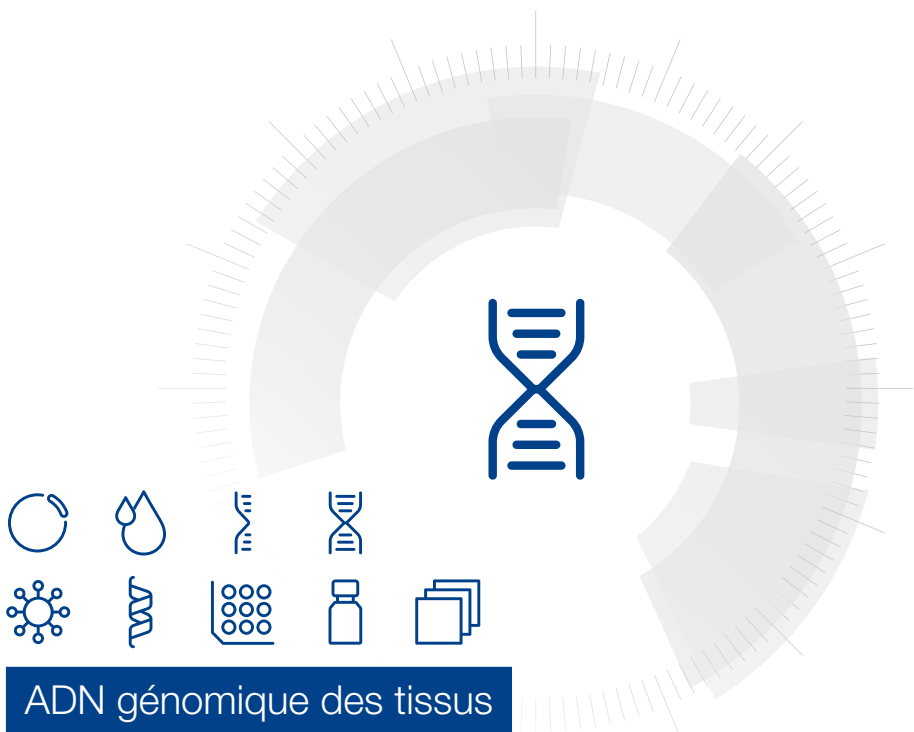


MACHEREY-NAGEL

Manuel d'utilisation



ADN génomique des tissus

■ NucleoMag® Tissue

Mai 2022 / Rev. 06

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 21 969-270
E-mail: tech-bio@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	Composition du kit	4
1.1	Composants	4
1.2	Consommables et équipement nécessaires	5
1.3	A propos de ce manuel	5
2	Description	6
2.1	Principe général	6
2.2	Caractéristiques du kit	6
2.3	Système de séparation magnétique	6
2.4	Réglage de l'agitateur	7
2.5	Manipulation des billes	8
2.6	Procédures d'élution	8
3	Conditions de stockage et préparation des réactifs	9
4	Instructions de sécurité	10
4.1	Elimination des déchets	10
5	Protocole d'extraction d'ADN génomique des tissus	11
6	Annexes	16
6.1	Guide de résolution des problèmes	16
6.2	Informations de commande	18
6.3	Restriction d'utilisation / garantie	19

1 Composition du kit

1.1 Composants

REF	NucleoMag® Tissue		
	1 x 96 preps 744300.1	4 x 96 preps 744300.4	24 x 96 preps 744300.24
Billes NucleoMag® B-Beads	2 x 1.5 mL	12 mL	70 mL
Tampon de lyse T1	50 mL	100 mL	1000 mL
Tampon de fixation MB2	45 mL	180 mL	2 x 500 mL
Tampon de lavage MB3	75 mL	300 mL	2 x 900 mL
Tampon de lavage MB4	75 mL	300 mL	2 x 900 mL
Tampon de lavage MB5	125 mL	500 mL	3 x 1000 mL
Tampon d'élution MB6	30 mL	125 mL	2 x 500 mL
Protéinase K (lyophilisée)*	75 mg	4 x 75 mg	24 x 75 mg
Tampon de protéinase PB	8 mL	15 mL	3 x 35 mL
Manuel d'utilisation	1	1	1

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

1.2 Consommables et équipement nécessaires

Produit	REF	Conditionnement
Système de séparation magnétique Ex: NucleoMag [®] SEP (voir 2.3)	744900	1
Plaque de séparation pour les étapes d'aimantation des billes , (ex: bloc 96 puits 'Square-well Block' (puits carrés de 2.1 mL)	740481 740481.24	4 24
Tubes de lyse pour l'incubation et la lyse des échantillons , ex: Rack de barrettes de tubes 'Tubes Strips' (1 set: 1 Rack, 12 barrettes de 8 tubes (1,2 mL) et 12 barrettes de bouchons).	740477 740477.24	4 sets 24 sets
Plaque d'élution pour la collecte des acides nucléiques purifiés , ex : Plaque d'élution 'U-bottom' (96 puits de 0,3 mL ; fond en 'U') ex., Plaque d'élution 'Flat-bottom' (96 puits de 0,370 mL; fond plat)	740486.24	24
Kit d'accessoires A 96 puits pour KingFisher Blocs à puits carrés (Square-well Blocks), Tip combs pour Deep-well, plaques d'élution 4 x 96 preps NucleoMag [®] Tissue pour utilisation avec la plateforme KingFisher [®] Flex.	744950	1 set

1.3 A propos de ce manuel

Il est recommandé de lire attentivement les instructions de ce manuel d'utilisation avant de l'utiliser. Toute la documentation technique est disponible sur notre site Internet à l'adresse www.mn-net.com.

Veuillez contacter le service technique pour toute information concernant les mises à jour apportées au manuel d'utilisation.

2 Description

2.1 Principe général

La procédure **NucleoMag® Tissue** est basée sur l'adsorption réversible des acides nucléiques aux billes paramagnétiques, en présence des tampons appropriés. Les échantillons de tissus, cellules ou bactéries sont lysés avec une solution de SDS/Protéinase K (tampon T1). Pour créer les conditions de fixation des acides nucléiques aux billes, le tampon de fixation MB2 et les billes NucleoMag® B-Beads sont ajoutés au lysat. Après séparation magnétique, les billes sont lavées deux fois pour éliminer les contaminants et les sels avec les tampons de lavage MB3 et MB4. Le séchage n'est pas nécessaire pour éliminer l'éthanol: celui-ci peut être éliminé lors d'une courte incubation dans le tampon MB5. L'ADN purifié est enfin élué dans une solution faiblement saline (Tampon MB6) et directement utilisé pour les applications avalées. Le kit est utilisable manuellement ou automatisable sur la plupart des robots pipeteurs ou la plupart des séparateurs magnétiques automatisés.

2.2 Caractéristiques du kit

NucleoMag® Tissue est conçu pour la préparation rapide, manuelle ou automatisée, d'ADN génomique hautement purifié à partir d'échantillons de tissus, cellules ou bactéries en utilisant le séparateur magnétique NucleoMag® SEP (voir 'informations de commande') ou un autre système (voir chapitre 2.3). La durée de la procédure manuelle pour 96 échantillons est d'environ 120 minutes. L'ADN purifié peut être utilisé directement pour les PCR, les applications de blotting ou tout autre type de réactions enzymatiques.

NucleoMag® Tissue est aisément automatisable sur les robots pipeteurs courants. La durée de la procédure dépend alors de la configuration de l'instrument et du système de séparation magnétique utilisé. Généralement, 96 échantillons peuvent être extraits en moins de 120 minutes en utilisant le séparateur NucleoMag® SEP.

Le kit fournit les réactifs pour la purification de 20 µg d'ADN purifié à partir d'échantillons de tissus (20 mg max.), cellules (jusqu'à 1×10^6), ou bactéries issues de 1 mL de culture réalisée sur la nuit. Le ratio A_{260}/A_{280} obtenu est $\geq 1.6 - 1.9$ et la concentration finale de l'ADN généralement de 20–50 ng/µL. En fonction du volume d'élué utilisé, une concentration finale de 10–150 ng/µL peut être obtenue.

Après la lyse des échantillons avec la protéinase K, la procédure est réalisée à température ambiante. Cependant, effectuer l'élué à 55 °C permet d'accroître le rendement de 15–20 %.

Les billes NucleoMag® B Beads sont des billes superparamagnétiques hautement réactives. La capacité de fixation est d'environ 0,4 µg d'ADNg pour 1 µL de suspension NucleoMag® B-Bead, 1 µL de suspension contient 130 µg de billes.

2.3 Système de séparation magnétique

Pour utiliser le kit **NucleoMag® Tissue**, nous recommandons le séparateur magnétique NucleoMag® SEP. Les séparations s'effectuent dans un bloc 96 puits carrés (voir 'Informations de commande'). Le kit est également compatible avec d'autres séparateurs.

Séparateur magnétique	Plaque ou tube de séparation
NucleoMag® SEP (MN REF 744900)	Bloc 'Square-well Block' (MN REF 740481/24)
Tecan Te-MagS™	Tubes 1.5 mL sans bouchon (Sarstedt)

Séparateurs à aimants fixes

Les séparateurs à aimants fixes, comme le NucleoMag® SEP (utilisable manuellement ou sur automates pipeteurs), sont recommandés en association avec un agitateur pour plaques, permettant une resuspension optimale des billes pendant les étapes de lavages et d'élution. Alternativement, les billes peuvent être resuspendues dans les tampons par plusieurs cycles de pipetage. Pour automatiser totalement la procédure sur un robot pipeteur, un bras manipulateur est nécessaire, afin de transférer la plaque du séparateur magnétique vers l'agitateur pour la resuspension des billes.

Système à aimants mobiles

Ces séparateurs disposent d'aimants se déplaçant d'un côté à l'autre des puits, entraînant les billes à travers les tampons. La séparation magnétique a lieu lors de l'arrêt du système.

Séparateurs automatisés

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

2.4 Réglage de l'agitateur

Lors de l'utilisation d'un agitateur à plaques pour les étapes de lavages et d'élution, la vitesse d'agitation doivent être ajustés précautionneusement afin de garantir la bonne resuspension des billes en évitant tout risque de contaminations croisées.

Réglage de l'agitation pour les étapes de fixation et de lavages:

- Déposer 1000 µL d'eau colorée (étape de fixation) ou 600 µL (pour les étapes de lavage) dans les puits de la plaque de séparation. Placer la plaque sur l'agitateur et lancer l'agitation à vitesse modérée pendant 30 secondes. Stopper et vérifier l'absence de projections.
- Augmenter la vitesse d'agitation pour une durée de 30 secondes supplémentaire et vérifier l'absence de projections.
- Continuer à augmenter la vitesse d'agitation jusqu'à observer des projections au-dessus de la plaque de séparation. Réduire ensuite progressivement la vitesse, vérifier l'absence de projections et utiliser ce réglage pour les étapes de lavages.

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

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

2.5 Manipulation des billes

Distribution des billes

Une distribution homogène des billes dans les puits de la plaque de séparation est essentielle pour une bonne reproductibilité. Avant de distribuer les billes, veiller à bien les resuspendre. Agiter le flacon ou placer le sur un vortex brièvement. Un mélange préliminaire des billes magnétiques avec le tampon de fixation MB2 permet une distribution plus homogène des billes dans les différents puits de la plaque de séparation. Lors de l'automatisation, une étape de mélange des billes et du tampon de fixation dans les réservoirs avant leur distribution dans les plaques de séparation est recommandée afin de s'assurer que les billes demeurent bien en suspension.

Durée de séparation magnétique

L'attraction des billes magnétiques par les aimants dépend de la force de l'aimant, du type de plaque de séparation utilisé, de la distance entre les parois des puits et les aimants ainsi que du volume présent dans les puits. Les temps de magnétisation des billes doivent être ajustés en fonction de chaque système. Il est recommandé d'utiliser des plaques ou tubes de séparation validés pour le type de séparateur magnétique utilisé.

Lavage des billes

Le lavage des billes est effectué par agitation ou pipetage. Contrairement au pipetage, l'agitation permet la resuspension des billes dans tous les puits simultanément. Ceci permet de réduire le temps de la procédure et le nombre de cônes nécessaires. Cependant, la resuspension par pipetage est plus efficace que l'agitation de la plaque ou l'agitation magnétique

Méthode	Efficacité de resuspension	Rapidité	Nombre de cônes
Magnétique	+	++	Faible
Agitateur	++	++	Faible
Pipetage	+++	+	Elevé

+: acceptable, ++: bon, +++: excellent, * Pipette 8-canaux

2.6 Procédures d'élution

L'ADN purifié peut être directement élué dans le tampon MB6 fourni. L'élution est réalisable dans un volume $\geq 50 \mu\text{L}$. Il est nécessaire de couvrir complètement les billes NucleoMag® Beads avec le tampon d'élution. Le volume de tampon d'élution nécessaire dépend du système de séparation magnétique utilisé (ex : position du culot de billes dans les puits). Pour une élution optimale, les culots de billes doivent être resuspendus totalement dans le tampon d'élution. Avec certains séparateurs, des volumes d'élution supérieurs peuvent être nécessaires afin de recouvrir totalement les culots de billes magnétiques.

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

3 Conditions de stockage et préparation des réactifs

Attention: les tampons MB2, MB3, et MB4 contiennent des sels chaotropiques ! Porter des gants et des lunettes de protection !

Conditions de stockage :

- Tous les composants du kit **NucleoMag® Tissue** doivent être stockés à température ambiante (15–25 °C) et sont stables jusqu'à : voir l'étiquette sur le kit.

Tous les tampons sont fournis prêts à l'emploi.

- Avant de débuter la procédure **NucleoMag® Tissue**, préparer:
- Protéinase K:** Ajouter le volume indiqué sur le flacon de tampon de protéinase PB pour dissoudre l'enzyme lyophilisée. La solution de protéinase K est stable à -20°C pendant au moins 6 mois.

NucleoMag® Tissue			
REF	1 x 96 preps 744300.1	4 x 96 preps 744300.4	24 x 96 preps 744300.24
Protéinase K (lyophilisée)	75 mg Ajouter 2.6 mL de tampon PB	4 x 75 mg Ajouter 2.6 mL de tampon PB à chaque flacon	24 x 75 mg Ajouter 2.6 mL de tampon PB à chaque flacon

4 Instructions de sécurité

Lorsque vous travaillez avec le kit **NucleoMag® Tissue**, 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 (les FDS sont disponibles en ligne sur www.mn-net.com/msds).



Attention : Le perchlorate de sodium dans les tampons MB2, MB3 et MB4 peuvent former des composés hautement réactifs lorsqu'ils sont combinés avec de l'eau de Javel ! Par conséquent, n'ajoutez pas d'eau de Javel ou de solutions acides directement dans les déchets liquides issus de la procédure.

Les déchets générés par le kit **NucleoMag® Tissue** n'ont pas été testés pour 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 Elimination des déchets

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

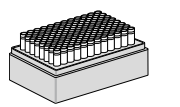

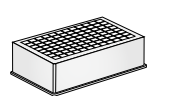
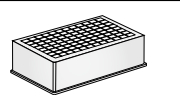

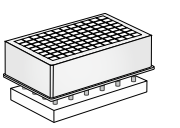
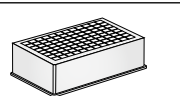

5 Protocole d'extraction d'ADN génomique des tissus

Résumé du protocole

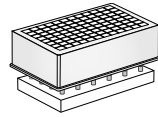
- A propos des équipements et matériel nécessaires, voir les chapitres 1.2 et 2.3.
- Pour des informations détaillées à propos de chaque étape, voir page 13

Avant de débiter la procédure :

- Vérifier la préparation de la protéinase K selon les recommandations du chapitre 3

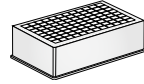
1 Lyse des échantillons (≤ 20 mg tissus, ≤ 1 x 10 ⁶ cellules ou culot bactérien issu de 1 mL de culture ON)	25 µL Protéinase K 200 µL T1 Mélanger 56 °C, 1 – 3 h ou toute la nuit	
2 Clarifier les lysats par centrifugation, transférer 225 µL de lysât clarifié dans un bloc 96 puits carrés	5,600 x g, 5 min 225 µL de lysât clarifié	 
3 Fixation de l'ADN aux NucleoMag® B-Beads	24 µL NucleoMag® B-Beads 360 µL MB2	
	Agiter 5 min à TA (Option: Mélanger par pipetage)	
	Jeter le surnageant après 2 min de séparation	
4 Laver avec MB3	Enlever le bloc du NucleoMag® SEP 600 µL MB3	
	Resuspension : agiter 5 min à TA (Option : Mélanger par pipetage)	

Jeter le surnageant après
2 min de séparation



5 Laver avec MB4

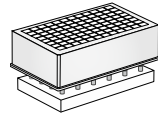
Enlever le bloc du NucleoMag®
SEP
600 µL MB4



Resuspension : agiter 5 min à TA
(Option : Mélanger par pipetage)



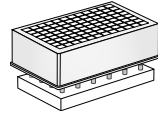
Jeter le surnageant après
2 min de séparation



6 Laver avec MB5

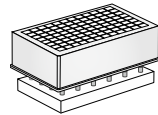
!

Laisser le bloc
sur le NucleoMag® SEP
900 µL MB5
Incuber 45–60 s



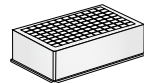
*Note: ne pas resuspendre les billes
dans le tampon MB5 !*

Jeter le surnageant



7 Eluer l'ADN

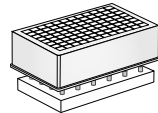
Enlever le bloc du
NucleoMag® SEP
50-200 µL MB6
(Option: Eluer à 55 °C)



Agiter 5 min à TA
(Option : Mélanger par pipetage)



**Séparer les billes 2 min et
transférer les éluats dans une
plaques / des tubes de collecte**



Protocole détaillé

Ce protocole décrit la procédure utilisant un séparateur à aimants fixes (ex: NucleoMag® SEP) et un agitateur à plaques approprié (voir chapitre 2.3). L'utilisation des blocs 96 puits carrés 'Square-well Block' est recommandée (voir chapitre 1.2). Alternativement, l'extraction peut être effectuée dans des tubes avec un séparateur magnétique compatible. Ce protocole détaille la procédure manuelle et peut servir de guide pour l'automatisation du kit.

Avant de débiter la procédure :

- Vérifier la préparation de la protéinase K selon les recommandations du chapitre 3.
-

1 Lyse des échantillons

Calculer la quantité de tampon de lyse nécessaire: pour chaque échantillon **25 µL de solution de Protéinase K et 200 µL de tampon T1** sont nécessaires. Préparer le volume de mélange adéquat et vortexer.

Ne jamais préparer la solution de lyse plus de 15 minutes avant de l'ajouter aux échantillons (incubée dans le tampon T1, la Protéinase K s'auto-digère en absence de substrat).

Transférer 225 µL de la solution de lyse dans chaque tube contenant jusqu'à 20 mg de tissus (ex: fragment de queue de souris), jusqu'à 1×10^6 cellules de culture ou encore un culot bactérien issu de 1 mL de culture réalisée sur la nuit. Fermer les tubes. Mélanger vigoureusement au vortex pendant 10 – 15 s. Centrifuger brièvement (15 s; 1,500 x g) pour collecter la totalité de l'échantillon au fond des tubes.

L'échantillon doit être submergé dans la solution de lyse.

Incuber les tubes contenant l'échantillon à 56°C jusqu'à ce que la lyse soit totale (au moins 1 – 3 h ou durant la nuit). Pour les cellules de culture, l'incubation peut être effectuée à 70 °C pendant 10 – 15 min. Pour optimiser la lyse, mélanger de temps en temps pendant l'incubation. Veiller à ce que les tubes de lyse demeurent bien clos.

Si l'ADN obtenu est souhaité exempt de toutes traces d'ARN, en fonction des applications avalées, un traitement à la RNase peut être effectué: 20 µL de solution de RNase A (20 mg/mL, non fournie, voir 'Informations de commandes' et incuber pendant 5 minutes supplémentaires à TA.

2 Clarification des lysats

Centrifuger les échantillons pendant **5 min** à vitesse élevée (**5,600 – 6,000 x g**). Enlever les barrettes de bouchons.

Transférer **225 µL de lysat clarifié** (équilibré à TA) dans un bloc 96 puits carrés 'Square-well Block'. Ne pas contaminer les parois des puits en transférant les liquides.

Note: voir le chapitre 1.2 pour les recommandations à propos de la compatibilité entre les tubes /plaques de séparation et les séparateurs magnétiques.

3 Fixation de l'ADN aux billes NucleoMag® B-Beads

Ajouter **24 µL de billes NucleoMag® B-Beads** et **360 µL de tampon MB2** dans chaque puits du bloc. Mélanger par pipetage (6 fois) et **agiter** pendant **5 min** à **température ambiante**. Alternativement, lors de l'utilisation du kit sans agitateur, mélanger 10 fois par pipetage et incuber pendant 5 min à température ambiante.

Note: les billes NucleoMag® B-Beads et le tampon MB2 peuvent être mélangés avant distribution dans les puits. Préparer le mélange juste avant utilisation, le stockage des billes dans le tampon est déconseillé. Mélanger 24 µL de billes NucleoMag® B-Beads et 360 µL de tampon MB2 pour chaque échantillon. Prévoir un excédent en fonction du volume mort des réservoirs utilisés. Utiliser 384 µL de suspension par puits. Veiller à bien resuspendre les billes NucleoMag® B-Beads avant de les prélever dans le flacon. Vortexer le flacon brièvement afin d'obtenir une suspension homogène.

Séparer les billes contre les parois des puits en plaçant le bloc sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP. Attendre au moins 2 min jusqu'à ce que toutes les billes soient attirées par les aimants. Retirer et jeter les surnageants.

Note: ne pas perturber les culots de billes aimantés pendant l'aspiration des surnageants. Les culots de billes sont peu visibles à cette étape. Pipeter les surnageants du côté opposé des puits.

4 Lavage avec MB3

Enlever le bloc du séparateur magnétique NucleoMag® SEP.

Déposer **600 µL de tampon MB3** dans chaque puits et resuspendre les billes en agitant (**5 min**). Alternativement, resuspendre les billes par pipetages répétés (15 fois).

Séparer les billes magnétiques en plaçant le bloc sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP. Attendre au moins **2 min** jusqu'à ce que toutes les billes soient attirées par les aimants. Retirer et jeter les surnageants.

5 Lavage avec MB4

Enlever le bloc du séparateur magnétique NucleoMag® SEP.

Déposer **600 µL de tampon MB4** dans chaque puits et resuspendre les billes en agitant (5 min). Alternativement, resuspendre les billes par pipetages répétés (15 fois).

Séparer les billes magnétiques en plaçant le bloc sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP. Attendre au moins 2 min jusqu'à ce que toutes les billes soient attirées par les aimants. Retirer et jeter les surnageants.

6 Lavage avec MB5

Laisser le bloc sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP.



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



Déposer doucement **900 µL de tampon MB5** dans chacun des puits et incubé pendant **45–60 s** tandis que les billes restent fixer sur les aimants. Retirer et jeter les surnageants.

Note: ne pas resuspendre les billes dans le tampon MB5. Cette étape permet d'éliminer les traces d'éthanol en évitant l'étape de séchage à l'air.

7 Elution

Enlever le bloc du séparateur magnétique NucleoMag® SEP.

Déposer le volume adéquat de **tampon MB6 (50–200 µL)** dans chaque puits du bloc 96 puits carrés et resuspendre les billes en agitant pendant **5–10 min à 56 °C** si possible. Alternativement, resuspendre les billes par pipetages répétés pendant **5–10 min à 56 °C**.

Séparer les billes magnétiques en plaçant le bloc 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 les surnageants contenant l'ADN purifié dans la plaque/les tubes de collecte.

Note: le rendement peut être accru de 15–20 % en utilisant le tampon d'élution préchauffé (55 °C) ou en incubant les billes dans le tampon d'élution à 55 °C pendant 10 min.

6 Annexes

6.1 Guide de résolution des problèmes

Problème	Cause possible et suggestions
Faible rendement en ADN	<i>Volume de tampon d'élution insuffisant</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Les billes doivent être totalement recouvertes par le tampon d'élution.
	<i>Performance insuffisante du tampon d'élution</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Les tampons doivent être éliminés totalement après chaque séparation magnétique. Les tampons résiduels diminuent l'efficacité des lavages et de l'élution.
	<i>Séchage excessif des billes</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Ne pas laisser les billes sécher excessivement, ceci induirait une diminution de l'efficacité d'élution.
	<i>Elution partielle et perte de l'ADN dans le tampon de lavage MB5</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Maintenir le bloc sur le séparateur magnétique lors de la distribution du tampon de lavage MB5. Ne pas resuspendre les billes dans le tampon et ne pas incuber les billes dans le tampon pendant plus de 2 min. Le tampon MB5 étant aqueux, il pourrait conduire à l'élution prématurée de l'ADN.
	<i>Aspiration d'une partie des billes présents sur l'aimant</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Ne pas perturber les culots de billes en aspirant les surnageants, en particulier après la première séparation, les culots étant difficilement visibles dans les lysats. Aspirer doucement en suivant les parois du côté opposé.
	<i>Incubation après distribution des billes dans les lysats</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Mélanger immédiatement après distribution des billes NucleoMag® B-Beads / et du tampon MB2 aux lysats.
Pureté insuffisante	<i>Procédure de lavage insuffisante</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Utiliser des plaques prévues pour le séparateur magnétique, par exemple les blocs 'Square-well Block' et le NucleoMag® SEP. Resuspendre totalement les billes pendant les lavages. Pipeter plusieurs fois si l'agitation est insuffisante.
Mauvaise performance de l'ADN lors des applications avalées	<i>Contamination par de l'éthanol des tampons de lavage</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Veiller à éliminer l'éthanol provenant des étapes de lavage, l'éthanol résiduel impactant négativement les applications avalées.
	<i>Faible pureté</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Voir ci-dessus

Problème	Cause possible et suggestions
Perte de billes	<i>Temps de séparation magnétique trop court</i>
	<ul style="list-style-type: none">Augmenter la durée de la séparation magnétique pour permettre aux billes d'être attirées par les aimants avant d'aspirer les liquides.
	<i>Vitesse d'aspiration trop élevée (étape d'élution)</i>
	<ul style="list-style-type: none">Une vitesse d'aspiration trop élevée au cours de l'étape d'élution peut entraîner l'aspiration de billes. Réduire la vitesse d'aspiration.
Contamination croisées	<i>Contamination des parois des puits</i>
	<ul style="list-style-type: none">Ne pas contaminer la partie supérieure des blocs lors du transfert des lysats. Si les parois sont souillées, sceller le bloc avec un film adhésif en PE (voir 'Informations de commandes') avant de lancer l'agitation.

6.2 Informations de commande

Produit	REF	Conditionnement
NucleoMag® Tissue	744300.1	1 x 96 preps
	744300.4	4 x 96 preps
	744300.24	24 x 96 preps
Tampon T1	740940.25	50 mL
	740940.100	100 mL
	740940.1000	1000 mL
RNase A	740505.50	50 mg
NucleoMag® SEP	744900	1
Blocs 96 puits 'Square-well Blocks'	740481	4
	740481.24	24
Films adhésifs en PE	740676	50 feuilles
Rack de barrettes de tubes 'Tube Strips' (set comprenant : 1 support, 12 barrettes de 8 tubes (1,2mL) et 12 barrettes de bouchons)	740477	4 sets
	740477.24	24 sets
Plaque d'élution fond en 'U'	740486.24	24
Plaque d'élution fond plat	740673	20
Kit d'accessoires A 96 puits pour KingFisher Blocs à puits carrés (Square-well Blocks), Tip combs pour Deep-well, plaques d'élution 4 x 96 preps NucleoMag® Tissue pour utilisation avec la plateforme KingFisher® Flex.	744950	1 set

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

6.3 Restriction d'utilisation /garantie

Les composantes du kit **NucleoMag® Tissue** ont été développés, conçus et vendus **UNIQUEMENT À DES FINS DE RECHERCHE**, à l'exception, toutefois, de toute autre fonction du produit qui est expressément décrite dans les notices originales des produits MACHEREY-NAGEL.

Les produits MACHEREY-NAGEL sont destinés à une utilisation GÉNÉRALE en LABORATOIRE UNIQUEMENT ! Les produits MACHEREY-NAGEL sont EXCLUSIVEMENT destinés à un PERSONNEL QUALIFIÉ ! Lorsqu'ils manipulent des produits MACHEREY-NAGEL, les utilisateurs doivent toujours porter des VÊTEMENTS DE PROTECTION adéquats. Pour des informations détaillées, veuillez-vous référer à la fiche de données de sécurité du produit ! Les produits MACHEREY-NAGEL doivent être utilisés exclusivement dans un ENVIRONNEMENT DE TEST ADÉQUAT. MACHEREY-NAGEL décline toute responsabilité pour les dommages dus à une utilisation incorrecte de ses produits dans tous autres domaines d'application. L'application sur le corps humain est STRICTEMENT INTERDITE. L'utilisateur est responsable de tous les dommages résultant d'une telle application.

Les produits de purification d'ADN/ARN/PROTÉINES de MACHEREY-NAGEL conviennent **UNIQUEMENT** aux UTILISATIONS IN VITRO !

SEULS les produits MACHEREY-NAGEL portant la mention « IVD » peuvent également être utilisés pour le diagnostic IN VITRO. Veuillez prêter attention à l'emballage du produit. La mention « IVD » doit figurer expressément sur l'emballage des produits de diagnostic IN-VITRO.

S'IL N'Y A PAS LA MENTION « IVD », LE PRODUIT NE PEUT PAS ÊTRE UTILISÉ POUR LE DIAGNOSTIC IN-VITRO !

TOUS LES AUTRES PRODUITS NE PORTANT PAS LA MENTION « IVD » NE SONT PAS ADAPTÉS À UN USAGE CLINIQUE (Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, À UN USAGE DIAGNOSTIQUE, THÉRAPEUTIQUE ET/OU PRONOSTIQUE).

Aucune revendication ni déclaration n'est prévue concernant son utilisation pour identifier un organisme spécifique ou pour un usage clinique (y compris, mais sans s'y limiter, à des fins diagnostiques, pronostiques, thérapeutiques ou dans les banques du sang). Il incombe plutôt à l'utilisateur ou – dans tous les cas de revente des produits – au revendeur de contrôler et de veiller à ce que les produits de purification d'ADN/ARN/protéines de MACHEREY-NAGEL soient utilisés pour une application bien définie et spécifique.

MACHEREY-NAGEL est responsable uniquement des spécifications et des performances des produits MN conformément aux spécifications de contrôle qualité interne, de la documentation du produit et du matériel de marketing.

Ce produit MACHEREY-NAGEL est livré avec une documentation précisant les spécifications et d'autres informations techniques. MACHEREY-NAGEL garantit la conformité du produit aux spécifications déclarées. La seule obligation de MACHEREY-NAGEL et le seul recours du client se limitent au remplacement gratuit des produits qui n'offriraient pas les performances garanties. Il est également fait référence aux conditions générales de vente MACHEREY-NAGEL, qui sont imprimées sur la liste tarifaire et dont un exemplaire sera remis sur simple demande.

MACHEREY-NAGEL ne saurait être tenu responsable : des dommages ou défauts se produisant pendant le transport et la manipulation (hors assurance expédition du client), ou par suite d'un accident ou d'une utilisation impropre ou anormale du présent produit ;

des défauts des produits ou des composants non fabriqués par MACHEREY-NAGEL ; ni des dommages résultant de tels produits et composants de fabricants autres que MACHEREY-NAGEL ; pour lesquels il n'existe aucune garantie.

MACHEREY-NAGEL n'accorde aucune autre garantie d'aucune sorte, et DÉCLINE ET EXCLUT SPÉCIFIQUEMENT TOUTE AUTRE GARANTIE DE TOUTE SORTE OU NATURE QUE CE SOIT, DIRECTEMENT OU INDIRECTEMENT, EXPRESSE OU IMPLICITE, Y COMPRIS, SANS S'Y LIMITER, RELATIVE AU CARACTÈRE APPROPRIÉ, À LA REPRODUCTIBILITÉ, LA DURABILITÉ, L'ADAPTATION À UN BUT OU UN USAGE PARTICULIER, LA QUALITÉ MARCHANDE, L'ÉTAT OU TOUT AUTRE SUJET EN CE QUI CONCERNE LES PRODUITS MACHEREY-NAGEL.

MACHEREY-NAGEL ne saurait en aucun cas être tenue pour responsable en cas de réclamations pour tout autre dommage, qu'il soit direct, indirect, fortuit, compensatoire, prévisible, consécutif ou particulier (y compris, mais sans s'y limiter, la perte d'utilisation, de revenus ou de profits), que ce soit sur la base d'une garantie, d'un contrat, d'un délit civil (y compris la négligence) ou d'une responsabilité stricte découlant de la vente ou du défaut d'exécution d'un produit MACHEREY-NAGEL conformément aux spécifications énoncées. La garantie est exclusive et MACHEREY-NAGEL ne donne aucune autre garantie expresse ou implicite.

La garantie fournie dans le présent document et les données, spécifications et descriptions de ce produit MACHEREY-NAGEL figurant dans les catalogues publiés et la documentation sur le produit de MACHEREY-NAGEL sont les seules représentations de MACHEREY-NAGEL concernant le produit et la garantie. Aucune autre déclaration ou représentation, écrite ou orale, par des employés, agents ou représentants de MACHEREY-NAGEL, à l'exception des déclarations écrites signées par un agent dûment agréé par MACHEREY-NAGEL, n'est autorisée ; le client ne doit pas se fier à de telles déclarations ou représentations, lesquelles ne font pas partie du contrat de vente ou de la présente garantie.

Les allégations relatives au produit sont susceptibles d'être modifiées. Nous vous invitons par conséquent à contacter notre service d'assistance technique pour obtenir les informations les plus récentes sur les produits MACHEREY-NAGEL. Vous pouvez également contacter votre revendeur habituel, pour obtenir des informations scientifiques à caractère général. Les applications mentionnées dans la documentation fournie par MACHEREY-NAGEL le sont uniquement à titre informatif. MACHEREY-NAGEL ne garantit pas que toutes les applications ont été testées dans les laboratoires de MACHEREY-NAGEL, avec les produits MACHEREY-NAGEL. MACHEREY-NAGEL ne garantit en aucun cas le caractère correct de ces applications.

Dernière mise à jour : 07/2010, Rév. 03

Veuillez contacter :
MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Tel.: +49 24 21 969-270
tech-bio@mn-net.com

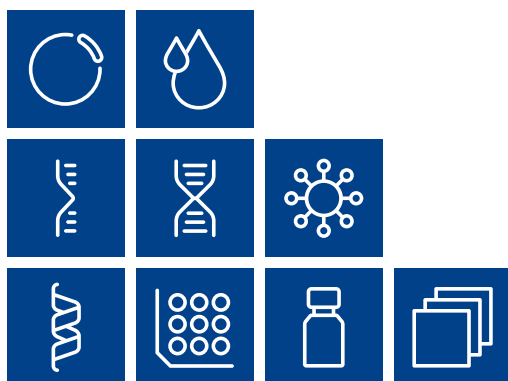
Marques déposées:

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.



www.mn-net.com

MACHEREY-NAGEL



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

DE Tel.: +49 24 21 969-0
CH Tel.: +41 62 388 55 00
FR Tel.: +33 388 68 22 68
US Tel.: +1 888 321 62 24

info@mn-net.com
sales-ch@mn-net.com
sales-fr@mn-net.com
sales-us@mn-net.com



Axxxxx