	<b>Extraction d'ADN sur MagnetaPure 96 à partir de sang</b>	Version 2.0
GDB_MOP_33	SMQ	04/06/2024
Rédaction : M. BARBET	Vérification : L. LIETAR	Approbation : L. LIETAR


**Ce protocole s'adresse aux personnes habilitées à l'extraction d'ADN.**

Cette étape fait suite à la préparation des matrices pour extraction d'ADN à partir de prélèvements de sang.

## Mode opératoire

Dans la salle "Extraction ADN" :


- 1) Préparations préalables :
  - a) Protéinase K (PK) : les tubes contiennent la PK lyophilisée et sont stockés à  $T_{amb}$ . Afin de la reconstituer, il faut ajouter 2,50 mL de buffer PB (protéinase buffer), mélanger (vortex quelques secondes) et laisser resuspendre quelques minutes. Noter la date de resuspension. La PK est ensuite stockée à  $-20^{\circ}\text{C}$ .
  - b) MBL1 : vérifier la non cristallisation du réactif, si des paillettes sont visibles, le réchauffer rapidement à  $40^{\circ}\text{C}$
  - c) Sortir la plaque BLOOD\_AAMMJJ-NN contenant les échantillons de sang, stockée à  $4^{\circ}\text{C}$  en salle "Traitement des prélèvements" et la mettre à température ambiante ( $T_{amb}$ ) en salle "Extraction ADN" 20 minutes avant l'extraction, l'annoter **#2** sur le côté gauche (= plaque BIND **#2**)
- 2) Réaliser la lyse des échantillons (en dehors du MagnetaPure 96) :
  - a) Préparer un mélange PK + MBL1 **(Extemporément)** : PK **1 mL** + MBL1 **3 mL** dans un mini réservoir, et dispenser immédiatement le mélange dans la plaque contenant le sang à raison de **40  $\mu\text{L}$**  par puits
  - b) Faire un spin de la plaque
  - c) Mettre la plaque sous agitation (800 rpm) à  $T_{amb}$  pendant 15 min
- 3) Préparer les plaques suivantes :
  - a) Annoter **4** plaques deepwell sur le côté gauche : **#3** = MBL3.1, **#4** = MBL3.2, **#5** = EtOH, **#6** = MBL4
  - b) Attribuer une référence de plaque SAM de la forme SAMAAMMNNN (où AAMM correspond à l'année et au mois en cours, et NNN au numéro de plaque créée dans ce mois) pour chaque plaque BLOOD\_AAMMJJ-NN, dans l'ordre de traitement des plaques, à reporter sur le fichier extraction
  - c) Annoter **1** plaque d'élution SAMAAMMNNN sur le devant ainsi que sur le côté gauche (= plaque **#8**)
  - d) Préparer de l'éthanol 80% **frais** : 8,4 mL d'eau ultrapure + 33,6 mL d'éthanol absolu dans un tube de 50 mL

	<b>Extraction d'ADN sur MagnetaPure 96 à partir de sang</b>	Version 2.0
GDB_MOP_33	SMQ	04/06/2024
Rédaction : M. BARBET	Vérification : L. LIETAR	Approbation : L. LIETAR

- 4) Préparer les plaques de réactifs suivantes :
  - a) Plaque **#3** MBL3.1 : dispenser 400 µL de tampon MBL3
  - b) Plaque **#4** MBL3.2 : dispenser 400 µL de tampon MBL3
  - c) Plaque **#5** EtOH : dispenser 400 µL d'éthanol 80% **(pas plus d'une heure à l'avance)**
  - d) Plaque **#6** MBL4 : dispenser 400 µL de tampon MBL4
  - e) Plaque **#8** SAMAAMMNNN : dispenser 60 µL de tampon MBL5
- 5) Préparer le mélange de Binding :
  - a) Mélanger 800 µL de B-beads + 1600 µL d'eau ultrapure dans un mini réservoir et dispenser immédiatement le mélange à raison de 24 µL par puits dans la plaque **BIND #2**
  - b) Ajouter 150 µL de tampon MBL2
  - c) Faire un spin
- 6) Lancement du MagnetaPure 96 :
  - a) Préparation du robot :
    - i) Positionner les plaques délicatement dans leur emplacement, colonne 1 vers l'extérieur :
      - (1) Disposer un peigne dans la plaque 1 (plaque fixe)
      - (2) Plaque **BIND #2**
      - (3) Plaque MBL3.1 **#3**
      - (4) Plaque MBL3.2 **#4**
      - (5) Plaque EtOH **#5**
      - (6) Plaque MBL4 **#6**
      - (7) Plaque SAMAAMMNNN **#8**
    - ii) Valider une dernière fois l'agencement du robot :
      - (1) Chaque plaque à sa place
      - (2) Pas de jeu, la plaque doit être fermement posée
      - (3) La colonne 1 orientée vers vous
      - (4) Le peigne posé bien à plat dans la plaque 1, pas de côté surélevé. Ne pas hésiter à changer la plaque réceptacle ou le peigne si vous constatez un défaut.
  - b) Lancement du programme :
    - i) Sur l'écran de contrôle, aller dans l'onglet **"Run Prog"**
    - ii) Sélectionner le programme "NMBloodAAMMJJ" (dernière version en application)
    - iii) Appuyer sur le bouton **"Run"**

*Remarque : en cas d'anomalie, possibilité de stopper le run via le bouton stop.*

- 7) Fin de process :

	<b>Extraction d'ADN sur MagnetaPure 96 à partir de sang</b>	Version 2.0
GDB_MOP_33	SMQ	04/06/2024
Rédaction : M. BARBET	Vérification : L. LIETAR	Approbation : L. LIETAR

- Sceller la plaque d'élution SAMAAMMNNN #8 avec un film alu autocollant, puis la sortir du robot
- Pivoter le plateau tournant pour accéder aux autres plaques
- Laisser la plaque 1 à sa place et jeter les autres plaques DeepWell (2, 3, 4, 5 et 6)
- Si vous constatez la présence de salissures sur l'appareil nettoyer avec de l'éthanol 70% et un papier non pelucheux
- En fin d'utilisation mettre l'appareil sous U.V. pendant 30 min à 1h à l'aide de l'onglet U.V. sterilizer

	Noms	Conditions de stockage
<b>Matériel</b>	<i>MagnetaPure 96</i>	
	<i>Centrifugeuse pour plaque</i>	
	<i>Agitateurs</i>	
<b>Consommables</b>	<i>Plaques Deepwell</i>	
	<i>Plaque d'élution</i>	
	<i>Film aluminium autocollant</i>	
	<i>Peigne 96 dents</i>	
	<i>Plaques Biotubes</i>	
	<i>Bouchons Biotubes</i>	
<b>Réactifs</b>	<i>Nucleomag Blood 200 µL</i>	<i>Protéinase K solubilisée -21°C +/- 3°C Autres réactifs à température ambiante</i>
	<i>Proteinase K</i>	
	<i>Tampon MBL2</i>	
	<i>Eau ultrapure (ou équivalent)</i>	

### **Documents associés :**

[GDB\\_PRS\\_05\\_Extraction d'ADN](#)

[GDB\\_MOP\\_01\\_Préparation des matrices pour extraction d'ADN à partir de prélèvements de sang](#)

[GDB\\_MOP\\_07\\_Elaboration des fichiers d'extraction](#)

[GDB\\_FORM\\_03\\_Habilitation extraction ADN](#)

[GDB\\_FORM\\_15\\_MATRICE\\_AAMMJJ-NN](#)