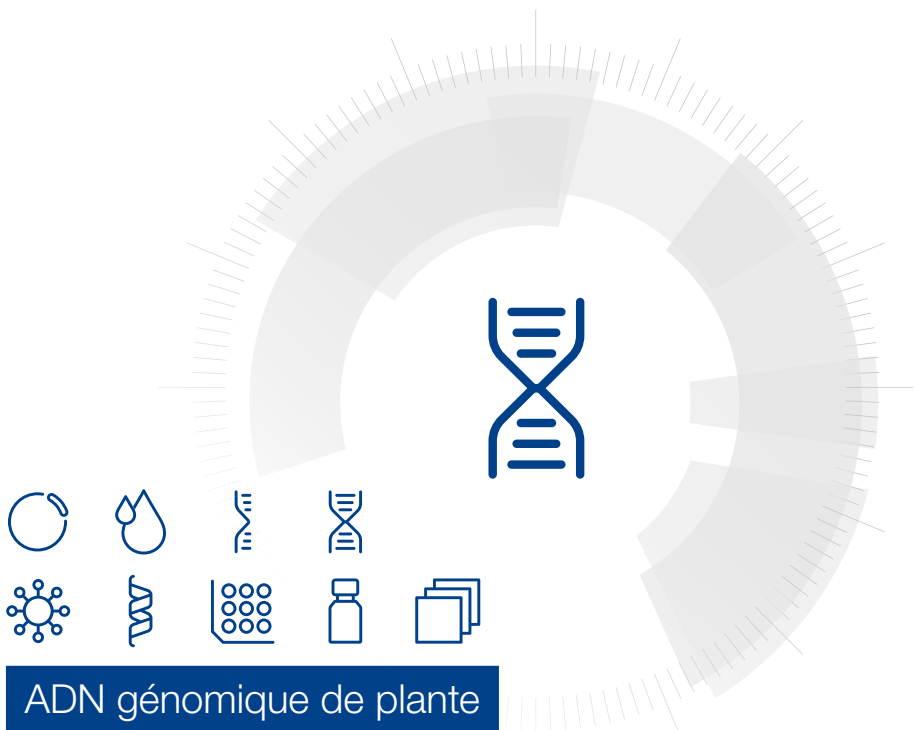


MACHEREY-NAGEL

Manuel d'utilisation



■ NucleoMag® Plant

Février 2023 / Rev. 08

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Germany
Tel.: +49 24 21 969-0
Toll-free: 0800 26 16 000 (Germany only)
E-mail: info@mn-net.com

Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-333
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, consommables et équipements à fournir par l'utilisateur	4
1.3	A propos de ce manuel	4
2	Description du produit	6
2.1	Principe général	6
2.2	Caractéristiques du kit	6
2.3	Systèmes de séparation magnétique	6
2.4	Réglage des paramètres d'agitation	7
2.5	Manipulation des billes	8
2.6	Stockage et homogénéisation des échantillons	9
2.7	Procédures d'élution	10
3	Instructions de sécurité	11
3.1	Élimination des déchets	11
4	Protocole pour l'extraction d'ADN génomique à partir d'échantillons de plantes	12
5	Annexes	18
5.1	Guide de résolution des problèmes	18
5.2	Informations de commande	20
5.3	Restrictions d'utilisation / garantie	21

1 Composants

1.1 Contenu du kit

NucleoMag® Plant			
REF	1 × 96 preps 744400.1	4 × 96 preps 744400.4	24 × 96 preps 744400.24
NucleoMag® C-Beads	3 mL	12 mL	75 mL
Tampon de lyse MC1	60 mL	250 mL	3 × 500 mL
Tampon de fixation MC2	50 mL	200 mL	3 × 400 mL
Tampon de lavage MC3	75 mL	300 mL	2 × 900 mL
Tampon de lavage MC4	75 mL	300 mL	2 × 900 mL
Tampon de lavage MC5	125 mL	500 mL	2 × 1000 mL
Tampon d'éluion MC6	30 mL	125 mL	1000 mL
RNase A (lyophilisée)*	15 mg	2 × 30 mg	12 × 30 mg
Plaque d'éluion à fond en U (y compris feuille autocollante)	1	4	24
Manuel d'utilisation	1	1	1

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

Réactifs

- 80 % d'éthanol

1.3 A propos de ce manuel

Il est recommandé de lire attentivement les instructions de ce manuel d'utilisation avant toute utilisation. Toute la documentation technique est également 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 présent manuel d'utilisation par rapport aux révisions précédentes ou mises à jour.

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

Équipement / Consommables

Produit	REF	Conditionnement
<ul style="list-style-type: none"> • Système de séparation magnétique p.e., NucleoMag® SEP (voir paragraphe 2.3) 	744900	1
<ul style="list-style-type: none"> • Plaque de séparation pour la séparation des billes magnétiques, p.e., Square-well Block (bloc de 96 puits avec des puits carrés de 2,1 mL) 	740481 740481.24	4 24
<ul style="list-style-type: none"> • 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 (puits de 1,2 mL) chacune, et 12 Cap Strips) 	740477 740477.24	4 sets 24 sets
<ul style="list-style-type: none"> • Plaque d'éluion pour la collecte d'acides nucléiques purifiés, p.e., plaque d'éluion à fond en U (microplaque de 96 puits de 0,3 mL avec 300 µL de puits à fond en U) p.e. plaque d'éluion à fond plat (microplaque de 96 puits de 0,3 mL avec 300 µL de puits à fond plat) 	740486 740673.24	24 20
Pour l'utilisation du kit sur l'instrument KingFisher® Flex : 96-well Accessory Kit B pour KingFisher® (Blocs puits profonds, tip combs pour puits profonds, plaques d'éluion pour 4 × 96 NucleoMag® Plant preps utilisant la plateforme KingFisher® Flex).	744951	1 set

2 Description du produit

2.1 Principe général

La procédure **NucleoMag® Plant** est basée sur l'adsorption réversible des acides nucléiques sur des billes paramagnétiques dans des conditions de tampons appropriées. Le tissu végétal est extrait avec le tampon de lyse CTAB MC1. L'ajustement des conditions de fixation des acides nucléiques avec le tampon de fixation MC2 et l'ajout des billes paramagnétiques peuvent être effectués simultanément. Après la séparation magnétique et l'élimination du surageant, les billes paramagnétiques sont lavées avec les tampons de lavage MC3, MC4 et de l'éthanol à 80 % pour éliminer les contaminants et le sel. Une étape de séchage n'est pas nécessaire car l'éthanol des étapes de lavage précédentes est éliminé par le tampon de lavage MC5. Enfin, l'ADN hautement purifié est élué avec le tampon d'éluion MC6 à faible teneur en sel et peut être directement utilisé pour des applications en aval. Le kit **NucleoMag® Plant** peut être utilisé manuellement ou automatiquement sur des robots pipeteurs standard.

2.2 Caractéristiques du kit

NucleoMag® Plant est conçu pour la préparation rapide, manuelle ou automatisée, d'ADN à petite échelle à partir d'échantillons de plantes allant jusqu'à 20 à 50 mg de poids humide.

Le kit est conçu pour être utilisé avec le séparateur magnétique NucleoMag® SEP (voir les informations de commande, paragraphe 6.2) ou d'autres systèmes de séparation magnétique (voir paragraphe 2.3). Le temps de préparation manuelle de 96 échantillons est d'environ 120 minutes. L'ADN purifié peut être utilisé directement comme matrice pour la qPCR, le séquençage nouvelle génération ou tout type de réaction enzymatique.

NucleoMag® Plant permet une automatisation facile sur des instruments courants de manipulation de liquides ou des séparateurs magnétiques automatisés. Le temps de préparation réel dépend de la configuration de l'instrument et du système de séparation magnétique utilisé. Typiquement, 96 échantillons peuvent être purifiés en moins de 120 minutes en utilisant le NucleoMag® SEP sur la plateforme d'automatisation.

Réserver à l'usage de la recherche.

2.3 Systèmes de séparation magnétique

Pour l'utilisation du **NucleoMag® Plant**, il est recommandé d'utiliser le séparateur magnétique NucleoMag® SEP. La séparation est effectuée dans un Square-well Block (voir les informations de commande). Le kit peut également être utilisé avec d'autres séparateurs courants.

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

Séparation à aimants statiques

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

Systèmes magnétiques mobiles

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

Séparateurs automatisés (p.e. instruments King Fisher®)

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

2.4 Réglage des paramètres d'agitation

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

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

- Charger 1000 µL (pour vérifier les paramètres de l'étape de fixation) ou 600 µL (pour vérifier les paramètres des étapes de lavage) d'eau teintée dans les puits de la plaque de séparation. Placez la plaque sur l'agitateur et commencez à agiter avec une vitesse modérée pendant 30 secondes. Éteindre l'agitateur et vérifier la présence de petites gouttelettes d'eau colorée à la surface de la plaque.
- Augmenter la vitesse, agiter pendant 30 secondes supplémentaires et vérifier à nouveau la présence de gouttelettes à la surface de la plaque.
- Continuez à augmenter la vitesse jusqu'à observer des gouttelettes sur le dessus de la plaque de séparation. Réduisez le réglage de la vitesse, vérifiez à nouveau et utilisez ce réglage pour l'étape de lavage.

Réglage de la vitesse de l'agitateur pour l'étape d'éluion :

- Charger 100 µL d'eau colorée dans les puits de la plaque de collecte et procéder comme décrit ci-dessus. Éteindre l'agitateur et vérifier la présence de petites gouttelettes d'eau colorée à la surface de la plaque.

* Contacter le ser

2.5 Manipulation des billes

Distribution des billes

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

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 et du volume à traiter. Les durées pour l'attraction complète des billes sur les aimants doivent être vérifiées et ajustés sur chaque système. Il est recommandé d'utiliser les plaques ou tubes de séparation spécifiés par le fournisseur du séparateur magnétique.

Lavage des billes

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

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

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

* Dispositif de pipetage à 8 canaux

2.6 Stockage et homogénéisation des échantillons

Nous recommandons d'utiliser des échantillons de jeunes plantes et de conserver les plantes pendant environ 12 heures dans l'obscurité avant de collecter les échantillons afin de réduire la teneur en polysaccharides.

Les échantillons de plantes peuvent être conservés à l'état congelé, sous éthanol ou lyophilisés. Dans de nombreux cas, le matériel lyophilisé et séché peut être traité plus facilement et donne un rendement plus élevé. Si vous utilisez des échantillons séchés, réduisez la quantité de matière première par un facteur 5 (p.e., utilisez 10 mg de feuilles végétales séchées au lieu de 50 mg de poids frais).

Les tissus végétaux étant très robustes, la procédure de lyse est plus efficace avec des échantillons bien homogénéisés et réduits en poudre. Les méthodes appropriées comprennent le broyage avec un pilon et un mortier en présence d'azote liquide ou l'utilisation de billes d'acier. Nous recommandons également l'utilisation d'autres homogénéisateurs commerciaux, de broyeurs à billes, etc.

Méthodes d'homogénéisation des échantillons

Homogénéisateurs commerciaux, par exemple Crush Express pour l'homogénéisation de 96 puits (contacter Saaten-Union Resistenzlabor GmbH, D-33818 Leopoldshöhe), Tissue Striker (www.KisanBiotech.com) ou Geno/Grinder 2000 (www.spexcsp.com ou pour l'Allemagne www.c3-analysentechnik.de).

Homogénéisation des échantillons à l'aide de billes d'acier VA (diamètre : 3 mm) : Mettre 4–5 billes et le matériel végétal ensemble dans un tube en plastique de 15 mL (Falcon), refroidir le tube dans l'azote liquide, et vortexer pendant environ 30 secondes (par exemple, avec un Multi Pulse Vortex, Schütt Labortechnik GmbH, Postfach 3454, D-37024 Göttingen, Allemagne). Répéter cette procédure de refroidissement et de vortex jusqu'à ce que l'ensemble du matériel végétal soit broyé en poudre. Refroidir le tube une fois de plus et retirer les billes en les faisant rouler doucement ou en les retirant à l'aide d'un aimant. Maintenir le matériel congelé pendant toute la durée de la procédure d'homogénéisation. N'ajoutez pas d'azote dans le tube ! Cela entraînerait l'adhérence et la perte du matériel végétal attaché aux billes. Alternativement, les MN Bead Tubes Type G (billes d'acier de 5 mm), pré-remplis et prêts à l'emploi, permettent une procédure d'homogénéisation des échantillons facile et pratique.

Homogénéisation à haut débit : Ajouter le tissu végétal dans les tubes individuels des Tube Strips. Ajouter une bille en acier inoxydable de 3 mm dans chaque tube et fermer les tubes individuels avec les barrettes de 8 bouchons. Congeler l'échantillon dans l'azote liquide et insérer le Rack de Tubes Strips dans un outil d'homogénéisation approprié (p.e. broyeur). Pour le broyage, agiter les échantillons pendant 60 à 90 s à 30 Hz ou jusqu'à ce qu'une poudre végétale homogène soit formée. Si nécessaire, répéter l'agitation une fois. Le matériel végétal frais peut également être homogénéisé avec du tampon de lyse, mais l'homogénéisation du matériel végétal frais avec du tampon de lyse peut provoquer un cisaillement de l'ADN. Pour le matériel végétal congelé, la décongélation doit être évitée pendant l'homogénéisation. Les échantillons doivent être congelés dans de l'azote liquide avant l'homogénéisation. Le matériel lyophilisé ou séché sur gel de silice peut être homogénéisé avec ou sans tampon de lyse. L'homogénéisation de tissus lyophilisés avec un tampon de lyse peut permettre d'obtenir un rendement plus élevé,

mais peut également provoquer un cisaillement de l'ADN. Alternativement, la MN Bead Plate Type D pré-remplie et prête à l'emploi, permet une procédure d'homogénéisation des échantillons facile et pratique.

2.7 Procédures d'élution

L'ADN purifié peut être élué directement avec le tampon d'élution MC6 fourni. L'élution peut être effectuée dans un volume $\geq 50 \mu\text{L}$. Il est essentiel de recouvrir complètement les billes NucleoMag[®] avec le tampon d'élution pendant l'étape d'élution. Le volume de tampon d'élution distribué dépend du système de séparation magnétique (p.e., la position du culot à l'intérieur de la plaque de séparation). Pour une élution efficace, le culot de billes magnétiques doit être entièrement remis en suspension dans le tampon d'élution. Pour certains séparateurs, des volumes d'élution plus élevés peuvent être nécessaires pour recouvrir la totalité du culot.

L'élution est possible à température ambiante. Le rendement peut être augmenté de 15 à 20 % si l'élution est effectuée à 55 °C.

Conditions de stockage et préparation des réactifs

Attention : Les tampons MC3 et MC4 contiennent du sel chaotropique ! Le tampon MC2 est hautement inflammable et irritant. Porter des gants et des lunettes !

Conditions de stockage :

- Tous les composants du kit **NucleoMag[®] Plant** 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 débiter une procédure **NucleoMag[®] Plant** préparer les éléments suivants :

- **RNase A :** avant la première utilisation, ajouter le volume d'eau indiqué à chaque flacon de RNase A lyophilisée. Conserver la RNase A à 4 °C.
- **Éthanol à 80 %** Utiliser de l'éthanol de qualité biologie moléculaire, diluer avec de l'eau appropriée jusqu'à 80 %.

NucleoMag [®] Plant			
REF	1 x 96 preps 744400.1	4 x 96 preps 744400.4	24 x 96 preps 744400.24
RNase A (lyophilisée)	15 mg Ajouter 1,25 mL d'eau	2 x 30 mg Ajouter 2,5 mL d'eau à chaque flacon	12 x 30 mg Ajouter 2,5 mL d'eau à chaque flacon

3 Instructions de sécurité

Lorsque vous travaillez avec le kit **NucleoMag[®] Plant** portez des vêtements de protection appropriés (p.e. une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection).

Pour plus d'informations, consultez les fiches de données de sécurité (les FDS sont disponibles en ligne sur le site www.mn-net.com/msds).



Attention : Le perchlorate de sodium contenu dans les tampons MC3 et MC4 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[®] Plant** 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 traitement par tampon de lyse fortement dénaturant, mais elle ne peut être totalement exclue. Par conséquent, les déchets liquides doivent être considérés comme infectieux et doivent être manipulés et éliminés conformément aux réglementations de sécurité locales.

3.1 Élimination des déchets

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

4 Protocole pour l'extraction d'ADN génomique à partir d'échantillons de plantes

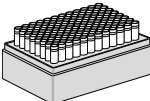
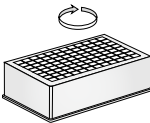


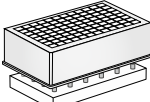
Résumé du protocole



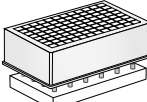
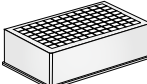

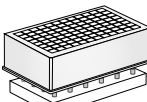


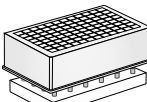
Pour les exigences supplémentaires en matière d'équipement et de matériel, voir les paragraphes 1.2 et 2.3, respectivement.

Pour des informations détaillées sur chaque étape, voir page 15.

Avant de débiter la procédure :

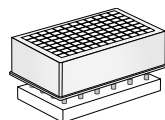
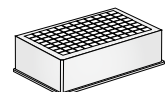
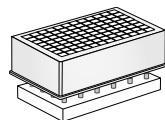
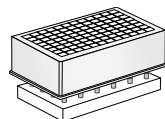
Vérifier si la RNase A a été préparée conformément au paragraphe 3.

1 Homogénéiser et lyser l'échantillon de plantes (20–50 mg).	Homogénéiser le matériel végétal (20–50 mg)	
	500 µL MC1 Mélanger 56 °C, 30 min	
2 Clarifier les lysats par centrifugation, transférer 400 µL de lysat éliminé dans un Square-well Block pour la suite de la procédure.	5 600 x g, 20 min 400 µL de lysat clarifié	
3 Fixation de l'ADN aux NucleoMag® C-Beads	30 µL NucleoMag® C-Beads 400 µL MC2	
	Mélanger en agitant pendant 5 min à TA. <i>(Optionnel : mélanger par pipetages successifs)</i>	
	Retirer le surnageant après 2 min de séparation.	

4 Lavage avec le tampon MC3	Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP 600 µL MC3	
	Remettre en suspension : Agiter 5 min à TA <i>(Optionnel : mélanger par pipetages successifs)</i>	
	Retirer le surnageant après 2 min	
5 Lavage avec le tampon MC4	Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP 600 µL MC4	
	Remettre en suspension : Agiter 5 min à TA <i>(Optionnel : mélanger par pipetages successifs)</i>	
	Retirer le surnageant après 2 min de séparation.	
6 Lavage avec l'éthanol à 80 %.	Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP 600 µL Éthanol à 80	
	Remettre en suspension : Agiter 5 min à TA <i>(Optionnel : mélanger par pipetages successifs)</i>	
	Retirer le surnageant	

7 Lavage avec le tampon MC5**Laisser** le Square-well Block sur le NucleoMag® SEP.

600 µL MC5

Incuber pendant 45–60 s**Note :** Ne pas remettre les billes en suspension dans le tampon MC5 !**Éliminer le surnageant****8 Eluer** l'ADN

Retirer le Square-well Block du NucleoMag® SEP

50-200 µL MC6*(Optionnel : élution à 55 °C)***Agiter 5 min à TA***(Optionnel : mélanger par pipetages successifs)***Séparer 2 min et transférer l'ADN dans la plaque d'élution / les tubes.****4.1 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 2.3). Il est recommandé d'utiliser un Square-well Block pour la séparation (voir paragraphe 1.2). L'extraction de l'ADN peut également être réalisée dans des tubes de réaction avec des séparateurs magnétiques appropriés. Ce protocole est destiné à une utilisation manuelle et sert de guide pour l'adaptation du kit aux instruments robotisés.

Avant de débiter la procédure :

- Vérifier si la RNase A a été préparée conformément au paragraphe 3.

1 Homogénéiser et lyser l'échantillon

Homogénéiser environ **20–50 mg (tissu végétal frais)**, par exemple à l'aide de barrettes de microtubes dans un système de broyage. **Ajouter 500 µL tampon MC1** au tissu végétal homogénéisé (20–50 mg de tissu frais ou < 10 mg de tissu lyophilisé). Ne pas souiller le bord. Fermer les tubes avec des barrettes de 8 bouchons. Mélanger en agitant vigoureusement pendant 15 à 30 s. Centrifuger brièvement pendant **30 s à 1 500 x g** pour recueillir tout échantillon des barrettes. Incuber les barrettes fermées à **56 °C pendant 30 min**.

Optionnel : Si les échantillons contiennent de grandes quantités d'ARN, nous recommandons d'ajouter 10 µL de solution de RNase A (solution mère 12 mg/mL) au mélange de lyse MC1.

2 Lysats clairs

Transférer **400 µL du lysat clarifié** (équilibré à température ambiante) 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.

3 Fixation de l'ADN aux NucleoMag® C-Beads

Ajouter **30 µL de NucleoMag® C-Beads** et **400 µL de tampon MC2** dans chaque puits du Square-well Block. Mélanger en pipetant de haut en bas 6 fois et **agiter** pendant 5 min à température ambiante. Alternativement, lors de la procédure du kit sans agitateur, pipeter de haut en bas 10 fois et incubé pendant 5 min à température ambiante.

Note: *Les billes NucleoMag® C et le tampon MC2 peuvent être mélangés au préalable. Pour 96 échantillons, mélanger au moins 2880 µL de NucleoMag® C-Beads avec 38,4 mL de Buffer MC2, mélanger par vortex. Utiliser 430 µL de la suspension par puits. Veiller à remettre en suspension les NucleoMag® C-Beads avant de les retirer du flacon de stockage. Vortexer brièvement le flacon de stockage jusqu'à ce qu'une suspension homogène soit formée.*

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

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

4 Lavage avec le tampon MC3

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

Ajouter **600 µL de tampon MC3** dans chaque puits et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à ce que les billes soient complètement remises en suspension (**5 min**). Alternativement, remettre les billes en suspension complètement par pipetages successifs (15 fois).

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

5 Lavage avec le tampon MC4

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

Ajouter **600 µL de tampon MC4** dans chaque puits et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à ce que les billes soient complètement remises en suspension (**5 min**). Alternativement, remettre les billes en suspension complètement par pipetages successifs (15 fois).

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

6 Lavage avec le tampon à 80 % d'éthanol

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

Ajouter **600 µL d'éthanol à 80 %** dans chaque puits et remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à ce que les billes soient complètement remises en suspension (**5 min**). Alternativement, remettre les billes en suspension complètement par pipetages successifs (15 fois).

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

7 Lavage avec le tampon MC5 ! Laisser le Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP.

Note: *Le surnageant est incolore, le culot de billes magnétiques est clairement visible.*

Ajouter délicatement **600 µL de tampon MC5** dans chaque puits et incubé pendant **45–60 s** alors que les billes sont encore attirées par les aimants. Aspirer et jeter le surnageant.

Note: *Ne pas remettre en suspension les billes dans le tampon de lavage MC5. Cette étape permet d'éliminer les traces d'éthanol et de supprimer l'étape de séchage !*

8 Elution

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

Ajouter le volume désiré de **tampon MC6 (50 – 200 µL)** à chaque puits du Square-well Block et remettre les billes en suspension en agitant **5–10 min à 56 °C**. Alternativement, remettre les billes en suspension complètement par pipetages successifs et incubé pendant **5–10 min à 56 °C**.

Séparer les billes magnétiques en plaçant le Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP. Attendre au moins **2 min** jusqu'à ce que toutes les billes aient été attirées par les aimants. Transférer le surnageant contenant l'ADN génomique purifié sur la plaque d'éluion.

Note: *Le rendement peut être augmenté de 15 à 20 % en utilisant un tampon d'éluion préchauffé (55 °C) ou en incubant la suspension billes/tampon d'éluion à 55 °C pendant 10 min.*

5 Annexes

5.1 Guide de résolution des problèmes

Problème	Causes possibles et suggestions
	<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 lors des étapes de séparation. Les tampons résiduels diminuent l'efficacité des étapes de lavage et d'éluion. <p><i>Séchage excessif des billes</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Ne pas laisser les billes sécher, car cela pourrait entraîner une baisse de l'efficacité de l'éluion.
Faible rendement en ADN	<p><i>Éluion partielle dans le tampon de lavage MC5</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Maintenir les billes sur l'aimant pendant la distribution du tampon de lavage MC5. Ne pas remettre les billes en suspension dans ce tampon et ne pas incuber les billes dans ce tampon pendant plus de 2 min, car ce tampon est à base d'eau et pourrait conduire à une éluion prématurée de l'ADN. <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'aspiration du surageant, en particulier lorsque le culot magnétique n'est pas visible dans le lysat. <p><i>Incubation après distribution des billes dans le lysat</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Mélanger immédiatement après avoir distribué les NucleoMag® C-Beads / tampon MC2 au lysat.
Pureté insuffisante	<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, Square-well Blocks en combinaison avec NucleoMag® SEP.

Problème	Causes possibles et suggestions
Mauvaise performance de l'ADN lors des applications avales	<p><i>Contamination par l'éthanol des tampons de lavage à 80 % d'éthanol</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Veillez à éliminer toute la solution de lavage éthanolique, car l'éthanol résiduel interfère avec les applications en aval. <p><i>Pureté insuffisante</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Voir ci-dessus
Perte des billes	<p><i>Durée de séparation magnétique trop courte</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Augmenter la durée de séparation pour permettre aux billes d'être complètement attirées par les aimants avant d'aspirer tout liquide du puits. <p><i>Vitesse d'aspiration trop élevée (étape d'éluion)</i></p> <ul style="list-style-type: none"> 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><i>Contaminations des parties supérieures des puits</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Ne pas souiller les bords du Square-well Block lors du transfert du lysat végétal. Si le bord des puits est contaminé, sceller le Square-well Block avec une feuille PE auto-adhésive (voir les informations de commande) avant de mettre l'agitateur en marche.

5.2 Informations de commande

Produit	REF	Conditionnement
NucleoMag® Plant	744400.1	1 × 96 preps
	744400.4	4 × 96 preps
	744400.24	24 × 96 preps
NucleoMag® SEP	744900	1
Square-well Blocks	740481	4
	740481.24	24
Film PE auto-adhésif	740676	50 feuilles
Rack of Tubes Strips (set composé de 1 Rack, 12 barrettes de 8 tubes chacune et 12 barrettes de 8 bouchons)	740477	4 sets
	740477.24	24 sets
MN 96 Bead Plate Type D (Rack de barrettes Tubes Strips (8 × 12) pré-remplies contenant des billes d'acier de 3 mm ; pour les systèmes de broyeurs)	740853.4	4
	740853.24	24
barrettes de 8 bouchons	740638	30 barrettes
96-well Accessory Kit B pour KingFisher™ (set composé de Square-well Blocks, Deep-well tip combs, Plaques d'élution ; pour 4 × 96 NucleoMag® Plant preps utilisant la plateforme KingFisher™ Flex)	744951	1 set

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

5.3 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.

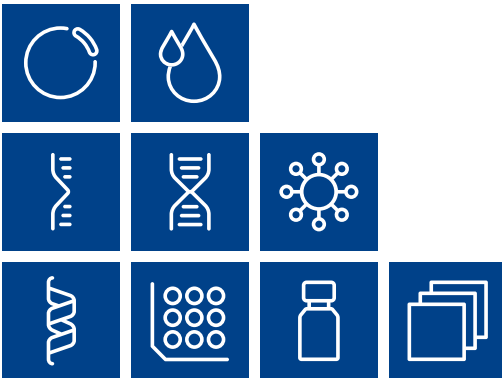
Dernière mise à jour : 08/2022, Rev. 04

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

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, Suisse.

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



Plasmid DNA

Clean up

RNA

DNA

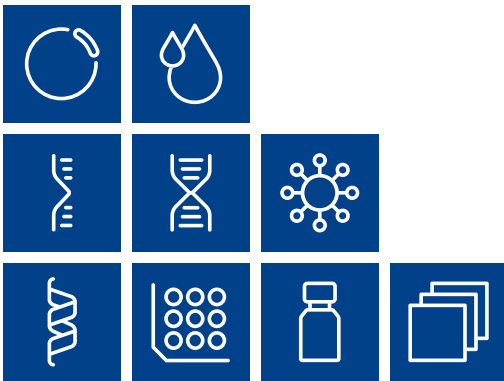
Viral RNA and DNA

Protein

High throughput

Accessories

Auxiliary tools



MACHEREY-NAGEL

www.mn-net.com

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

