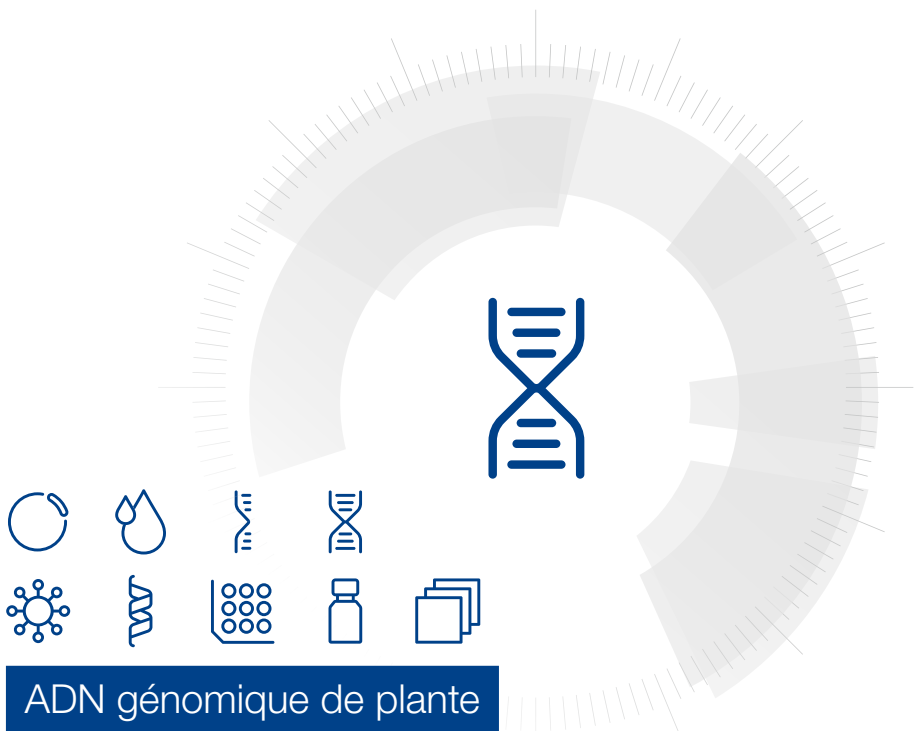


MACHEREY-NAGEL

# Manuel d'utilisation



ADN génomique de plante

■ NucleoMag® 384 Plant

Novembre 2023 / Rev. 02

## 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)

## Table of contents

1 Composants	4
1.1 Contenu du kit	4
1.2 Réactifs, consommables et équipements à fournir par l'utilisateur	5
1.3 A propos de ce manuel	5
2 Description du produit	6
2.1 Principe général	6
2.2 Caractéristiques du kit	6
2.3 Systèmes de séparation magnétique	6
2.4 Réglage des paramètres d'agitation	7
2.5 Manipulation des billes	7
2.6 Stockage et homogénéisation des échantillons	8
2.7 Procédures d'éluion	9
3 Conditions de stockage et préparation des réactifs	9
4 Instructions de sécurité	10
4.1 Elimination des déchets	10
5 Protocole pour l'extraction d'ADN génomique à partir d'échantillons de plantes en format 384 puits	11
5.1 Résumé du protocole	11
5.2 Protocole détaillé	14
6 Annexes	17
6.1 Guide de résolution des problèmes	17
6.2 Informations de commande	18
6.3 Restrictions d'utilisation /garantie	19

# 1 Composants

## 1.1 Contenu du kit

<b>NucleoMag® 384 Plant</b>		
<b>REF</b>	<b>1 × 384 preps 744402.1</b>	<b>4 × 384 preps 744402.4</b>
NucleoMag® V-Beads	2 × 1.5 mL	5 × 1.5 mL
Tampon de lyse MC1	2 × 60 mL	500 mL
Tampon de fixation MC2	50 mL	80 mL
Tampon de lavage MC3	75 mL	300 mL
Tampon de lavage MC4	75 mL	300 mL
Tampon de lavage MC5	60 mL	250 mL
Tampon d'éluion MC6	30 mL	125 mL
RNase A (lyophilisée)*	2 × 30 mg	7 × 30 mg
Manuel d'utilisation	1	1

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

### Réactifs

80 % d'éthanol

### Équipement / Consommables

Produit	REF	Conditionnement
<b>Tubes de lyse pour l'incubation des échantillons et la lyse,</b> p.e., Rack of Tubes Strips (1 set comprend 1 Rack, 12 Barrettes avec 8 tubes (puits de 1,2 mL) chacune, et 12 Cap Strips)	740477 740477.24	4 sets 24 sets
<b>Plaque de lyse pour l'incubation des échantillons et la lyse,</b> p.e., Round well block (1 set comprend 1 plaque (96 × 1,2 mL puits ronds), et 12 barrettes de 8 bouchons).	740475 740475.24	4 sets 24 sets
<b>Tubes de billes G pour le broyage mécanique des échantillons,</b> p.e. MN Bead Tubes Type G (50 tubes)	740817.50	50
<b>Plaque d'élution pour la collecte d'acides nucléiques purifiés,</b> p.e., plaque d'élution à fond en U (microplaque de 96 puits de 0,3 mL avec des puits à fond en U de 300 µL)	740486.24	24
p.e., Plaque d'élution à fond plat (microplaque de 96 puits de 0,3 mL avec des puits à fond plat de 300 µL)	740673	20

## 1.3 A propos de ce manuel

Il est fortement recommandé aux nouveaux utilisateurs de lire les paragraphes détaillés du protocole du kit **NucleoMag® 384 Plant** avant d'utiliser ce produit. Les utilisateurs expérimentés peuvent toutefois se référer au résumé du protocole. Le résumé du protocole est conçu pour être utilisé uniquement comme un outil supplémentaire de référence rapide lors de l'exécution de la procédure de purification.

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

## 2 Description du produit

### 2.1 Principe général

La procédure **NucleoMag® 384 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 MC1 contenant du CTAB. 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 surnageant, 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 **NucleoMag® 384 Plant** est conçu pour une procédure automatisée à haut débit sur des robots pipeteurs standard en format 384 puits.

### 2.2 Caractéristiques du kit

Le **NucleoMag® 384 Plant** est conçu pour une préparation automatisée de l'ADN à partir d'échantillons de plantes en format 384 puits. Le kit est conçu pour être utilisé avec des plaques séparatrices magnétiques statiques. L'ADN purifié peut être utilisé directement comme matrice pour la qPCR, le séquençage nouvelle génération ou tout type de réaction enzymatique.

**NucleoMag® 384 Plant** permet une automatisation facile sur les instruments courants de manipulation des liquides. Le temps de préparation réel dépend de la configuration de l'instrument et du système de séparation magnétique utilisé.

Réserver à l'usage de la recherche

### 2.3 Systèmes de séparation magnétique

Pour le kit **NucleoMag® 384 Plant**, il est recommandé d'utiliser une plaque de séparation magnétique statique en combinaison avec un dispositif multicanaux à 96 ou 384 puits. La séparation est effectuée dans une plaque à 384 puits (non fournie dans le kit). Le kit convient également aux séparateurs magnétiques courants pour plaques à 384 puits

Séparateur magnétique	Plaque ou tube de séparation
Séparateur magnétique VP 771G-4A (V&P Scientific, Inc.)	Plaques 384 puits (puits profonds), (Greiner BioOne)
Plaque magnétique Alpaqua 384 Post (Alpaqua Engineering, LLC)	

#### Séparation à aimants statiques

Les séparateurs à aimants statiques sont recommandés en combinaison avec un agitateur de microplaques approprié pour une remise en suspension optimale des billes pendant les étapes de lavage et d'éluion. Les billes peuvent également 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 agitateur pour la remise en suspension des billes.

## 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 des paramètres d'agitation doivent être soigneusement ajustés pour chaque plaque de séparation spécifique et chaque agitateur afin d'éviter toute contamination croisée d'un puits à l'autre. Procéder comme suit :

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

- Verser 105 µL (pour vérifier les paramètres de l'étape de liaison) ou 80 µL (pour vérifier les paramètres des étapes de lavage) d'eau colorée dans les puits de la plaque de séparation. Placer la plaque sur l'agitateur et commencer à agiter à une vitesse modérée pendant 30 secondes. Éteindre l'agitateur et vérifier la présence de petites gouttelettes d'eau colorée à la surface de la plaque.
- Augmenter la vitesse, agiter pendant 30 secondes supplémentaires et vérifier à nouveau la présence de gouttelettes à la surface de la plaque.
- Continuer à augmenter la vitesse jusqu'à ce que vous observiez des gouttelettes sur le dessus de la plaque de séparation. Réduire la vitesse, vérifier à nouveau et utiliser ce réglage pour l'étape de lavage.

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

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

## 2.5 Manipulation des billes

### Distribution des billes

Une distribution homogène des billes magnétiques dans les différents puits de la plaque de séparation est essentielle pour assurer une 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 d'effectuer une étape de prémélange avant de prélever 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 ajustées pour 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 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.

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

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

\* Multipipette 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., utiliser 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, par exemple Crush Express pour l'homogénéisation de 96 puits (contacter Saaten-Union Resistenzlabor GmbH, D-33818 Leopoldshöhe), Tissue Striker ([www.KisanBiotech.com](http://www.KisanBiotech.com)) ou Geno/Grinder 2000 ([www.spexcsp.com](http://www.spexcsp.com) ou pour l'Allemagne [www.c3-analysentechnik.de](http://www.c3-analysentechnik.de)).

### Méthodes d'homogénéisation des échantillons

Homogénéiser les échantillons dans des MN Bead Tubes Type G, un rack de barrettes de tubes ou un Round well block avec des barrettes de 8 bouchons (voir informations de commande 6.2) remplis de billes en acier.

L'homogénéisation d'échantillons plus importants peut également être réalisée à l'aide de billes d'acier VA (diamètre : 7 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, contacter Schütt Labortechnik GmbH, Postfach 3454, D-37024 Göttingen, Allemagne). Répéter cette procédure de refroidissement et de vortex jusqu'à ce que tout le matériel végétal soit broyé en poudre. Refroidir le tube une fois de plus et retirer les billes en les faisant rouler doucement ou 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.

## 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<sup>®</sup> avec le tampon d'élution pendant l'étape d'élution. Le volume de tampon d'élution distribué dépend du système de séparation magnétique (p.e., la position du culot à l'intérieur de la plaque de séparation). Pour une élution efficace, le culot de billes magnétiques doit être entièrement remis en suspension dans le tampon d'élution. Pour certains séparateurs, des volumes d'élution plus élevés peuvent être nécessaires pour couvrir la totalité du culot.

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

## 3 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 de protection !

Conditions de stockage :

- Tous les composants du kit **NucleoMag<sup>®</sup> 384 Plant** doivent être conservés à température ambiante (18 – 25 °C) et sont stables jusqu'à un an.
- Tous les tampons sont livrés prêts à l'emploi.

Avant de débiter une procédure **NucleoMag<sup>®</sup> 384 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 <sup>®</sup> 384 Plant		
REF	1 × 384 preps 744402.1	4 × 384 preps 744402.4
RNase A (lyophilized)	2 × 30 mg Ajouter 2,5 mL d'eau à chaque flacon	7 × 30 mg Ajouter 2,5 mL d'eau à chaque flacon

## 4 Instructions de sécurité

Lorsque vous travaillez avec le kit **NucleoMag® 384 Plant**, porter des vêtements de protection appropriés (p.e. blouse de laboratoire, gants jetables et lunettes de protection). Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité appropriées (les FDS sont disponibles en ligne sur [www.mn-net.com/msds](http://www.mn-net.com/msds)).



Les déchets générés par le kit **NucleoMag® 384 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 tampon de lyse fortement dénaturant et du traitement à la protéinase K, mais elle ne peut être totalement exclue. Par conséquent, les déchets liquides doivent être considérés comme infectieux et doivent être manipulés et éliminés conformément aux réglementations de sécurité locales.

### 4.1 Élimination des déchets

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

## 5 Protocole pour l'extraction d'ADN génomique à partir d'échantillons de plantes en format 384 puits

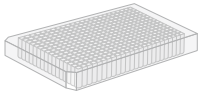
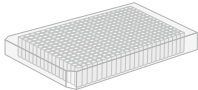
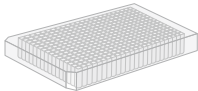
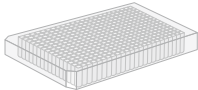
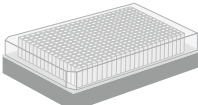
### 5.1 Résumé du protocole

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

Pour des informations détaillées sur chaque étape, voir page 14.

Avant de débiter la procédure :

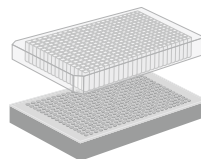
Vérifier si la RNase A a été préparée conformément au paragraphe 3.

<b>1 Homogénéiser et lyser</b> l'échantillon de plantes (~30 mg)	<b>Ajouter 200 µL de MC1            et 10 µL de RNase A.</b>  <b>Mélanger</b>  <b>56 °C, 60 min</b>	
<b>2 Clarifier les lysats</b> par centrifugation, transférer 50 µL de lysat clarifié pour la suite de la procédure.	<b>Centrifuger à 5 600 x g,            3 min</b>  <b>Transférer 50 µL de lysat clarifié</b>	
<b>3 Fixation de l'ADN</b> aux NucleoMag® V-Beads	<b>Ajouter 4 µL de NucleoMag®            V-Beads et 50 µL de MC2</b>  <i>(Note : Remettre en suspension les NucleoMag® V-Beads avant de les retirer du flacon de stockage).</i>	
	<b>Mélanger par agitation pendant 5 min à TA.</b> <i>(Optionnel : mélanger par pipetages successifs)</i>	
	<b>Retirer le surnageant après 3 min de séparation.</b>	

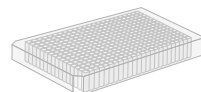
4 **Lavage** avec le tampon  
MC3

**Retirer la plaque de séparation du  
séparateur magnétique**

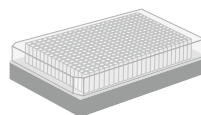
**Ajouter 80  $\mu$ L de MC3**



**Remettre en suspension : Agiter  
5 min à TA**  
*(Optionnel : mélanger par  
pipetages successifs)*



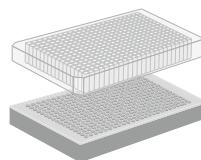
**Retirer le surnageant  
après 2 min de séparation.**



5 **Lavage** avec le tampon  
MC4

**Retirer la plaque de séparation du  
séparateur magnétique**

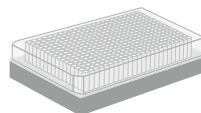
**Ajouter 80  $\mu$ L de MC4**



**Remettre en suspension : Agiter  
5 min à TA**  
*(Optionnel : mélanger par  
pipetages successifs)*



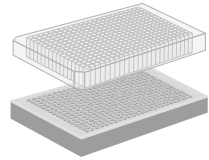
**Retirer le surnageant  
après 2 min de séparation.**



**6** **Lavage** avec le tampon à 80 % d'éthanol

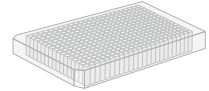
**Retirer la plaque de séparation du séparateur magnétique**

**Ajouter 80  $\mu$ L d'éthanol à 80 %.**

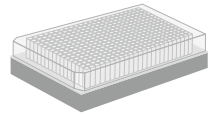


**Remettre en suspension : Agiter 5 min à TA**

*(Optionnel : mélanger par pipetages successifs)*



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



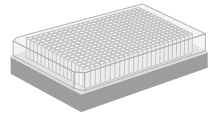
**7** **Lavage** avec le tampon MC5

**Laisser la Square-well Block sur le séparateur magnétique !**

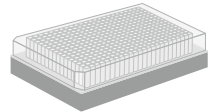
**Ajouter 80  $\mu$ L MC5**

**Incuber pendant 45–60 s**

*Note : Ne pas remettre les billes en suspension dans le tampon MC5 !*



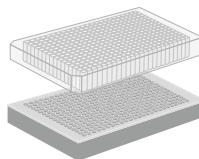
**Retirer le surnageant**



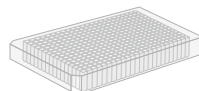
**8 Eluer l'ADN**

**Retirer la plaque de séparation du séparateur magnétique**

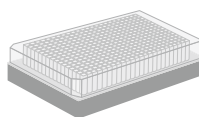
**Ajouter 60  $\mu\text{L}$  de MC6**  
*(Volume d'éluion possible de 50 à 200  $\mu\text{L}$  ; Optionnel : éluion à 55 °C)*



**Agiter 10 min à TA**  
*(Optionnel : mélanger par pipetages successifs)*



**Séparer 2 min et transférer l'ADN (surnageant) dans la plaque d'éluion / les tubes.**

**5.2 Protocole détaillé**

Ce protocole est conçu pour les séparateurs magnétiques à aimants statiques et les agitateurs de plaques appropriés (voir le chapitre 3). Il est recommandé d'utiliser une plaque de séparation 384 puits appropriée (voir le chapitre 3). L'extraction de l'ADN peut également être réalisée dans d'autres formats (voir paragraphe 6.2). 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 **30 mg (frais)** ou **< 10 mg (lyophilisé) de tissu végétal**, par exemple à l'aide de barrettes de microtubes dans un broyeur, et ajouter **200  $\mu\text{L}$  de tampon MC1**. Ne pas souiller le bord. Fermer les puits individuels avec des barrettes de 8 bouchons. Mélanger par agitation ou par pipetage pendant 15 à 30 s. Centrifuger brièvement pendant 30 s à 1 500 x g pour collecter tout échantillon des barrettes. Incuber les barrettes fermées à **56 °C** pendant **60 min**.

*Optionnel : Si les échantillons contiennent de grandes quantités d'ARN, nous recommandons d'ajouter 10  $\mu\text{L}$  de solution de RNase A (solution mère 12 mg/ml) au mélange de lyse MC1.*

## 2 Lysats clarifiés

Centrifuger les échantillons pendant **3 min** à pleine vitesse (**5 600–6 000 x g**). Retirer les barrettes de 8 bouchons.

Transférer **50 µL de lysat clarifié** (équilibré à température ambiante) sur une plaque de séparation appropriée. 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® V-Beads

Ajouter **4 µL de NucleoMag® V-Beads** et **50 µL de tampon MC2** dans chaque puits de la plaque de séparation. Mélanger par pipetages successifs 6 fois et **agiter** pendant **5 min** à température ambiante. Alternativement, lors de la procédure du kit sans agitateur, pipeter successivement 10 fois et incubé pendant 5 min à température ambiante.

*Note : Veiller à remettre en suspension les NucleoMag® V-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 la plaque de séparation sur un séparateur magnétique approprié. Attendre au moins 3 min jusqu'à ce que toutes les billes aient été attirées par les aimants. Retirer et jeter le surnageant à l'aide d'une pipette.

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

---

## 4 Lavage avec le tampon MC3

Retirer la plaque de séparation du séparateur magnétique.

Ajouter **80 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 la plaque de billes sur le séparateur magnétique. 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 la plaque de séparation du séparateur magnétique.

Ajouter **80 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 la plaque de billes sur le séparateur magnétique. Attendre au moins **2 min** jusqu'à ce que toutes les billes aient été attirées par l'aimant. Retirer et jeter le surnageant en pipettant

---

## 6 Lavage avec le tampon à 80 % d'éthanol

Retirer la plaque de séparation du séparateur magnétique.

Ajouter **80 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 la plaque de billes sur le séparateur magnétique. Attendre au moins **2 min** jusqu'à ce que toutes les billes aient été attirées par l'aimant. Retirer et jeter le surnageant en pipettant

---

## 7 Lavage avec le tampon MC5



Laisser la plaque de séparation sur le séparateur magnétique.

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

Ajouter délicatement **80 µL de tampon MC5** dans chaque puits et incubé pendant **45–60 s** tant 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 la plaque de séparation du séparateur magnétique.

Ajouter le volume souhaité de **tampon MC6 (50–200 µL)** à chaque puits de la plaque de séparation et remettre les billes en suspension par agitation pendant **5–10 min** à température ambiante. Alternativement, remettre les billes en suspension complètement par pipetages successifs et incubé pendant **5–10 min** à température ambiante.

Séparer les billes magnétiques en plaçant la plaque de billes sur le séparateur magnétique. 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.*

---

## 6 Annexes

### 6.1 Guide de résolution des problèmes

Problème	Causes possibles et suggestions
Faible rendement en ADN	<i>Volume de tampon d'éluotion insuffisant</i>
	Le culot des billes doit être entièrement recouvert de tampon d'éluotion.
	<i>Performance insuffisante du tampon d'éluotion pendant l'étape d'éluotion</i>
	Éliminer complètement les tampons résiduels lors des étapes de séparation. Les tampons résiduels diminuent l'efficacité des étapes de lavage et d'éluotion suivantes.
	<i>Séchage excessif des billes</i>
Ne pas laisser les billes sécher, car cela pourrait entraîner une baisse de l'efficacité de l'éluotion.	
Faible rendement en ADN	<i>Éluotion partielle dans le tampon de lavage MC5</i>
	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 déjà éluer l'ADN.
	<i>Aspiration d'une partie des billes présents sur l'aimant</i>
	Ne pas perturber les billes attirées lors de l'aspiration du surnageant, en particulier lorsque le culot magnétique n'est pas visible dans le lysat.
	<i>Incubation après distribution des billes dans le lysat</i>
Mélanger immédiatement après avoir distribué les NucleoMag® V-Beads / tampon MC2 au lysat.	
Pureté insuffisante	<i>Procédure de lavage insuffisante</i>
	N'utiliser que les combinaisons appropriées de séparateur et de plaque, par exemple.
Mauvaise performance de l'ADN lors des applications avalas	<i>Contamination par l'éthanol par le tampon de lavage à 80 % d'éthanol</i>
	Éliminer toute la solution de lavage éthanolique, car l'éthanol résiduel interfère avec les applications en aval.
	<i>Pureté insuffisante</i>
	Voir ci-dessus

Problème	Causes possibles et suggestions
Perte des billes	<i>Durée de séparation magnétique trop courte</i> Augmenter la durée de séparation pour permettre aux billes d'être complètement attirées par les aimants avant d'aspirer tout liquide du puits.
	<i>Vitesse d'aspiration trop élevée (étape d'élution)</i> Une vitesse d'aspiration élevée pendant l'étape d'élution peut entraîner une perte des billes. Réduire la vitesse d'aspiration pour l'étape d'élution.
Contamination croisée	<i>Contaminations des parties supérieures des puits</i> Ne pas souiller les bords de la plaque lors du transfert du lysat végétal. Si le bord des puits est contaminé, sceller la plaque avec une feuille PE auto-adhésive (voir informations de commande) avant de mettre l'agitateur en marche.

## 6.2 Informations de commande

Produit	REF	Conditionnement
NucleoMag® 384 Plant	744402.1 744402.4	1 × 384 preps 4 × 384 preps
NucleoMag® SEP A utiliser uniquement avec des plaques à 96 puits, telles que la 740481 (plaque Deep-well). Non recommandé pour l'utilisation de blocs de 384 puits.	744900	1
Square-well Blocks (Blocs 96-well avec puits carrés pour utilisation avec NucleoMag® SEP 744900)	740481 740481.24	4 24
Film PE auto-adhésif	740676	50 feuilles
Rack of Tubes Strips (le set comprend 1 Rack, 12 barrettes de 8 tubes chacune et 12 barrettes de bouchons)	740477 740477.24	4 sets 24 sets
Round well block avec barrettes de 8 bouchons (set composé de 1 plaque (96 puits ronds de 1,2 mL) et de 12 barrettes de 8 bouchons)	740475 740475.24	4 sets 24 sets
MN Bead Tubes Type G (tubes de 2 mL avec des billes d'acier pour l'homogénéisation des échantillons)	740817.50	50
Plaque d'élution à fond en U	740486.24	24

Produit	REF	Conditionnement
Plaque d'élution à fond plat	740673	20
Cap Strips (barrettes de 8 bouchons)	740638	30 barrettes

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

### 6.3 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

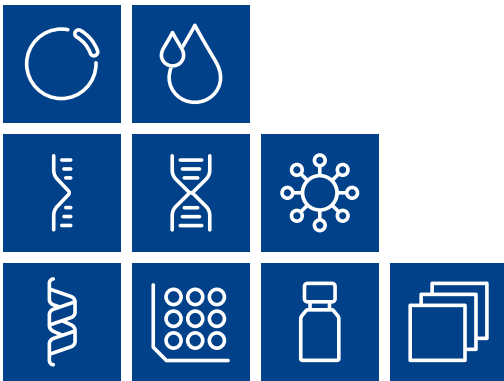
Tel.: +49 24 21 969 333

support@mn-net.com

Marques déposées :

NucleoMag® est une marque déposée de 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.



# 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)

