixer l'ADN	Charger la phase aqueuse (inférieure) 2,000 x *g*, 30 s	Charger le lysat 2,000 x *g*, 30 s

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Germany
Tel.: +49 24 21 969-333 · support@mn-net.com · *www.mn-net.com*

Purification d'ADN des échantillons FFPE

Résumé du protocole (Rev. 06)

6 Laver et sécher la membrane de silice		400 µL B5 11,000 x *g*, 30 s 400 µL B5 11,000 x *g*, 2 min	400 µL B5 11,000 x *g*, 30 s 400 µL B5 11,000 x *g*, 2 min
7 Eluer l'ADN		20 µL BE 11,000 x *g*, 30 s	20 µL BE 11,000 x *g*, 30 s
8 *Optionnel: éliminer l'éthanol résiduel*		90 °C, 8 min	90 °C, 8 min

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Germany
Tel.: +49 24 21 969-333 · support@mn-net.com · *www.mn-net.com*

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valencienner 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

www.mn-net.com

Sommaire

1 Composition du kit 4
1.1 Composants 4
1.2 Réactifs, consommables, et équipement nécessaire 5
1.3 A propos de ce manuel 5
2 Description du kit 6
2.1 Principe général 6
2.2 Caractéristiques du kit 7
2.3 Manipulation, préparation et conditions de stockage des échantillons 8
2.4 Quantité de tissus FFPE 8
2.5 Procédures d'élution 9
2.6 Stabilité de l'ADN purifié 10
2.7 Elimination des traces résiduelles d'éthanol, pour une sensibilité maximale des applications en aval. 10
3 Conditions de stockage et préparation des réactifs 12
4 Instructions de sécurité 13
4.1 Élimination des déchets 13
5 Protocoles 14
5.1 Purification de l'ADN des échantillons FFPE utilisant le tampon Paraffin Dissolver 14
5.2 Purification de l'ADN avec déparaffinage au Xylène 20
6 Annexes 24
6.1 Information sur la qualité et la quantité d'ADN 24
6.2 Guide de résolution des problèmes 25
6.3 Informations de commande 27
6.4 Restrictions d'utilisation / garantie 28

1 Composition du kit

1.1 Composants

	NucleoSpin® DNA FFPE XS		
REF	**10 preps 740980.10**	**50 preps 740980.50**	**250 preps 740980.250**
Tampon de dissolution de la paraffine « Paraffin Dissolver »	5 mL	25 mL	5 × 25 mL
Tampon de lyse FL	8 mL	8 mL	4 × 8 mL
Tampon de décrosslink « D-Link »	8 mL	8 mL	30 mL
Tampon de lavage B5 (concentré)*	6 mL	12 mL	50 mL
Protéinase K (lyophilisée)*	6 mg	30 mg	75 mg
Tampon de protéinase PB	1.8 mL	1.8 mL	8 mL
Tampon d'élution BE**	13 mL	13 mL	13 mL
Colonnes NucleoSpin® DNA FFPE XS (bagues vertes plus Tubes Collecteurs)	10	50	250
Tubes Collecteurs (2 mL)	20	100	500
Manuel d'utilisation	1	1	1

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

** Composition du tampon d'élution BE : 5 mM Tris/HCl, pH 8.5

1.2 Réactifs, consommables, et équipement nécessaire

Réactifs

- Ethanol 96 – 100 % (de préférence non dénaturé) pour préparer le tampon de lavage B5 et pour créer les conditions de fixation.
- Optionnel pour le déparaffinage sans le Tampon Paraffin Dissolver : Xylène, d-Limonène, mélanges d'hydrocarbures isoparaffiniques ou des réactifs similaires pour le déparaffinage.

Consommables

- Tubes à centrifuger 1.5 mL (pour la lyse des échantillons et l'élution de l'ADN)
- Cônes jetables

Equipement

- Pipettes manuelles
- Centrifugeuse pour micro tubes
- Vortex
- Bloc chauffant (réglable à 60 °C et 90 °C)
- Equipements de protection personnelle (ex. blouse, gants, lunettes de protection)

1.3 A propos de ce manuel

Il est fortement recommandé aux nouveaux utilisateurs du kit **NucleoSpin® DNA FFPE XS** 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 comme un support permettant le suivi rapide des étapes du protocole lors de la procédure de purification.

Toute la littérature technique est disponible sur Internet à l'adresse suivante : ***www.mn-net.com***.

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

2 Description du kit

Les échantillons de tissus fixés à la formaline et inclus en paraffine (dits 'FFPE' : Formalin-fixed, paraffin-embedded) sont préparés couramment à partir d'échantillons chirurgicaux humains par fixation à la formaline suivie d'une inclusion dans la paraffine.

De fines coupes de ces échantillons FFPE sont utilisées en routine pour des analyses d'histopathologie, et le reste de ces blocs de tissus inclus en paraffine est archivé. L'existence de vastes collections de tissus FFPE représente une source précieuse pour des études rétrospectives du profil d'expression des gènes et l'analyse des mutations. Cependant, l'utilisation de l'ADN de ces échantillons est limitée en raison des modifications chimiques entraînées par le formaldéhyde et la fragmentation de l'ADN pendant la préparation des tissus (prélèvement, fixation, inclusion) et leur stockage (humidité, durée, température). Les procédures standards d'extraction de l'ADN résultent souvent en un faible rendement en ADN et de mauvaises performances dans les applications en aval (ex. PCR). Un système spécial de purification prenant en compte les contraintes spécifiques des tissus FFPE est donc nécessaire pour garantir le succès de l'analyse des acides nucléiques des échantillons

2.1 Principe général

Le kit **NucleoSpin® DNA FFPE XS** est une méthode pratique, fiable et rapide pour extraire l'ADN à partir des tissus fixés à la formaline et inclus en paraffine (FFPE).

La procédure offre une alternative à l'utilisation du xylène, inflammable et malodorant, ou du d-limonène communément utilisé pour le déparaffinage. En outre, la procédure permet d'éviter les difficultés liées à l'élimination des solvants organiques à partir de culots de tissus souvent à peine visibles. **NucleoSpin® DNA FFPE XS** utilise un tampon inodore breveté pout l'élimination de la paraffine (Paraffin Dissolver) et permet une lyse efficace en deux phases.

Tout d'abord, les coupes de tissue FFPE sont dissoutes dans le tampon Paraffin Dissolver. Les tissus sont ensuite digérés par la protéinase K pour solubiliser les tissus fixés et libérer l'ADN en solution.

Ensuite, une incubation à chaud avec un tampon spécialement conçu permet d'éliminer efficacement les liaisons covalentes (crosslink) de l'ADN précédemment libéré en solution. Après ajout d'éthanol, le lysat est déposé sur la colonne **NucleoSpin® DNA FFPE XS**. L'ADN est fixé à la membrane de silice. Deux étapes de lavage permettent l'élimination des sels, des métabolites et des composants cellulaires macromoléculaires.

L'ADN purifié est finalement élué dans des conditions de faible force ionique dans un petit volume (20 µl) de tampon d'élution BE, aboutissant à l'obtention d'un ADN hautement concentré.

La purification de l'ADN avec les kits **NucleoSpin® DNA FFPE XS** peut être menée à température ambiante.

L'éluat, cependant, doit être traité précautionneusement, car le tampon d'élution ne contient pas d'inhibiteurs de DNases tel que l'EDTA. Pour garantir la stabilité de l'ADN, conserver l'ADN congelé à -20 °C.

2.2 Caractéristiques du kit

- Le kit **NucleoSpin® DNA FFPE XS** est recommandé pour l'extraction de l'ADN à partir de tissus fixés à la formaline (formaldéhyde) et inclus en paraffine (dits tissus 'FFPE'). Les échantillons sont généralement de fines sections (environ 3 – 20 µm d'épaisseur) d'origine humaine ou animale, obtenue généralement par résection ou biopsie.
- **Quantité d'échantillon :** la quantité maximale d'échantillon utilisable est déterminée par : a) la quantité de tissus et b) la quantité de paraffine. **NucleoSpin® DNA FFPE XS** est utilisable jusqu'à 5 mg de tissus. La quantité de paraffine est limitée à 15 mg avec le protocole standard utilisant le tampon Paraffin Dissolver (ex. 7 sections de 10 µm x 250 mm^2). Cependant, de plus grandes quantités d'échantillons paraffinés peuvent être procédées en utilisant, soit un volume supérieur de tampon Paraffin Dissolver ou en déparaffinant en utilisant le xylène (voir aussi le paragraphe 2.4)
- **Rendement en ADN :** il est très dépendant du type, de la qualité, de la quantité d'échantillon ainsi que de sa durée de stockage. En outre, le rendement en ADN mesuré peut varier considérablement entre les différentes méthodes de quantification. Le rendement déterminé par mesure de l'absorption à 260 nm ou par fluorescence (ex. PicoGreen®) peut varier des résultats de quantification obtenus par PCR. Même les valeurs de quantification obtenues par PCR d'un amplicon court (ex. 80 pb) par rapport à un long (ex. 300 pb) peuvent varier considérablement. La déviation de la quantification dépend également de la distribution de taille des fragments d'ADN, ainsi que de l'efficacité de la déréticulation (ou de la persistance de réticulation). Merci de voir également le paragraphe 6.1 pour d'autres informations concernant la détermination de la quantité et de la qualité de l'ADN extrait.
- **Le design innovant de la colonne**, avec une bague en forme d'entonnoir et une petite membrane de silice permet l'élution de l'ADN dans un volume réduit de 5 – 30 µL. Ainsi, l'ADN élué est hautement concentré et prêt à l'emploi pour les applications en aval (ex. PCR).
- **Distribution de taille des fragments d'ADN :** l'ADN isolé à partir des tissus fixés à la formaline et inclus en paraffine présente une large distribution de taille de fragments, allant de 50 à 5 000 bases. Souvent les fragments d'ADN de faible taille, c'est-à-dire de 100 – 300 bases prédominent, particulièrement quand l'échantillon de départ est ancien. Cependant, les échantillons qui ont subi une procédure appropriée de fixation, d'inclusion et de stockage peuvent permettre l'obtention de fragments ADN de taille supérieure à 5000 bases.
- **Temps de préparation de l'ADN :** il dépend fortement de l'échantillon et de la durée de lyse nécessaire. Les meilleurs résultats de lyses sont obtenus en incubant à température ambiante pendant au moins 3 heures. Pour certains types d'échantillons, une lyse plus longue (par exemple toute une nuit) permettra d'obtenir un rendement d'ADN significativement supérieur.

Table 1: Résumé des caractéristiques du kit

Paramètre	NucleoSpin® DNA FFPE XS
Echantillon*	Jusqu'à 7 sections, de 10 µm, d'une surface de 250 mm^2
Rendement moyen	Fortement dépendant de la qualité et de la quantité d'échantillon
Volume d'élution	5 – 30 µL
Volume de charge maximal de la colonne	600 µL
Format	Mini column – Design XS
Utilisation	Pour la recherche uniquement

2.3 Manipulation, préparation et conditions de stockage des échantillons

De nombreux facteurs influencent le rendement et la possibilité d'utiliser l'ADN obtenu à partir de tissus FFPE. La procédure d'échantillonnage des tissus, le délai post-prélèvement et avant fixation, la durée de fixation, l'inclusion et les conditions de stockage ont un fort impact sur la qualité et le rendement de l'ADN.

A partir d'un bloc de tissus inclus en paraffine, les échantillons doivent être sectionnés proprement. Les coupes de paraffine peuvent être stockées à +4 °C ou à des températures plus basses pendant au moins plusieurs semaines sans effets observables sur le rendement de l'ADN ou la possibilité d'utilisation. Le stockage à long terme des coupes de paraffine peut avoir un effet négatif sur l'ADN en raison de l'oxydation de l'air.

Porter des gants en permanence pendant la préparation. Changer fréquemment de gants.

2.4 Quantité de tissus FFPE

Le protocole standard (paragraphe 5.1) permet la préparation de l'ADN à partir d'environ 15 mg (c'est à dire 17 µL) de paraffine. Ceci correspond à :

~ 17 sections de 10 µm d'épaisseurs et une surface de 100 mm^2

~ 7 sections de 10 µm d'épaisseurs et une surface de 250 mm^2

~ 5 sections de 10 µm d'épaisseurs et une surface de 325 mm^2

~ 4 sections de 10 µm d'épaisseurs et une surface de 400 mm^2

~ 3 sections de 10 µm d'épaisseurs et une surface de 575 mm^2

~ 2 sections de 10 µm d'épaisseurs et une surface de 840 mm^2

~ 1 section de 10 µm d'épaisseurs et une surface de 1680 mm^2

* Avec l'utilisation de la procédure standard impliquant le tampon Paraffin Dissolver, il est possible d'utiliser de plus grandes quantités d'échantillon en modifiant le protocole, voir le paragraphe 2.4.

De plus grandes quantités de paraffine peuvent être dissoutes en utilisant dès le départ un volume de tampon Paraffin Dissolver (REF 740968.25) supérieur (30 µl de tampon Paraffin Dissolver par mg de paraffine), ou en utilisant le xylène pour le déparaffinage comme décrit dans le paragraphe 5.2.

En cas d'utilisation de plus de 400 µl de tampon Paraffin Dissolver par préparation, il est nécessaire d'utiliser un tube de plus de 1,5 mL pour permettre l'élimination de la phase inférieure, aqueuse, après l'étape de déréticulation sans débordement.

Note : La procédure standard NucleoSpin® DNA FFPE XS est recommandée pour les échantillons contenant **jusqu'à 15 mg** de paraffine (pour assurer une dissolution efficace de la paraffine avec le volume indiqué de Paraffin Dissolver) et **jusqu'à 5 mg de tissu** (pour éviter une surcharge de la membrane).

- Trois sections de 20 mm x 25 mm de surface et de 10 µm d'épaisseur peuvent contenir jusqu'à 15 mg de paraffine (en particulier, si seules des parties mineures de la section contiennent du tissu).
- Une section de 20 mm x 25 mm de surface et de 10 µm d'épaisseur contient environ 5 mg de tissu, si la section contient du tissu à l'échelle de la zone.

2.5 Procédures d'élution

Une concentration elevée en ADN dans la fraction d'élution est souhaitable pour toutes les applications courantes. Etant donnée les volumes limités de mix réactionnel, une concentration élevée de la matrice peut être un critère crucial. En raison d'un volume d'élution par défaut important, les kits standard produisent souvent un ADN faiblement concentré lorsque de petits échantillons sont traités. De tels échantillons d'ADN peuvent nécessiter une étape de concentration supplémentaire pour convenir à l'application prévue.

Les kits NucleoSpin® DNA FFPE XS permettent une élution efficace dans de très faibles volumes d'élution, permettant d'obtenir une concentration en ADN élevée. Les volumes d'élution compris entre 5 – 30 µL sont recommandés, le volume par défaut étant de 20 µL.

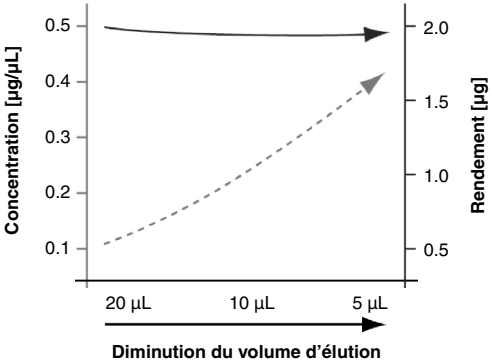


Figure 1
Corrélation entre le volume d'élution et la concentration d'ADN
(Colonnes NucleoSpin® DNA FFPE XS)

2.6 Stabilité de l'ADN purifié

Le tampon d'élution ne contient pas d'inhibiteurs de DNases (ex. EDTA) capables de complexer divers cations divalents. Aussi, veiller à ne pas contaminer ce tampon avec des DNases !

Pour un stockage à court terme, la solution d'ADN peut être conservée à 0 – 4 °C et pour le long terme, une température de -20 °C est recommandée.

2.7 Elimination des traces résiduelles d'éthanol, pour une sensibilité maximale des applications en aval.

Le volume d'élution par défaut de **NucleoSpin® DNA FFPE XS** est de 20 µL. Le kit autorise des volumes d'élution encore plus faibles, jusqu'à 5 µL, pour augmenter la concentration d'ADN (voir paragraphe 2.5). Sachez qu'une réduction du volume d'élution par défaut de 20 µL augmentera également la concentration d'éthanol résiduel dans l'éluat.

Pour les volumes d'élution par défaut, une incubation à chaud est recommandée si la solution d'ADN éluée représente plus de 20 % du volume final de PCR (incuber l'éluat avec le bouchon ouvert pendant 8 min à 90 °C). Cette mesure de précaution permet d'éviter l'inhibition de réactions sensibles en aval.

Dans ce contexte, veuillez tenir compte des remarques ci-dessous :

a) une incubation de la fraction éluée à plus hautes températures augmentera le signal PCR. Ceci est particulièrement important si la matrice représente plus de 20 % du volume total de la réaction de PCR (ex. plus de 4 µl d'éluat utilisés comme matrice dans un volume de PCR total de 20 µl). La matrice peut représenter jusqu'à 40 %* du volume total de la réaction de PCR, si la solution d'ADN est incubée à 90 °C pendant 8 min, comme mentionné ci-dessus.

b) Typiquement, 20 µL d'éluat s'évaporent à 12 – 14 µL pendant l'incubation à chaud pendant 8 min à 90 °C. Si des volumes finaux plus élevés sont nécessaires, veuillez augmenter le volume du tampon d'élution (par exemple, de 20 µL à 30 µL).

c) Une incubation de la solution éluée pendant 8 min à 90 °C dénature l'ADN. Si, pour certaines applications autres que la PCR (telles le clonage, la ligation) l'ADN est souhaité non dénaturé, nous recommandons d'incuber la solution d'ADN à une température inférieure à 80 °C pendant une durée supérieure étant donné que la majorité des fragments d'ADN a un point de fusion supérieur à 80 °C. Suggestion : incuber pendant 17 min à 75 °C.

d) L'incubation de l'ADN élué à des températures supérieures peut être ajustée selon les données présentées dans la Figure 2. Les durées et températures d'incubation présentées réduiront un volume d'élution de 20 µl à environ 12 – 14 µl et les traces d'éthanol seront éliminées comme mentionné ci-dessus.

e) Si le volume initial de tampon d'élution appliqué à la colonne est inférieur à 20 µL, le temps d'incubation à chaud doit être réduit afin d'éviter un assèchement complet. Si le volume d'élution est par exemple de 5 µL, une incubation à chaud de l'éluat pendant 2 min à 80 °C permet d'éliminer convenablement l'éthanol résiduel.

* Le pourcentage maximal représenté par le volume matrice dans la réaction de PCR peut varier en fonction de la robustesse du système de PCR ; 40 % de volume de matrice ont été testés en utilisant le LightCycler® PCR (Roche) avec le kit DyNAmo™ Capillary SYBR® Green qPCR Kit (Finnzymes).

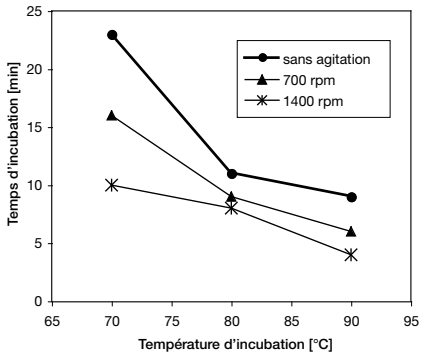


Figure 2
Élimination de l'éthanol résiduel de la fraction d'élution par traitement à chaud.
Afin d'obtenir une sensibilité maximale à la PCR, il est recommandé d'incuber l'éluat à la chaleur. L'incubation à chaud peut être effectuée à des températures de 70 à 90 °C dans un bloc chauffant, avec ou sans agitation. Les conditions efficaces (température, durée et vitesse d'agitation) pour l'élimination de l'éthanol peuvent être lues sur le diagramme ; un volume initial de 20 µL s'évaporera à 12 – 14 µL au cours de l'incubation décrite.

3 Conditions de stockage et préparation des réactifs

Attention :
Le tampon FL1 contient des sels chaotropiques. Portez des gants et des lunettes de protection !

Tous les composants doivent être stockés 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.

Vérifier la disponibilité de l'éthanol 96 – 100 % (de préférence non dénaturé) pour créer les conditions de fixation du lysat pour préparer le Tampon de Lavage B5 (voir ci-dessous).

Avant de débuter le protocole, préparer :

La Protéinase K : ajouter le volume indiqué de tampon de protéinase PB (voir le tableau ci-dessous ou sur le flacon) pour dissoudre la Protéinase K. La solution de Protéinase K est stable à - 20 °C pendant 6 mois.

- **Tampon de lavage B5 :** ajouter le volume indiqué d'éthanol 96 – 100 % (voir le tableau ci- dessous ou sur le flacon) au tampon B5 concentré. Conserver le tampon de lavage B5 à température ambiante (15 – 25 °C) pendant un an maximum.

	NucleoSpin® DNA FFPE XS		
REF	**10 preps** **740980.10**	**50 preps** **740980.50**	**250 preps** **740980.250**
Tampon de lavage B5 (concentré)	6 mL Ajouter 24 mL d'éthanol 96 – 100 %	12 mL Ajouter 48 mL d'éthanol 96 – 100 %	50 mL Ajouter 200 mL d'éthanol 96 – 100 %
Protéinase K (lyophilisée)	6 mg Ajouter 260 µL de tampon Protéinase PB	30 mg Ajouter 1.35 mL tampon Protéinase PB	75 mg Ajouter 3.35 mL tampon Protéinase PB

4 Instructions de sécurité

Lorsque vous travaillez avec le kit **NucleoSpin®DNA FFPE XS**, portez des vêtements de protection appropriés (par exemple, une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection). Pour plus d'informations, consultez les fiches de données de sécurité appropriées (FDS disponibles en ligne à l'adresse suivante : http ://***www.mn-net.com/msds***).

Les déchets générés par le kit NucleoSpin®DNA FFPE XS 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 fort pouvoir dénaturant du tampon de lyse 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 règlementations de sécurité locales.

4.1 Élimination des déchets

Éliminer les substances dangereuses, potetiellement infectieuses ou contaminées par du matériel biologique de manière sûre et conforme aux dispositifs réglementaires locales.

5 Protocoles

Le kits **NucleoSpin® DNA FFPE XS** est compatible avec deux méthodes différentes pour le déparaffinage des échantillons. L'une utilise le tampon Paraffin Dissolver (fourni dans le kit) et l'autre fait intervenir le xylène ou un solvant organique comparable (non fourni avec le kit). Les deux méthodes ont la même efficacité et performance.

Déparaffinage avec le tampon Paraffin Dissolver :	Paragraphe 5.1
Déparaffinage avec le xylène :	Paragraphe 5.2

5.1 Purification de l'ADN des échantillons FFPE utilisant le tampon Paraffin Dissolver

Avant de débuter la purification :

- Vérifier que la Protéinase K et le Tampon B5 ont été préparés selon le chapitre 3.
- Vérifier la disponibilité d'éthanol 96 – 100 %.
- Régler le(s) incubateur(s) à 60 °C (dissolution de la paraffine) et 90 °C (déréticulation).

Préparation de l'échantillon

Déposer la(es) coupe(s) de tissus FFPE dans un micro tube.

Pour les quantités de tissus appropriées, voir le paragraphe 2.4

1 Déparaffinage de l'échantillon

Ajouter **400 µL de tampon Paraffin Dissolver** à l'échantillon.

Incuber **3 min** à **60 °C** (pour faire fonder la paraffine).

Mélanger au vortex immédiatement (à 60 °C) et vigoureusement pour dissoudre la paraffine.

Note : Dans l'idéal, utilisez un thermostat pour l'incubation !

Refroidir l'échantillon à température ambiante.

Veiller à ce que la paraffine soit complètement fondue pendant l'étape d'incubation à chaud et bien mélanger après la dissolution pour dissoudre complètement la paraffine.

Un mélange insuffisant de l'échantillon chauffé peut entraîner la réapparition de particules de paraffine solides. S'assurer que l'échantillon ne contient pas plus de 15 mg de paraffine ou ajuster le volume du dissolvant de paraffine (voir paragraphe 2.4).

Pour les échantillons comprenant plus de 15 mg de paraffine, utiliser 30 µL de dissolvant de paraffine pour 1 mg de paraffine. Si plus de 400 µL de dissolvant de paraffine sont nécessaires, placer l'échantillon dans un tube de 2 mL (non fourni).

+ 400 µL Paraffin Dissolver

60 °C, 3 min

Mélanger au vortex l'échantillon chaud

2 Lyse de l'échantillon

Ajouter **100 µL de tampon FL**.

Mélanger au vortex vigoureusement.

Centrifuger à **11,000 x *g*** pour **1 min**

Deux phases se forment : une phase inférieure (aqueuse) et une phase supérieure (organique). Le tissu de départ est transféré dans la phase inférieure (aqueuse).

Optionnel : La phase organique supérieure peut être retirée et jetée après centrifugation.

+ 100 µL FL

Vortexer

11,000 x *g*, 1 min

Pipeter **10 µL de solution de protéinase K** directement dans la phase inférieure (aqueuse).

Mélanger la phase aqueuse par pipetages successifs. (Ne mélanger par pipetage que la phase inférieure, aqueuse. Eviter de trop mélanger la phase inférieure à la phase supérieure)

S'assurer que la protéinase K est bien mélangée au tampon de lyse.

Si plusieurs échantillons sont traités, il est recommandé de préparer un pré-mix de tampon FL / protéinase K. Ajouter 110 µL du pré-mix dans le tube, mélanger et centrifuger pour séparer les phases et assurer le transfert du tissu dans la phase aqueuse (inférieure). Mélanger la phase aqueuse à la pipette plusieurs fois pour disperser les tissus dans le tampon de lyse.

+ 10 µL Protéinase K

Mélanger par pipetages successifs (phase inférieure)

Incuber à température ambiante pendant 3 heures pour lyser le tissu de l'échantillon.

Si des particules résiduelles de tissu non lysé sont visibles après 3 heures, ajouter 10 µL supplémentaires de solution de protéinase K et poursuivre la digestion pendant 3 heures supplémentaires ou toute la nuit.

Note : Le rendement de l'ADN amplifiable augmente généralement avec un temps de lyse prolongé. Pendant cette étape d'incubation, les protéines sont digérées et l'ADN est libéré dans la solution.

Mélanger au vortex pendant 5 s.

Régler le bloc chauffant à 90 °C.

Etape de pause possible : à ce stade, la procédure peut être temporairement interrompue. En cas de pause, il est recommandé de conserver les échantillons à -20 °C.

TA, 3 heures

Vortexer 5 s

3	**Décrosslink** Ajouter **100 µL de tampon de décrosslink D-Link** dans le tube et mélanger doucement au vortex pour mélanger le tampon D-Link dans la phase aqueuse (inférieure) Centrifuger à **11 000 x *g*** pendant **30 s** pour obtenir la séparation de phases.	**+ 100 µL D-Link** **Vortexer** **11,000 x *g*, 30 s**
	Incuber à **90 °C** pendant exactement **30 min**. Mélanger au vortex 5 s et laisser refroidir à température ambiante (env. 2 min). *Si nécessaire, centrifuger brièvement pour éliminer les gouttes du bouchon (environ 1 s à 1 000 x g).* *Note : cette étape de déréticulation est nécessaire pour éliminer les liaisons chimiques (causées par la formaline) de l'ADN libéré en solution lors de l'étape de lyse précédente. L'ADN non réticulé est généralement plus performant dans les applications en aval.*	**90 °C, 30 min** **Vortexer**
4	**Ajustement des conditions de fixation** Ajouter **200 µL d'éthanol (96 – 100 %)** dans le tube et mélanger au vortex (2 × 5 s). Centrifuger brièvement pendant 1 s à 1 000 x *g* pour obtenir la complète séparation des phases. Note : Éviter de centrifuger à une force x *g* beaucoup plus élevée, car l'acide nucléique pourrait précipiter. L'éthanol se retrouve dans la phase aqueuse (inférieure) uniquement.	**+ 200 µL d'éthanol** **Vortexer** **1,000 x *g*, 1 s**

5 Fixation de l'ADN

Pour chaque échantillon, prendre une colonne **NucleoSpin® DNA FFPE XS (bague verte)** placée dans un Tube Collecteur (2 mL).

Charger la phase aqueuse (inférieure)

Pipeter toute la phase aqueuse (inférieure) dans la colonne NucleoSpin® DNA FFPE XS.

Il est recommandé de pipeter un volume de 450 µL sur la colonne, afin de s'assurer que la totalité de la phase aqueuse (inférieure) est transférée (le volume de la phase aqueuse est d'environ 410 µL). Un petit transfert de la phase organique (supérieure) n'a pas d'effet négatif sur la procédure de fixation.

Centrifuger pendant 30 s à 2,000 x *g*. Si la solution ne passe pas complètement, centrifuger pendant 30 s à 11 000 x *g* jusqu'à ce que la totalité de la solution passe dans la colonne.

2,000 x *g*, 30 s

La vitesse de centrifugation recommandée de 2,000 x g est plus efficace qu'à 11,000 x g.

Eliminer le Tube Collecteur avec le filtrat et placer la colonne dans un nouveau Tube Collecteur (2 mL).

6 Lavage et séchage de la membrane de silice

1er lavage

+ 400 µL B5

Déposer 400 µl de Tampon B5 sur la colonne NucleoSpin® DNA FFPE XS.

Centrifuger pour 30 s à 11,000 x *g*.

11,000 x *g*, 30 s

Eliminer le Tube Collecteur avec le filtrat et placer la colonne dans un nouveau Tube Collecteur (2 mL).

2ième lavage

Déposer 400 µl de Tampon B5 sur la colonne NucleoSpin® DNA FFPE XS.

+ 400 µL B5

Centrifuger pour 2 min à 11,000 x *g* pour sécher la membrane.

11,000 x *g*, 2 min

Eliminer le Tube Collecteur avec le filtrat et placer la colonne dans un nouveau tube de microcentrifugation exempt de nucléase (1,5 mL, non fourni).

7	**Elution de l'ADN** Déposer **20 µl de tampon BE** directement au centre de la membrane de silice de la colonne. Le volume d'élution peut varier de 5 – 30 µl. Pour la corrélation entre le volume d'élution, la concentration d'ADN et le rendement, voir le paragraphe 2.4. Centrifuger pendant 30 s à 11,000 x *g*.	**+ 20 µL BE** **11,000 x *g*, 30 s**
8	***Optionnel : Eliminer l'éthanol résiduel*** *Incuber la solution d'ADN éluée (20 µl) avec le bouchon ouvert pendant 8 min à 90 °C.* *Voir le paragraphe 2.7 pour des informations détaillées et recommandations concernant l'élimination des résidus d'éthanol.*	**90 °C, 8 min**

5.2 Purification de l'ADN avec déparaffinage au Xylène

Avant de débuter la purification :

- Vérifier que la Protéinase K et le Tampon B5 ont été préparés selon le chapitre 3.
- Vérifier la disponibilité d'éthanol 96 – 100 %.
- Vérifier que le xylène (ou un réactif similaire*) est disponible pour le déparaffinage.
- Régler le(s) incubateur(s) à 60 °C (dissolution de la paraffine) et 90 °C (déréticulation).

Préparation de l'échantillon

Déposer la(es) coupe(s) de tissus FFPE dans un micro tube.

Pour les quantités de tissus appropriées, voir le paragraphe 2.4

1 Déparaffiner l'échantillon

Ajouter à l'échantillon **1 mL de xylène** (ou un réactif similaire*)

Incuber à **température ambiante** jusqu'à ce que la paraffine soit complètement dissoute (généralement environ 2 min) et mélanger au vortex vigoureusement (10 s).

S'assurer que la paraffine soit complètement dissoute.

Centrifuger pendant **2 min** à **11,000 x *g***.

Eliminer le surnageant en pipettant. Ne pas prélever le culot.

1 mL xylène

TA, 2 min

Vortexer

11,000 x *g*, 2 min

Eliminer le surnageant

Ajouter **1 mL d'éthanol (96 – 100 %)** sur le culot et mélanger au vortex (5 s).

Centrifuger pendant **2 min** à **11,000 x *g*.**

Eliminer le surnageant en pipettant. Ne pas prélever le culot.

1 mL d'éthanol

Vortexer

11,000 x *g*, 2 min

Eliminer le surnageant

Incuber le tube ouvert à **60 °C** pendant **3 – 10 min** pour sécher le culot.

Il est important d'évaporer tout résidu d'éthanol. L'éthanol résiduel peut réduire le rendement d'ADN.

60 °C, 3 – 10 min

* Exemples d'alternatives au xylène : d-Limonène (par exemple, Roti®-Histol, Hemo-De) ou mélanges d'hydrocarbures isoparafiniques (par exemple, Roticlear®, Micro-ClearTM, Neo-Clear®). (par exemple, Roticlear®, Micro-ClearTM, Neo-Clear®).

2	**Lyse de l'échantillon** Ajouter **100 µL de tampon FL** et **10 µL de Protéinase K** sur le culot. Mélanger au vortex vigoureusement (5 s). Si plusieurs échantillons sont extraits, il est recommandé de préparer un pré-mix Tampon FL / Protéinase K. Ajouter 110 µL du pré-mix au culot. Centrifuger brièvement (env. 1 min à **1,000 x g).** *Les résidus solides des coupes collées aux parois doivent être récupérés dans la solution en pipetant. Homogénéiser les coupes dans le tampon en pipetant la solution plusieurs fois.*	 **+ 100 µL FL** **+ 10 µL Protéinase K** **Vortexer**
	Incuber à **température ambiante** pendant 3 heures pour lyser les échantillons de tissus. S'il persiste des résidus de tissus non lysés après 3 heures d'incubation, ajouter 10 µL de solution de Protéinase K et continuer la digestion pour 3 nouvelles heures ou toute une nuit. Note : le rendement d'ADN amplifiable augmente avec la durée de lyse. Pendant cette incubation, les protéines sont digérées et l'ADN est libéré en solution. Mélanger au vortex pendant 5 s. Etape de pause possible : à ce stade, la procédure peut être stoppée temporairement. Dans ce cas, nous recommandons de stocker les échantillons à -20 °C. Régler le bloc chauffant à 90 °C (pour l'étape suivante de déréticulation).	**TA,** **3 heures**
3	**Décrosslink** Ajouter **100 µL de Tampon Décrosslink D-Link** au lysat et mélanger au **vortex** vigoureusement (5 s).	 **+ 100 µL D-Link** **Vortexer**

	Incuber à **90 °C** pendant exactement **30 min**. Mélanger au vortex pendant 5 s, laisser refroidir à température ambiante (environ 2 min). Si nécessaire, centrifuger brièvement pour collecter les gouttes du bouchon (environ 1 s à 1,000 x *g*) Note : cette étape de déréticulation est nécessaire pour éliminer les liaisons chimiques (modifications causées par la formaline) de l'ADN qui est libéré en solution lors de l'étape précédente de lyse. L'ADN non réticulé est généralement plus performant dans les applications en aval.	**90 °C, 30 min**
4	**Ajustement des conditions de fixation** Ajouter **200 µL d'éthanol (96 – 100 %)** au lysat et **mélanger** au vortex (2 × 5 s). Centrifuger brièvement pour collecter les gouttes du bouchon (environ 1 s à 1,000 x *g*).	**+ 200 µL d'éthanol** **Vortexer**
5	Fixation des ADN Pour chaque échantillon, prendre une colonne **NucleoSpin® DNA FFPE XS** (bagues vertes) placée dans un Tube Collecteur. Pipeter le lysat par aspiration-refoulement deux fois avant de charger le lysat. Charger le lysat sur la colonne. Centrifuger pendant **30 s** à **2,000 x *g*.** Si la solution ne s'écoule pas totalement, centrifuger pendant **30 s** à **11,000 x *g*** jusqu'à ce que la solution complète passe dans la colonne. *La vitesse de centrifugation recommandée de 2,000 x g est plus efficace qu'à 11,000 x g.* Eliminer le Tube Collecteur avec le filtrat et placer la colonne dans un nouveau Tube Collecteur (2 mL)	**Charger le lysat** **2,000 x *g*, 30 s**
6	**Lavage et séchage de la membrane de silice** **1er lavage** Déposer **400 µl de Tampon B5** sur la colonne NucleoSpin® DNA FFPE XS. Centrifuger pour **30 s** à **11,000 x *g***. Eliminer le Tube Collecteur avec le filtrat et placer la colonne dans un nouveau Tube Collecteur (2 mL).	**+ 400 µL B5** **11,000 x *g*, 30 s**

	2ième lavage Déposer **400 µl de Tampon B5** sur la colonne NucleoSpin® DNA FFPE XS. Centrifuger pour **2 min** à **11,000 x *g*** pour sécher la membrane. Eliminer le Tube Collecteur avec le filtrat et placer la colonne dans un nouveau tube de microcentrifugation exempt de nucléase (1,5 mL, non fourni).	**+ 400 µl B5** **11,000 x *g*, 2 min**
7	**Elution de l'ADN** Déposer **20 µl de Tampon BE** directement au centre de la membrane de silice de la colonne. Le volume d'élution peut varier de 5 – 30 µl. Pour la corrélation entre le volume d'élution, la concentration d'ADN et le rendement, voir le paragraphe 2.5. Centrifuger pendant **30 s** à **11 000 x *g***.	**+ 20 µL BE** **11,000 x *g*, 30 s**
8	***Optionnel : Eliminer l'éthanol résiduel*** *Incuber la solution d'ADN éluée (20 µl) avec le bouchon ouvert pendant **8 min** à **90 °C**.* *Voir le paragraphe 2.7 pour des informations détaillées et recommandations concernant l'élimination des résidus d'éthanol.*	**90 °C, 8 min**

6 Annexes

6.1 Information sur la qualité et la quantité d'ADN

En raison de la fixation des tissus, les acides nucléiques des échantillons FFPE sont couramment fragmentés et modifiés par le formaldéhyde. Ces modifications ne peuvent pas être détectées par des mesures standards de contrôle qualité, telles que les gels d'électrophorèse, la spectrophotométrie, la fluorométrie ou les analyses microfluidiques. Cependant, l'efficacité des réactions enzymatiques (ex. PCR) avec cet ADN modifié est significativement réduite.

Les méthodes d'analyse et les applications de cet ADN sont par exemple :

- Spectrophotométrie (ex. mesures de l'absorption A_{230}, A_{260}, A_{280})
- Fluorométrie (ex. RiboGreen®)
- Electrophorèse sur gel d'agarose denaturant
- Analyses microfluidiques (ex Bioanalyzer Agilent 2100, Experion de BioRad)
- PCR
- Analyses de Puces à ADN (ex. microarray)

Les points suivants sont à considérer pour les méthodes listées précédemment, en particulier lors de la comparaison de l'efficacité de différentes méthodes d'extraction et de déréticulation de l'ADN ou des performances de l'ADN purifié dans les applications :

- **Un rendement d'ADN** élevé déterminé par mesure de l'A_{260} ou par fluorescence (ex. PicoGreen®) n'aboutit pas systématiquement à une bonne performance de l'ADN dans la PCR, l'ADN peut être hautement dégradé (ex. fragments de taille plus faible que la cible de le PCR) ou insuffisamment déréticulé.
- **Un rendement faible ou nul d'ADN** déterminé par mesure de l'A_{260} aboutira probablement à de faibles résultats en PCR, mais il est tout de même possible d'obtenir de bons résultats. Il se peut qu'une petite quantité d'ADN suffisamment déréticulé présente une bonne réactivité.
- **Un ADN de haut poids moléculaire** ne garantit pas une bonne amplification en PCR ou une bonne réactivité dans d'autres réactions enzymatiques. L'ADN, bien que de haut poids moléculaire, peut être insuffisamment déréticulé.
- **Un ADN de faible poids moléculaire**, par ex. très dégradé, avec des fragments en deçà de 200 nucléotides uniquement, ne permettra certainement pas l'amplification de fragments de taille supérieure. Mais de petites séquences cibles (ex. 80 – 150 bp) peuvent être amplifiables, en particulier si l'ADN est bien déréticulé.

Ni le rendement d'ADN, ni le poids moléculaire, ni les ratios d'absorbance, ou la distribution de taille de l'ADN ne peuvent prédire les performances des PCR en aval, particulièrement lors de la comparaison de différents systèmes de purification et de déréticulation. L'indicateur majeur de qualité de l'ADN extrait à partir d'un échantillon FFPE est sa performance dans les applications souhaitées.

6.2 Guide de résolution des problèmes

Problème	Causes possible et suggestions
L'ADN est dégradé, rendement d'ADN nul.	*Mauvaise qualité de l'échantillon* • La qualité de l'échantillon a un impact important sur la quantité et la qualité de l'ADN.
Mauvaise qualité ou mauvais rendement en ADN	*Mauvaise utilisation ou préparation des réactifs* • Réactifs mal préparés. Ajouter le volume indiqué d'éthanol au tampon B5 concentré et mélanger. Reconstituer et conserver la Protéinase K selon les instructions données au paragraphe 3. • L'échantillon et les réactifs n'ont pas été bien homogénéisés. Mélanger au vortex vigoureusement après l'ajout de chaque réactif. • Ajout d'éthanol omis après la lyse. La fixation de l'ADN à la membrane de silice est effective uniquement en présence d'éthanol. *Stockage du kit* • Reconstituer et conserver la Protéinase K selon les instructions données au paragraphe 3. • Conserver les composants du kit tel que mentionné dans le paragraphe 3. • Garder les flacons de tampons bien fermés afin de prévenir toute évaporation ou contamination. *Force ionique et pH influence la mesure de l'absorbance A_{260} ainsi que le ratio A_{260} / A_{280}* • Pour les mesures de l'absorbance, utiliser du Tris/HCl 5mM pH 8,5 comme diluant. Voir aussi : - Manchester, K. L. 1995. Value of A_{260}/A_{280} ratios for measurement of purity of nucleic acids. Biotechniques 19, 208 – 209. - Wilfinger, W. W., Mackey, K. and Chomczyski, P. 1997. Effect of pH and ionic strength on the spectrophotometric assessment of nucleic acid purity. Biotechniques 22, 474 – 481. *Durée de la digestion Protéinase K* • En fonction de la nature de l'échantillon, la durée optimale de digestion, comprise entre 3 et 16 heures doit être déterminée empiriquement. S'il subsiste des résidus de tissus non lysés après 3 h, prolonger l'incubation jusqu'à 16 heures. Après les 3 premières heures d'incubation, de la protéinase K supplémentaire peut être ajoutée à l'échantillon.

Problème	Causes possible et suggestions
Colmatage de la colonne NucleoSpin® DNA FFPE XS / mauvais rendement ou qualité de l'ADN	*Echantillon de départ* • Quantité d'échantillon utilisée trop élevée. La surcharge de la colonne peut entraîner une chute du rendement d'ADN. Réduire la quantité d'échantillon ou utiliser des volumes supérieurs de tampon Paraffin Dissolver et / ou de tampon de lyse FL. • Digestion et/ou homogénéisation de l'échantillon de départ insuffisante. Mener une incubation pendant une nuit, si le tissu n'est pas totalement digéré après 3 heures.
Performance de l'ADN dans les expériences en aval	*Contamination par l'éthanol ou des sels* • Ne pas laisser le filtrat entrer en contact avec l'extrémité inférieure de la colonne après le second lavage au tampon B5. S'assurer de centrifuger pendant la durée et la vitesse recommandées afin d'éliminer totalement le tampon B5. • Vérifier que le tampon B5 a été remis à température ambiante avant utilisation. Le lavage à plus faible température diminue l'efficacité de l'élimination des sels par le tampon B5. • En fonction de la robustesse du système de PCR utilisé, la PCR peut être inhibée si la quantité de solution d'ADN purifié utilisée est trop importante. Utiliser comme matrice de PCR un volume de solution d'ADN élué moindre. *Stocké les ADN purifiés convenablement* • Pour une stabilité optimale, l'ADN élué doit toujours être conservé sur la glace afin de prévenir sa dégradation par de possibles traces de DNases.
Divergence entre la quantification par mesure de A_{260} et par PCR	*Abrasion de la silice de la membrane* • En raison du contenu en ADN généralement faible des petits échantillons FFPE, résultant en un faible rendement total d'ADN extrait, la quantification de l'ADN par mesure de l'absorbance A_{260} est souvent altérée en raison de la faible sensibilité de ce type de mesure. Lorsque les mesures effectuées sont proches de la limite de détection du spectrophotomètre, la mesure peut être influencée par de minimes quantités d'abrasion de silice. Afin de se prémunir des mesures de A_{260} et donc de quantifications incorrectes des petites quantités d'ADN, centrifuger les éluats pendant 30 s à 11 000 x *g* et prélever un aliquote dénué de tout sédiment pour la mesure. Alternativement, utiliser une méthode de quantification insensible à l'abrasion de la silice (ex. Picrogreen®).

Problème	Causes possible et suggestions
Ratio A_{260}/A_{280} incohérent	*Mesure hors de la plage de la limite de détection du photomètre* • Afin d'obtenir un ratio A_{260}/A_{280} significatif, il est nécessaire que les valeurs initiales de A_{260} et A_{280} soient significativement au-delà de la limite de détection du spectrophotomètre. Une valeur de A_{260} proche du bruit de fond du spectrophotomètre entraînera un ratio A_{260}/A_{280} incohérent.

6.3 Informations de commande

Produit	REF	Conditionnement
NucleoSpin® DNA FFPE XS	740980.10 / .50 / .250	10 / 50 / 250
NucleoSpin® totalRNA FFPE	740982.10 / .50 / .250	10 / 50 / 250
NucleoSpin® totalRNA FFPE XS	740969.10 / .50 / .250	10 / 50 / 250
NucleoSpin® Tissue XS	740901.10 / .50 / .250	10 / 50 / 250
Paraffin Dissolver	740968.25	25 mL
Paraffin Dissolver blue	740343.60	60 mL
Tubes Collecteurs (2 mL)	740600	1000
Tampon de Décrosslink D-Link	740979.30	30 mL

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

6.4 Restrictions d'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
Tel. : +49 24 21 969-333
support@mn-net.com

Marques déposées :

DyNAmo est une marque déposée de Finnzymes Oy

LighCycler est une marque déposée d'un membre du groupe Roche

Micro-Clear est une marque déposée de Micron Environmental Industries

Neo-Clear est une marque déposée de Merck KGaA

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

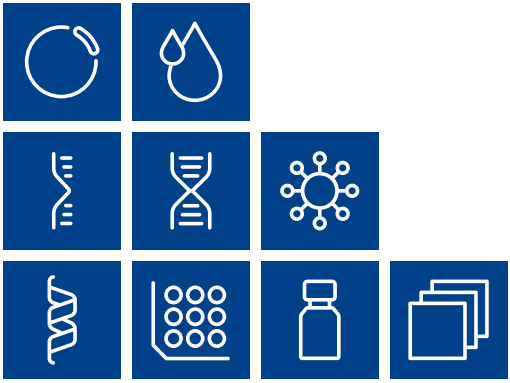
RiboGreen et PicoGreen est une marque déposée de Molecular Probes Inc.

Roticlear est une marque déposée de CARL ROTH GmbH & Co KG

Roti est une marque déposée de CARL ROTH GmbH & Co KG

SYBR est une marque déposée de Molecular Probes, Inc.

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



MACHEREY-NAGEL

www.mn-net.com

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

DE +49 24 21 969-0 info@mn-net.com
CH +41 62 388 55 00 sales-ch@mn-net.com
FR +33 388 68 22 68 sales-fr@mn-net.com
US +1 888 321 62 24 sales-us@mn-net.com