omega BIO-TEK
innovations in nucleic acid isolation

Notice de produit

Coffret Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD

Produit	Préparations
M6399-01CEIVD	4 × 96 préparations

Date de la notice : Juin 2026
Numéro de révision : v1.3

IVD

Réservé à un diagnostic in vitro

CE

Omega Bio-tek, Inc.
400 Pinnacle Way, Suite 450
Norcross, GA 30071
www.omegabiotek.com

+1-770-931-8400
+1-770-931-0230
info@omegabiotek.com

omega-bio-tek
omegabiotek
omegabiotek

Coffret Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD

Table des matières

Usage prévu et utilisateur prévu....2
Description du produit....3
Contenu du coffret....4
Conservation et stabilité....4
Dispositifs de séparation magnétique et accessoires plastiques....4
Préparation des réactifs....5
Contrôle qualité....6
Mises en garde/Informations sur la sécurité....6
Précautions....7
Limitations....9
Protocole sur le sang....10
Protocole sur les tissus....14
Protocole sur les cultures cellulaires....19
Protocole sur la salive....24
Protocole sur les écouvillonnages buccaux....28
Contact....32
Symboles....33
Historique des révisions....35
Notifications & avis de non-responsabilité....36

Date de la notice : Juin 2026
Numéro de révision : v1.3

omega BIO-TEK
innovations in nucleic acid isolation

Usage prévu

Réservé à un diagnostic in vitro.

Le coffret ADN sang et tissus HDQ 96 Mag-Bind® Blood & Tissue DNA (marquage CE IVD) est destiné à l'isolement et à la purification de l'ADN génomique provenant de cultures cellulaires et de tissus frais ou congelés, d'une quantité maximale de 250 µl de sang total, d'écouvillonnages buccaux, d'une quantité maximale de 500 µl de salive et de taches de sang séché.

Le coffret Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD utilise une technologie basée sur les billes magnétiques. Il peut être utilisé soit manuellement, soit de manière automatisée sur la plupart des plates-formes de manipulation de liquides ouvertes, ainsi qu'avec des processeurs magnétiques.

Utilisateur prévu

Ce coffret est destiné à un usage professionnel.

Le coffret Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD est destiné à être utilisé pour un diagnostic in vitro par des utilisateurs professionnels, notamment des membres du personnel de laboratoire, des techniciens, des chercheurs et des médecins spécifiquement formés aux techniques de biologie moléculaire, et familiarisés avec la purification basée sur les billes magnétiques, de manière manuelle ou automatisée.

Description du produit

Le coffret Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD constitue une méthode polyvalente d'isolement d'un ADN de haute qualité, à partir d'un large éventail d'échantillons, y compris des cultures cellulaires et des tissus animaux frais ou congelés, des volumes maximaux de 250 µl pour le sang total, des écouvillonnages buccaux, des volumes maximaux de 500 µl de salive et les taches de sang séché. Les particules HDQ Mag-Bind® offrent un temps de réponse magnétique court, ce qui réduit la durée totale du processus. Ce système associe les propriétés de liaison réversible des particules paramagnétiques Mag-Bind® aux acides nucléiques à l'efficacité éprouvée des compositions chimiques des tampons de Omega Bio-tek, offrant une méthode rapide et pratique pour isoler l'ADN d'une large gamme d'échantillons. La méthode de purification permet d'obtenir un ADN de haute qualité qui peut être utilisé directement dans la plupart des applications en aval, comme l'amplification, le séquençage de nouvelle génération (NGS) et les réactions enzymatiques.

Lors de la première utilisation du Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD, merci de lire l'intégralité de cette notice afin de bien connaître les méthodes. Les échantillons sont lysés dans des systèmes tampons adaptés spécifiquement à chaque type d'échantillon de départ. Après la lyse, les échantillons sont mélangés avec du tampon de liaison HDQ et des particules HDQ Mag-Bind® pour que l'ADN se fixe aux billes magnétiques. Les particules paramagnétiques sont séparées des lysats grâce à un dispositif de séparation magnétique. Après quelques étapes de lavage rapides visant à éliminer les contaminants à l'état de traces, l'ADN est élué dans un Elution Buffer.

Une revue des méthodes d'isolement et de purification de l'ADN/ARN est fournie dans la littérature référencée suivante[1,2].

Important :

1. En cas d'automatisation de cette méthode sur un manipulateur de liquide ou un processeur magnétique, contacter le représentant Omega Bio-tek pour recevoir des instructions spécifiques à cet appareil.

2. Les coffrets comprennent suffisamment de réactifs pour le nombre spécifié de préparations, plus une quantité supplémentaire de 10 % pour garantir un volume suffisant. Veuillez noter que le nombre réel de préparations peut être inférieur à cause de la répartition préalable en parties aliquotes des réactifs, du traitement de plaques partielles, de la plate-forme automatisée utilisée, etc.

1 Ali, N., Rampazzo, R., Costa, A., & Krieger, M. A. (2017). Current Nucleic Acid Extraction Methods and Their Implications to Point-of-Care Diagnostics. BioMed research international, 2017, 9306564. https://doi.org/10.1155/2017/9306564
2 Geciova, J., Bury, D., & Jelen, P. (2002). Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry—a review. International Dairy Journal, 12(6), 541-553.

Contenu du coffret

Produit	M6399-01CEIVD
Purifications	4 x 96
Tampon AL	125 ml
Tampon TL	120 ml
Tampon de liaison HDQ	40 ml
Tampon VHB	230 ml
Tampon SPM	150 ml
Tampon d'élution	250 ml
Solution de protéinase K	9 ml
Particules HDQ Mag-Bind®	9 ml

Conservation et stabilité

Tous les composants du coffret Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD sont garantis au minimum 12 mois à compter de la date d'achat lorsqu'ils sont conservés dans les conditions suivantes. La solution de protéinase K peut être conservée à température ambiante pendant 12 mois au maximum. Pour une conservation de longue durée, conserver la solution de protéinase K à une température comprise entre 2 et 8 °C. Tous les autres composants doivent être conservés à la température recommandée mentionnée sur l'étiquette du flacon. Lorsqu'un produit est ouvert, continuer à conserver le produit conformément aux instructions qui figurent sur l'étiquette. S'assurer que les capuchons sont correctement resserrés après chaque utilisation. Pendant le transport ou la conservation dans des conditions de température ambiante fraîche, des précipités peuvent se former dans certains tampons. Dissoudre ces dépôts en réchauffant la solution à 37 °C et en l'agitant doucement.

Dispositifs de séparation magnétique et récipients en plastique

Bien que de nombreuses marques de dispositifs de séparation magnétique soient compatibles avec le coffret Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD, nous recommandons l'utilisation de la plaque aimantée universelle Magnum™ EX d'Alpaqua (référence A000380) en combinaison avec les plaques DeepWell™ de 2 ml de Nunc (référence 278752). Cette combinaison offre des durées de magnétisation courtes, de 1 minute seulement pour une magnétisation complète lors des étapes de lavage et de 5 minutes lors des étapes d'élimination du lysat.

Quel que soit le dispositif de séparation magnétique choisi, vérifier que ce dispositif est compatible avec les récipients en plastique nécessaires pour ce coffret.

Préparation des réactifs

1. Diluer le tampon SPM dans 350 ml d'éthanol à 100 %, et conserver le mélange à température ambiante.

2. Préparer le tampon VHB avec 290 ml d'éthanol à 100 % et conserver le mélange à température ambiante.

3. Préparer le tampon de liaison HDQ avec 160 ml d'isopropanol à 100 % et conserver le mélange à température ambiante.

4. Agiter à la main ou au Vortex les particules HDQ Mag-Bind® pour les remettre parfaitement en suspension avant utilisation. Les particules doivent être parfaitement en suspension pendant l'utilisation pour assurer une liaison adéquate.

Contrôle qualité

Conformément au Système de gestion de la qualité certifié ISO d'Omega Bio-tek, tous les réactifs du coffret Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD sont contrôlés en routine par rapport à des spécifications prédéterminées par lots, afin d'assurer la fiabilité des performances et une qualité constante du produit.

Mises en garde

Ce coffret est réservé à un diagnostic in vitro.

Veuillez lire toutes les instructions attentivement avant d'utiliser le coffret.

Veuillez décontaminer et éliminer tous les matériels potentiellement infectieux conformément aux réglementations locales, nationales et européennes applicables. Pour les clients de l'Union européenne, nous rappelons que vous devez signaler les incidents graves survenus en relation avec le dispositif au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient sont établis. Pour toute assistance, veuillez contacter Omega Bio-tek à l'adresse suivante : info@omegabiotek.com.

Si vous utilisez ce coffret dans un flux de travail d'extraction automatisé, la surface de la plate-forme automatisée est considérée comme un risque biologique. Veuillez utiliser les méthodes de décontamination et d'élimination appropriées conformes à l'ensemble des réglementations locales, étatiques/provinciales et/ou nationales.

Informations relatives à la sécurité

Tous les matériels chimiques et biologiques sont potentiellement dangereux.

Les échantillons biologiques, notamment le plasma, le sérum, les tissus, les liquides corporels, le sang, etc., sont potentiellement infectieux et doivent être traités comme des matériels biologiquement dangereux. Tous les travaux doivent être effectués dans des installations correctement équipées en suivant les précautions universelles et en utilisant des équipements de protection individuelle, tels que des gants jetables, des blouses de laboratoire, des lunettes de sécurité, etc. conformément aux politiques et aux procédures imposées dans votre établissement.

Veuillez vous reporter aux fiches de données de sécurité (FDS) pour des informations concernant les mesures de sécurité pour la manipulation, le transport et l'élimination des différents réactifs composant ce coffret. Les FDS sont disponibles en format PDF sur la page produit à l'adresse suivante : www.omegabiotek.com. Éliminez tous les déchets conformément aux réglementations locales de sécurité.

Précautions

Certains des tampons utilisés avec le coffret Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD contiennent des agents chaotropes à base de guanidine, qui peuvent former des composants hautement réactifs lorsqu'ils sont associés à l'eau de Javel. **NE PAS ajouter d'eau de Javel ou de solution acide** aux déchets de préparation des échantillons contenant de la guanidine. Veuillez consulter les FDS en ligne pour les informations détaillées sur les réactifs.

Composant	Description
Tampon AL	Contient : Chlorhydrate de guanidine. Avertissement! Provoque une grave irritation des yeux. Provoque une irritation cutanée. Nocif en cas d'ingestion. Ne pas manger, boire ou fumer lors de l'utilisation de ce produit. Laver soigneusement toutes les parties externes du corps exposées après manipulation. Porter des gants de protection, des vêtements de protection, une protection oculaire et une protection faciale. DANS LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Retirez les lentilles de contact, si elles sont présentes et faciles à faire. Continuez à rincer. Consulter un médecin si l'irritation oculaire persiste. Enlever les vêtements contaminés et les laver avant de les réutiliser. SUR LA PEAU : Laver abondamment à l'eau et au savon. Consulter un médecin en cas d'irritation ou d'éruption cutanée. AVALÉ : Rincer la bouche. Appelez un centre antipoison ou un médecin si vous ne vous sentez pas bien.
Tampon TL	Contient : détergent anionique. Mise en garde ! Provoque des irritations oculaires graves. Peut provoquer une réaction cutanée allergique. Éviter d'inhaler les brouillards, les vapeurs, les pulvérisations. Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas sortir du lieu de travail. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/ une protection oculaire/une protection du visage. DANS LES YEUX : rincer avec précaution avec de l'eau pendant plusieurs minutes. Retirer les lentilles de contact si la personne en porte et si cela peut être réalisé facilement. Continuer à rincer. Consulter un médecin si l'irritation oculaire persiste. SUR LA PEAU : laver avec une quantité abondante d'eau savonneuse. Consulter un médecin en cas d'irritation ou d'éruption cutanée. Laver les vêtements contaminés avant réutilisation.
Solution de protéinase K	Contient : protéinase K. Danger ! Provoque une légère irritation cutanée. Peut provoquer des symptômes allergiques ou asthmatiques ou des difficultés respiratoires en cas d'inhalation. Éviter d'inhaler les poussières, les fumées, les gaz, les brouillards, les vapeurs et les vaporisations. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/une protection oculaire/une protection du visage. Porter une protection respiratoire. En cas d'exposition avérée ou suspectée : appeler un centre antipoison ou un médecin. Amener la victime à l'air frais et la garder au repos dans une position confortable pour respirer.

Précautions

Composant	Description
Tampon de liaison HDQ	Contient : perchlorate de sodium. Danger! Peut causer des dommages aux organes en cas d'exposition prolongée ou répétée. Peut provoquer un incendie ou une explosion ; oxydant puissant. Nocif en cas d'ingestion. Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. NE PAS FUMER. Tenir à l'écart des vêtements et autres matières combustibles. Ne pas respirer les brouillards/vapeurs/aérosols. Laver soigneusement toutes les parties externes du corps exposées après manipulation. Ne pas manger, boire ou fumer lors de l'utilisation de ce produit. Porter des gants de protection et des vêtements de protection. AVALÉ : Rincer la bouche. Appeler un CENTRE ANTIPOISON/médecin/ médecin/secouriste en cas de malaise. SUR LES VÊTEMENTS : Rincer immédiatement les vêtements et la peau contaminés avec beaucoup d'eau avant de retirer les vêtements. Consultez un médecin si vous ne vous sentez pas bien. En cas d'incendie : Utiliser ... pour éteindre. En cas d'incendie majeur et de grandes quantités : Evacuer la zone. Combattre l'incendie à distance en raison du risque d'explosion.
Tampon VHB	Contient : chlorhydrate de guanidine. Mise en garde ! Provoque de graves irritations oculaires. Provoque une irritation cutanée. Peut provoquer une réaction cutanée allergique. Nocif en cas d'ingestion. Éviter d'inhaler les brouillards, les vapeurs, les pulvérisations. Ne pas manger, boire ou fumer pendant l'utilisation du produit. Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas sortir du lieu de travail. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/une protection oculaire/une protection du visage. En cas d'exposition avérée ou suspectée : appeler un centre antipoison ou un médecin. DANS LES YEUX : rincer avec précaution avec de l'eau pendant plusieurs minutes. Retirer les lentilles de contact si la personne en porte et si cela peut être réalisé facilement. Continuer à rincer. Consulter un médecin si l'irritation oculaire persiste. Retirer les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. SUR LA PEAU : laver avec une quantité abondante d'eau savonneuse. Consulter un médecin en cas d'irritation ou d'éruption cutanée. INGESTION : rincer la bouche. Appeler un centre antipoison, un médecin ou un service d'urgence en cas de malaise.

Limitations

Les performances du coffret ont été évaluées en isolant de l'ADN génomique de 250 µl de sang total, d'écouvillonnages buccaux, de 500 µl de salive préservée et de cultures cellulaires. Les performances du coffret ont également été validées en évaluant l'adéquation de l'ADN génomique purifié dans des analyses effectuées directement en aval par une méthode d'amplification standard. Veuillez noter que l'utilisateur est responsable de la vérification des performances de toute procédure non couverte par les études d'évaluation de performances d'Omega Bio-tek. L'utilisateur est également responsable de l'établissement des indicateurs de performance nécessaires pour l'application diagnostique en aval qu'il a choisie. Des contrôles appropriés et adéquats doivent être employés dans toute application diagnostique en aval utilisant l'ADN génomique purifié avec le coffret Mag-Bind® Blood & Tissue DNA CE IVD.

Protocole pour le sang

La méthode ci-dessous a été optimisée afin de l'utiliser avec des échantillons de sang FRAIS ou CONGELÉS de 250 µL. La couche leuco-plaquettaire peut également être utilisée.

Important : En cas d'automatisation de cette méthode sur un manipulateur de liquide ou un processeur magnétique, contacter le représentant Omega Bio-tek pour recevoir des instructions spécifiques à cet appareil.

Matériel et réactifs à fournir par l'utilisateur :

- Dispositif de séparation magnétique (dispositif recommandé Magnum™ EX d'Alpaqua, référence A000380)
- Agitateur Vortex
- Bloc chauffant, incubateur ou bain-marie pouvant atteindre 70 °C
- Microplaque à 96 puits (500 µl) ou plaque d'élution choisie
- Plaque à 96 puits profonds de 2 ml (plaque recommandée de Nunc, référence 278752) ou plaque souhaitée compatible avec le dispositif de séparation magnétique
- Pipettes multicanaux et réservoirs à réactifs
- Éthanol à 100 %
- Isopropanol à 100 %
- Eau sans nucléase
- Facultatif : ARNase A (10 mg/ml)
- Facultatif : tampon PBS

Avant de commencer :

- Préparer le tampon SPM, le tampon VHB et le tampon de liaison HDQ conformément à la section « Préparation des réactifs » à la page 5.
- Régler le bloc chauffant, l'incubateur ou le bain-marie à 70 °C.

1. Préparer un mélange maître composé de tampon AL et de solution de protéinase K uniquement pour les échantillons soumis à l'extraction, conformément au tableau ci-dessous :

Composant	Quantité par préparation	Quantité totale pour une plaque à 96 puits
Tampon AL	290 µl	30,6 ml*
Solution de protéinase K	20 µl	2,1 ml*

* Un volume présentant un excédent de 10 % a été calculé pour une plaque à 96 puits.

Important : Préparer uniquement la quantité nécessaire de mélange maître composé de tampon AL/ de solution de protéinase K qui sera utilisée dans les 4 heures qui suivent la préparation.

2. Ajouter l'échantillon de sang de 250 µl à une plaque à 96 puits de 2 ml à puits profonds (non fournie). Si le volume de sang est inférieur à 250 µl, compléter ce volume jusqu'à 250 µl avec du tampon PBS (non fourni) ou du tampon d'élution (fourni avec ce coffret).

3. Ajouter 310 µL de mélange maître composé de tampon AL/solution de protéinase K à chaque échantillon. Agiter au Vortex ou prélever et réinjecter à la pipette 20 fois pour mélanger. Il est essentiel de mélanger correctement pour obtenir un bon rendement.

   Remarque : Il est recommandé de mélanger avec l'embout pour les protocoles automatisés afin d'obtenir le meilleur rendement.

4. Incuber à 70 °C pendant 10 minutes.

Facultatif : Ajouter 5 µl d'ARNase A à chaque échantillon. Agiter au Vortex pour mélanger. Laisser reposer à température ambiante pendant 2 minutes.

5. Ajouter 400 µl de tampon de liaison HDQ et 20 µl de particules HDQ Mag-Bind® à chaque échantillon. Agiter au Vortex pendant 10 minutes pour mélanger.

   Remarque :
   - Le tampon de liaison HDQ doit être dilué avec de l'isopropanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions. Le tampon de liaison HDQ et les particules HDQ Mag-Bind® peuvent être préparés sous la forme d'un mélange maître. Préparer uniquement la quantité nécessaire à chaque analyse.
   - S'il est impossible de parvenir à une agitation constante au Vortex pendant 10 minutes, agiter au Vortex pendant 30 secondes toutes les 2 minutes pendant 10 minutes.

6. Placer la plaque sur un dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

7. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

8. Retirer la plaque du dispositif de séparation magnétique.

9. Ajouter 600 µl de tampon VHB à chaque échantillon.

   Remarque : Il faut diluer le tampon VHB avec de l'éthanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions.

10. Agiter au Vortex pendant 15 secondes pour mélanger.

    Remarque : Une nouvelle mise en suspension complète des particules HDQ Mag-Bind® est essentielle pour obtenir une bonne pureté.

11. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

12. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

13. Retirer la plaque du dispositif de séparation magnétique.

14. Répéter les étapes 9 à 13 pour un deuxième lavage avec le tampon VHB.

15. Ajouter 600 µl de tampon SPM à chaque échantillon.

    Remarque : Il faut diluer le tampon SPM avec de l'éthanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions.

16. Agiter au Vortex pendant 15 secondes pour mélanger.

17. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

18. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

19. Choisir l'une des méthodes suivantes pour éliminer l'éthanol :

    A. Laisser la plaque sur le dispositif de séparation magnétique. Ajouter 500 µl d'eau sans nucléase (non fournie), laisser sur l'aimant pendant 20 à 30 secondes, puis prélever à la pipette. Ne pas laisser l'eau sans nucléase sur les particules HDQ Mag-Bind®® pendant plus de 60 secondes. Poursuivre à l'étape 20.

    OU

    B. Laisser la plaque sur le dispositif de séparation magnétique. Attendre 1 minute. Éliminer le liquide résiduel à la pipette. Sécher les particules HDQ Mag-Bind® pendant 10 minutes supplémentaires. Poursuivre à l'étape 20.

20. Retirer la plaque du dispositif de séparation magnétique.

21. Ajouter 50 à 200 µL de tampon d'élution ou d'eau sans nucléase pour éluer l'ADN des particules HDQ Mag-Bind®.

    Remarque : Chauffer le tampon d'élution ou l'eau sans nucléase jusqu'à 70 °C pour améliorer le rendement.

22. Agiter au Vortex pendant 5 minutes pour mélanger.

    Remarque : S'il est impossible de parvenir à une agitation constante au Vortex pendant 5 minutes, agiter au Vortex pendant 15 secondes toutes les 1 à 2 minutes pendant 5 minutes.

23. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

24. Transférer le surnageant contenant l'ADN purifié dans une microplaque à 96 puits (non fournie). Placer l'ADN à -20 °C pour le conserver.

Protocole pour les tissus

Cette méthode permet d'isoler de l'ADN génomique à partir d'une quantité maximale de 10 mg de tissu. Le rendement varie en fonction de l'origine du tissu.

Important : En cas d'automatisation de cette méthode sur un manipulateur de liquide ou un processeur magnétique, contacter le représentant Omega Bio-tek pour recevoir des instructions spécifiques à cet appareil.

Matériel et équipement à fournir par l'utilisateur :

- Dispositif de séparation magnétique (dispositif recommandé Magnum™ EX d'Alpaqua, référence A000380)
- Agitateur Vortex
- Centrifuger avec un rotor de centrifugation à godets oscillants capable d'atteindre 4 000 *g*
- Adaptateur de centrifugeuse pour plaques à 96 puits
- Bain-marie à agitation pouvant atteindre 55 °C
- Microplaque à 96 puits (500 µl) ou plaque d'élution choisie
- Plaques à 96 puits profonds de 2 ml (plaque recommandée de Nunc, référence 278752) ou plaque souhaitée compatible avec le dispositif de séparation magnétique
- Pipettes multicanaux et réservoirs à réactifs
- Éthanol à 100 %
- Isopropanol à 100 %
- Eau sans nucléase
- Recommandé : dithiothréitol (DTT) 1 M
- Facultatif : ARNase A (10 mg/ml)
- Facultatif : bloc chauffant, incubateur ou bain-marie pouvant atteindre 70 °C
- Facultatif : azote liquide et mortier et pilon

Avant de commencer :

- Préparer le tampon VHB, le tampon SPM et le tampon de liaison HDQ conformément à la section « Préparation des réactifs » à la page 5.
- Régler le bain-marie à agitation à 55 °C.
- Facultatif : Régler le bain-marie, l'incubateur ou le bloc chauffant à 70 °C.
- Recommandé : Ajouter 40 µl de DTT 1 M par ml de tampon TL avant utilisation.

FACULTATIF : Bien qu'une homogénéisation mécanique du tissu ne soit pas nécessaire, pulvériser les échantillons dans de l'azote liquide permet d'améliorer la lyse et d'abaisser le temps d'incubation. Après évaporation de l'azote liquide, transférer le tissu réduit en poudre dans une plaque à 96 puits profonds (non fournie). Ajouter 250 µL de tampon TL et passer à l'Étape 3 à la page suivante.

1. Fragmenter en morceaux de 10 mg de tissu et transférer dans une plaque à 96 puits profonds (non fournie).

   Remarque : La coupe du tissu en petits morceaux peut accélérer la lyse.

2. Ajouter 250 µl de tampon TL à chaque échantillon.

   Facultatif : Pour la lyse d'échantillons pileux ou d'autres tissus dont la lyse est difficile, il est recommandé de préparer un mélange maître composé de tampon TL et de DTT.
   - Diluer le DTT à une concentration finale de 40 mM dans du tampon TL.
   - Ajouter 40 µl de DTT 1 M par ml de tampon TL avant utilisation.
   - Préparer uniquement la quantité de mélange maître de tampon TL/DTT qui sera utilisée immédiatement.

3. Ajouter 20 µl de solution de protéinase K à chaque échantillon. Agiter au Vortex pour mélanger.

4. Incuber à 55 °C dans un bain-marie à agitation.

   Remarque : Si l'utilisation d'un bain-marie à agitation n'est pas possible, agiter l'échantillon au Vortex toutes les 20 à 30 minutes. La durée de la lyse dépend de la quantité et du type de tissu, et est généralement inférieure à 3 heures. Il est possible de laisser le processus de lyse se dérouler pendant une nuit.

Facultatif : Ajouter 5 µl d'ARNase A à chaque échantillon. Agiter au Vortex pour mélanger. Laisser reposer à température ambiante pendant 2 minutes.

5. Centrifuger à vitesse maximale (≥ 4 000 *g*) pendant 5 minutes pour agglomérer les débris tissulaires non digérés en un culot.

6. Transférer délicatement 200 µl de surnageant dans une plaque à 96 puits profonds sans remuer le culot non digéré.

7. Ajouter 230 µl de tampon AL à chaque échantillon. Agiter au Vortex pendant 10 minutes pour mélanger. Il est essentiel de mélanger correctement pour obtenir un bon rendement.

   Remarque :
   - Pour les protocoles automatisés, il est recommandé de mélanger avec l'embout afin d'obtenir le meilleur rendement.
   - S'il est impossible de parvenir à une agitation constante au Vortex pendant 10 minutes, agiter au Vortex pendant 30 secondes toutes les 2 minutes pendant 10 minutes.

8. Ajouter 320 µL de tampon de liaison HDQ et 20 µL de particules HDQ Mag-Bind® à chaque échantillon. Agiter au Vortex pendant 10 minutes pour mélanger.

   Remarque :
   - Le tampon de liaison HDQ doit être dilué avec de l'isopropanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions. Le tampon de liaison HDQ et les particules HDQ Mag-Bind® peuvent être préparés sous la forme d'un mélange maître. Préparer uniquement la quantité nécessaire à chaque analyse.
   - S'il est impossible de parvenir à une agitation constante au Vortex pendant 10 minutes, agiter au Vortex pendant 30 secondes toutes les 2 minutes pendant 10 minutes.

9. Placer la plaque sur un dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

10. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

11. Retirer la plaque contenant les particules HDQ Mag-Bind® du dispositif de séparation magnétique.

12. Ajouter 600 µl de tampon VHB à chaque échantillon.

    Remarque : Il faut diluer le tampon VHB avec de l'éthanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions.

13. Agiter au Vortex pendant 15 secondes pour mélanger.

    Remarque : Une nouvelle mise en suspension complète des particules HDQ Mag-Bind® est essentielle pour obtenir une bonne pureté.

14. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

15. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

16. Retirer la plaque contenant les particules HDQ Mag-Bind® du dispositif de séparation magnétique.

17. Répéter les étapes 12 à 16 pour un deuxième lavage avec le tampon VHB.

18. Ajouter 600 µl de tampon SPM à chaque échantillon.

    Remarque : Il faut diluer le tampon SPM avec de l'éthanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions.

19. Agiter au Vortex pendant 15 secondes pour mélanger.

20. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

21. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

22. Choisir l'une des méthodes suivantes pour éliminer l'éthanol :

    A. Laisser la plaque sur le dispositif de séparation magnétique. Ajouter 500 µl d'eau sans nucléase (non fournie), laisser sur l'aimant pendant 20 à 30 secondes, puis prélever à la pipette. Ne pas laisser l'eau sans nucléase sur les particules HDQ Mag-Bind®® pendant plus de 60 secondes. Poursuivre à l'étape 23.

    OU

    B. Laisser la plaque sur le dispositif de séparation magnétique. Attendre 1 minute. Éliminer le liquide résiduel à la pipette. Sécher les particules HDQ Mag-Bind® pendant 10 minutes supplémentaires. Poursuivre à l'étape 23.

23. Retirer la plaque contenant les particules HDQ Mag-Bind® du dispositif de séparation magnétique.

24. Ajouter 100 à 200 µL de tampon d'élution ou d'eau sans nucléase pour éluer l'ADN des particules HDQ Mag-Bind®.

    Remarque : Chauffer le tampon d'élution ou l'eau sans nucléase jusqu'à 70 °C pour améliorer le rendement.

25. Agiter au Vortex pendant 5 minutes pour mélanger.

    Remarque : S'il est impossible de parvenir à une agitation constante au Vortex pendant 5 minutes, agiter au Vortex pendant 15 secondes toutes les 1 à 2 minutes pendant 5 minutes.

26. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

27. Transférer le surnageant contenant l'ADN purifié dans une microplaque à 96 puits (non fournie). Placer l'ADN à -20 °C pour le conserver.

Protocole pour cultures cellulaires

Ce protocole est conçu pour isoler rapidement jusqu'à 25 µg d'ADN génomique à partir d'une quantité maximale de 5×10^6 cellules en culture.

Important : En cas d'automatisation de cette méthode sur un manipulateur de liquide ou un processeur magnétique, contacter le représentant Omega Bio-tek pour recevoir des instructions spécifiques à cet appareil.

Matériel et équipement à fournir par l'utilisateur :

- Dispositif de séparation magnétique (dispositif recommandé Magnum™ EX d'Alpaqua, référence A000380)
- Agitateur Vortex
- Centrifuger avec un rotor de centrifugation à godets oscillants capable d'atteindre 4 000 *g*
- Bain-marie à agitation pouvant atteindre 55 °C
- Microplaque à 96 puits (500 µl) ou plaque d'élution choisie
- Plaques à 96 puits profonds de 2 ml (plaque recommandée de Nunc, référence 278752) ou plaque souhaitée compatible avec le dispositif de séparation magnétique
- Pipettes multicanaux et réservoirs à réactifs
- Tampon PBS froid (4 °C)
- Éthanol à 100 %
- Isopropanol à 100 %
- Eau sans nucléase
- Facultatif : ARNase A (10 mg/ml)
- Facultatif : bloc chauffant, incubateur ou bain-marie pouvant atteindre 70 °C
- Facultatif : trypsine et grattoir de cellules

Avant de commencer :

- Préparer le tampon SPM, le tampon VHB et le tampon de liaison HDQ conformément à la section « Préparation des réactifs » à la page 5.
- Régler le bain-marie à agitation à 55 °C.
- Facultatif : Régler le bain-marie, l'incubateur ou le bloc chauffant à 70 °C.

1. Préparer la suspension cellulaire.

   1a. Il faut décongeler les échantillons de cellules congelées avant de débuter ce protocole. Agglomérer les cellules en un culot par centrifugation. Laver les cellules avec du tampon PBS froid (4 °C) et remettre les cellules en suspension dans 180 µL de tampon PBS froid. Passer à l'étape 2 de ce protocole.

   1b. Pour les cellules cultivées en suspension, agglomérer en un culot de 5×10^6 cellules à 1 200 *g* dans un tube de centrifugation. Éliminer le surnageant, laver les cellules une fois avec du tampon PBS froid (4 °C) et remettre les cellules en suspension dans 180 µl de tampon PBS froid. Passer à l'étape 2 de ce protocole.

   1c. Pour les cellules cultivées en monocouche, récolter les cellules à l'aide d'un traitement à la trypsine ou d'un grattoir de cellules. Laver les cellules deux fois avec du tampon PBS froid (4 °C) et remettre les cellules en suspension dans 180 µl de tampon PBS froid. Passer à l'étape 2 de ce protocole.

2. Préparer un mélange maître composé de tampon AL et de solution de protéinase K uniquement pour les échantillons soumis à l'extraction, conformément au tableau ci-dessous :

Composant	Quantité par préparation	Quantité totale pour une plaque à 96 puits
Tampon AL	230 µl	24,3 ml*
Solution de protéinase K	20 µl	2,1 ml*

* Un volume présentant un excédent de 10 % a été calculé pour une plaque à 96 puits.

Important : Préparer uniquement la quantité nécessaire de mélange maître composé de tampon AL/ de solution de protéinase K qui sera utilisée dans les 4 heures qui suivent la préparation.

3. Ajouter 250 µL de mélange maître composé de tampon AL/de solution de protéinase K à chaque échantillon. Agiter au Vortex pendant 10 minutes pour mélanger. Il est essentiel de mélanger correctement pour obtenir un bon rendement.

   Remarque :
   - Pour les protocoles automatisés, il est recommandé de mélanger avec l'embout afin d'obtenir le meilleur rendement.
   - S'il est impossible de parvenir à une agitation constante au Vortex pendant 10 minutes, agiter au Vortex pendant 30 secondes toutes les 2 minutes pendant 10 minutes.

4. Incuber à 55 °C dans un bain-marie à agitation.

   Remarque : Si l'utilisation d'un bain-marie à agitation n'est pas possible, agiter les échantillons au Vortex toutes les 2 à 3 minutes.

5. Transférer les échantillons dans une plaque à 96 puits profonds (non fournie).

Facultatif : Ajouter 5 µl d'ARNase A à chaque échantillon. Agiter au Vortex pour mélanger. Laisser reposer à température ambiante pendant 2 minutes.

6. Ajouter 320 µL de tampon de liaison HDQ et 20 µL de particules HDQ Mag-Bind® à chaque échantillon. Agiter au Vortex pendant 10 minutes pour mélanger.

   Remarque :
   - Le tampon de liaison HDQ doit être dilué avec de l'isopropanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions. Le tampon de liaison HDQ et les particules HDQ Mag-Bind® peuvent être préparés sous la forme d'un mélange maître. Préparer uniquement la quantité nécessaire à chaque analyse.
   - S'il est impossible de parvenir à une agitation constante au Vortex pendant 10 minutes, agiter au Vortex pendant 30 secondes toutes les 2 minutes pendant 10 minutes.

7. Placer la plaque sur un dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

8. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

9. Retirer la plaque contenant les particules HDQ Mag-Bind® du dispositif de séparation magnétique.

10. Ajouter 600 µl de tampon VHB à chaque échantillon.

    Remarque : Il faut diluer le tampon VHB avec de l'éthanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions.

11. Agiter au Vortex pendant 15 secondes pour mélanger.

    Remarque : Une nouvelle mise en suspension complète des particules HDQ Mag-Bind® est essentielle pour obtenir une bonne pureté.

12. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

13. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

14. Retirer la plaque contenant les particules HDQ Mag-Bind® du dispositif de séparation magnétique.

15. Répéter les étapes 10 à 14 pour un deuxième lavage avec le tampon VHB.

16. Ajouter 600 µl de tampon SPM à chaque échantillon.

    Remarque : Il faut diluer le tampon SPM avec de l'éthanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions.

17. Agiter au Vortex pendant 15 secondes pour mélanger.

18. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

19. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

20. Choisir l'une des méthodes suivantes pour éliminer l'éthanol :

    A. Laisser la plaque sur le dispositif de séparation magnétique. Ajouter 500 µl d'eau sans nucléase (non fournie), laisser sur l'aimant pendant 20 à 30 secondes, puis prélever à la pipette. Ne pas laisser l'eau sans nucléase sur les particules HDQ Mag-Bind® pendant plus de 60 secondes. Poursuivre à l'étape 21.

    OU

    B. Laisser la plaque sur le dispositif de séparation magnétique. Attendre 1 minute. Éliminer le liquide résiduel à la pipette. Sécher les particules HDQ Mag-Bind® pendant 10 minutes supplémentaires. Poursuivre à l'étape 21.

21. Retirer la plaque contenant les particules HDQ Mag-Bind® du dispositif de séparation magnétique.

22. Ajouter 50 à 200 µL de tampon d'élution ou d'eau sans nucléase pour éluer l'ADN des particules HDQ Mag-Bind®.

    Remarque : Chauffer le tampon d'élution ou l'eau sans nucléase jusqu'à 70 °C pour améliorer le rendement.

23. Agiter au Vortex pendant 5 minutes pour mélanger.

    Remarque : S'il est impossible de parvenir à une agitation constante au Vortex pendant 5 minutes, agiter au Vortex pendant 15 secondes toutes les 1 à 2 minutes pendant 5 minutes.

24. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

25. Transférer le surnageant contenant l'ADN purifié dans une microplaque à 96 puits (non fournie). Placer l'ADN à -20 °C pour le conserver.

Protocole pour la salive

Important : En cas d'automatisation de cette méthode sur un manipulateur de liquide ou un processeur magnétique, contacter le représentant Omega Bio-tek pour recevoir des instructions spécifiques à cet appareil.

Matériel et équipement à fournir par l'utilisateur :

- Dispositif de séparation magnétique (dispositif recommandé Magnum™ EX d'Alpaqua, référence A000380)
- Agitateur Vortex
- Bain-marie à agitation pouvant atteindre 55 °C
- Microplaque à 96 puits (500 µl) ou plaque d'élution choisie
- Plaques à 96 puits profonds de 2 ml (plaque recommandée de Nunc, référence 278752) ou plaque souhaitée compatible avec le dispositif de séparation magnétique
- Pipettes multicanaux et réservoirs à réactifs
- Éthanol à 100 %
- Isopropanol à 100 %
- Eau sans nucléase
- Facultatif : ARNase A (10 mg/ml)
- Facultatif : bloc chauffant, incubateur ou bain-marie pouvant atteindre 70 °C

Avant de commencer :

- Préparer le tampon SPM, le tampon VHB et le tampon de liaison HDQ conformément à la section « Préparation des réactifs » à la page 5.
- Régler le bain-marie à agitation à 55 °C.
- Facultatif : Régler le bain-marie, l'incubateur ou le bloc chauffant à 70 °C.

1. Centrifuger le tube de salive à 2 000 *g* pendant 5 minutes.

2. Transférer 500 µl d'échantillons stabilisés de salive (p. ex. DNA Genotek Oragene®, Mawi iSWAB™ ou Biomatrica® DNAgard® Saliva) dans une plaque à 96 puits profonds (non fournie).

3. Préparer un mélange maître composé de tampon AL et de solution de protéinase K uniquement pour les échantillons soumis à l'extraction, conformément au tableau ci-dessous :

Composant	Quantité par préparation	Quantité totale pour une plaque à 96 puits
Tampon AL	200 µl	21,12 ml*
Solution de protéinase K	20 µl	2,1 ml*

* Un volume présentant un excédent de 10 % a été calculé pour une plaque à 96 puits.

Important : Préparer uniquement la quantité nécessaire de mélange maître composé de tampon AL/ de solution de protéinase K qui sera utilisée dans les 4 heures qui suivent la préparation.

4. Ajouter 220 µl de mélange maître composé de tampon AL/de solution de protéinase K à chaque échantillon. Agiter au Vortex pendant 10 minutes pour mélanger. Il est essentiel de mélanger correctement pour obtenir un bon rendement.

   Remarque :
   - Pour les protocoles automatisés, il est recommandé de mélanger avec l'embout afin d'obtenir le meilleur rendement.
   - S'il est impossible de parvenir à une agitation constante au Vortex pendant 10 minutes, agiter au Vortex pendant 30 secondes toutes les 2 minutes pendant 10 minutes.

5. Incuber à 55 °C dans un bain-marie à agitation.

   Remarque : Si l'utilisation d'un bain-marie à agitation n'est pas possible, agiter la plaque au Vortex toutes les 2 à 3 minutes. Si le tube DNA Genotek Oragene® a été utilisé et que l'étape d'incubation a déjà été réalisée, passer directement à l'étape 6.

Facultatif : Ajouter 5 µl d'ARNase A à chaque échantillon. Agiter au Vortex pour mélanger. Laisser reposer à température ambiante pendant 2 minutes.

6. Ajouter 400 µl de tampon de liaison HDQ et 20 µl de particules HDQ Mag-Bind® à chaque échantillon. Agiter au Vortex pendant 10 minutes pour mélanger.

   Remarque :
   - Le tampon de liaison HDQ doit être dilué avec de l'isopropanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions. Le tampon de liaison HDQ et les particules HDQ Mag-Bind® peuvent être préparés sous la forme d'un mélange maître. Préparer uniquement la quantité nécessaire à chaque analyse.
   - S'il est impossible de parvenir à une agitation constante au Vortex pendant 10 minutes, agiter au Vortex pendant 30 secondes toutes les 2 minutes pendant 10 minutes.

7. Placer la plaque sur un dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

8. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

9. Retirer la plaque contenant les particules HDQ Mag-Bind® du dispositif de séparation magnétique.

10. Ajouter 600 µl de tampon VHB à chaque échantillon.

    Remarque : Il faut diluer le tampon VHB avec de l'éthanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions.

11. Agiter au Vortex pendant 15 secondes pour mélanger.

    Remarque : Une nouvelle mise en suspension complète des particules HDQ Mag-Bind® est essentielle pour obtenir une bonne pureté.

12. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

13. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

14. Retirer la plaque contenant les particules HDQ Mag-Bind® du dispositif de séparation magnétique.

15. Répéter les étapes 10 à 14 pour un deuxième lavage avec le tampon VHB.

16. Ajouter 600 µl de tampon SPM à chaque échantillon.

    Remarque : Il faut diluer le tampon SPM avec de l'éthanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions.

17. Agiter au Vortex pendant 15 secondes pour mélanger.

18. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

19. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

20. Choisir l'une des méthodes suivantes pour éliminer l'éthanol :

    A. Laisser la plaque sur le dispositif de séparation magnétique. Ajouter 500 µl d'eau sans nucléase (non fournie), laisser sur l'aimant pendant 20 à 30 secondes, puis prélever à la pipette. Ne pas laisser l'eau sans nucléase sur les particules HDQ Mag-Bind®® pendant plus de 60 secondes. Poursuivre à l'étape 21.

    OU

    B. Laisser la plaque sur le dispositif de séparation magnétique. Attendre 1 minute. Éliminer le liquide résiduel à la pipette. Sécher les particules HDQ Mag-Bind® pendant 10 minutes supplémentaires. Poursuivre à l'étape 21.

21. Ajouter 100 à 200 µL de tampon d'élution ou d'eau sans nucléase pour éluer l'ADN des particules HDQ Mag-Bind®.

    Remarque : Chauffer le tampon d'élution ou l'eau sans nucléase jusqu'à 70 °C pour améliorer le rendement.

22. Agiter au Vortex pendant 5 minutes pour mélanger.

    Remarque : S'il est impossible de parvenir à une agitation constante au Vortex pendant 5 minutes, agiter au Vortex pendant 15 secondes toutes les 1 à 2 minutes pendant 5 minutes.

23. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

24. Transférer le surnageant contenant l'ADN purifié dans une microplaque à 96 puits (non fournie). Placer l'ADN à -20 °C pour le conserver.

Protocole pour les écouvillonnages buccaux

Important : En cas d'automatisation de cette méthode sur un manipulateur de liquide ou un processeur magnétique, contacter le représentant Omega Bio-tek pour recevoir des instructions spécifiques à cet appareil.

Matériel et équipement à fournir par l'utilisateur :

- Dispositif de séparation magnétique (dispositif recommandé Magnum™ EX d'Alpaqua, référence A000380)
- Agitateur Vortex
- Centrifuger avec un rotor de centrifugation à godets oscillants capable d'atteindre 4 000 *g*
- Adaptateur de centrifugeuse pour plaques à 96 puits
- Bain-marie à agitation pouvant atteindre 55 °C
- Microplaque à 96 puits (500 µl) ou plaque d'élution choisie
- Plaques à 96 puits profonds de 2 ml (plaque recommandée de Nunc, référence 278752) ou plaque souhaitée compatible avec le dispositif de séparation magnétique
- Pipettes multicanaux et réservoirs à réactifs
- Éthanol à 100 %
- Isopropanol à 100 %
- Facultatif : ARNase A (10 mg/ml)
- Facultatif : eau sans nucléase
- Facultatif : bloc chauffant, incubateur ou bain-marie pouvant atteindre 70 °C

Avant de commencer :

- Préparer le tampon VHB, le tampon SPM et le tampon de liaison HDQ conformément à la section « Préparation des réactifs » à la page 5.
- Régler le bain-marie à agitation à 55 °C.
- Facultatif : Régler le bain-marie, l'incubateur ou le bloc chauffant à 70 °C.

1. Sectionner la brosse buccale ou la tête de l'écouvillon et placer chaque écouvillon dans un puits d'une plaque à 96 puits à puits profonds (non fournie).

2. Préparer un mélange maître composé de tampon AL, de solution de protéinase K et de tampon d'élution uniquement pour les échantillons soumis à l'extraction, conformément au tableau ci-dessous :

Composant	Quantité par préparation	Quantité totale pour une plaque à 96 puits
Tampon AL	290 µl	30,6 ml*
Solution de protéinase K	20 µl	2,1 ml*
Tampon d'élution	250 µl	26,4 ml

* Un volume présentant un excédent de 10 % a été calculé pour une plaque à 96 puits.

Important : Préparer uniquement la quantité nécessaire de mélange maître composé de tampon AL/de solution de protéinase K/de tampon d'élution qui sera utilisé dans les 4 heures qui suivent la préparation.

3. Ajouter 560 µl de mélange maître composé de tampon AL/de solution de protéinase K/de tampon d'élution à chaque échantillon. Agiter au Vortex ou prélever et réinjecter à la pipette 20 fois pour mélanger.

   Remarque : Il est recommandé de mélanger avec l'embout pour les protocoles automatisés afin d'obtenir le meilleur rendement.

4. Incuber à 55 °C dans un bain-marie à agitation.

   Remarque : Si l'utilisation d'un bain-marie à agitation n'est pas possible, agiter la plaque au Vortex toutes les 2 à 3 minutes.

5. Centrifuger à 3 000 *g* pendant 2 minutes.

6. Transférer 500 µL de lysat dans une nouvelle plaque à 96 puits profonds. Ne pas transférer les écouvillons sur la nouvelle plaque.

Facultatif : Ajouter 5 µl d'ARNase A à chaque échantillon. Agiter au Vortex pour mélanger. Laisser reposer à température ambiante pendant 2 minutes.

7. Ajouter 350 µl de tampon de liaison HDQ et 20 µL de particules HDQ Mag-Bind® à chaque échantillon. Agiter au Vortex pendant 10 minutes pour mélanger.

   Remarque :
   - Le tampon de liaison HDQ doit être dilué avec de l'isopropanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions. Le tampon de liaison HDQ et les particules HDQ Mag-Bind® peuvent être préparés sous la forme d'un mélange maître. Préparer uniquement la quantité nécessaire à chaque analyse.
   - S'il est impossible de parvenir à une agitation constante au Vortex pendant 10 minutes, agiter au Vortex pendant 30 secondes toutes les 2 minutes pendant 10 minutes.

8. Placer la plaque sur un dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

9. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

10. Retirer la plaque contenant les particules HDQ Mag-Bind® du dispositif de séparation magnétique.

11. Ajouter 600 µl de tampon VHB à chaque échantillon.

    Remarque : Il faut diluer le tampon VHB avec de l'éthanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions.

12. Agiter au Vortex pendant 15 secondes pour mélanger.

    Remarque : Une nouvelle mise en suspension complète des particules HDQ Mag-Bind® est essentielle pour obtenir une bonne pureté.

13. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

14. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

15. Retirer la plaque contenant les particules HDQ Mag-Bind® du dispositif de séparation magnétique.

16. Répéter les étapes 11 à 15 pour un deuxième lavage avec le tampon VHB.

17. Ajouter 600 µl de tampon SPM à chaque échantillon.

    Remarque : Il faut diluer le tampon SPM avec de l'éthanol à 100 % avant utilisation. Veuillez vous reporter à la page 5 pour obtenir des instructions.

18. Agiter au Vortex pendant 15 secondes pour mélanger.

19. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

20. Prélever et éliminer le surnageant purifié. Ne pas remuer les particules HDQ Mag-Bind®.

21. Laisser la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pendant 10 minutes pour laisser sécher à l'air libre les particules HDQ Mag-Bind®. Éliminer tout liquide résiduel présent dans les puits.

    Remarque : À cette étape, il faut prélever à la pipette l'intégralité du liquide. Il est utile d'éliminer tout le liquide du puits, puis d'attendre une minute et d'éliminer tout liquide résiduel encore présent dans le puits.

22. Retirer la plaque contenant les particules HDQ Mag-Bind® du dispositif de séparation magnétique.

23. Ajouter 100 à 200 µL de tampon d'élution ou d'eau sans nucléase pour éluer l'ADN des particules HDQ Mag-Bind®.

    Remarque : Chauffer le tampon d'élution ou l'eau sans nucléase jusqu'à 70 °C pour améliorer le rendement.

24. Agiter au Vortex pendant 5 minutes pour mélanger.

    Remarque : S'il est impossible de parvenir à une agitation constante au Vortex pendant 5 minutes, agiter au Vortex pendant 15 secondes toutes les 1 à 2 minutes pendant 5 minutes.

25. Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les particules HDQ Mag-Bind®. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules HDQ Mag-Bind® soient complètement séparées de la solution.

26. Transférer le surnageant contenant l'ADN purifié dans une microplaque à 96 puits (non fournie). Placer l'ADN à -20 °C pour le conserver.

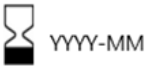
Coordonnées de contact

Pour commander à nouveau des fournitures, signaler une panne du dispositif ou formuler une réclamation, veuillez contacter :

	Fabricant Omega Bio-tek, Inc. 400 Pinnacle Way Suite #450 Norcross, GA 30071, USA Site Internet : www.omegabiotek.com Courrier électronique : info@omegabiotek.com SRN: US-MF-000024148
	Représentant européen agréé QbD RepS BV Groenenborgerlaan 16 2610 Wilrijk Belgium SRN: BE-AR-000000040
	Suisse Représentant autorisé Qarad Suisse S.A. World Trade Center Avenue Gratta-Paille 2 1018 Lausanne Switzerland CHRN: CHRN-AR-20002058
Royaume-Uni	**Représentant autorisé au Royaume-Uni** QbD RepS UK Ltd Waterside, Unit 33 Schooner Court, 44-48 Wharf Road, London N1 7UX Royaume-Uni

Symboles

Les symboles suivants peuvent apparaître dans les instructions d'utilisation, sur le conditionnement et l'étiquetage :

Image	Description
	Conditionnement endommagé (ne pas utiliser si le conditionnement est endommagé)
	Représentant agréé pour l'UE
	Suisse Représentant autorisé
	Date de péremption
	Intervalle de température pour un stockage prolongé
	Vérifier les conditions de conservation des composants
	Numéro de lot
	Numéro de référence, d'article ou de catalogue
	Numéro de série
	Quantité
	Avertissement
	Instructions d'utilisation
	Marquage réglementaire
	Dispositif médical pour un diagnostic in vitro

Symboles

UDI	Identifiant unique du dispositif
	Fabricant
No GHS	Aucun danger supplémentaire ou non classé comme dangereux selon le SGH
	Site Internet
	Téléphone
	Télécopie
	Courrier électronique
	Linked-In
	Twitter
	Facebook
Recycling	Pour des informations sur le recyclage, visitez www.omegabiotek.com/company/recycling

Historique des révisions

Révision	Description
v1.3, Juin 2026	Ajout d'informations sur le recyclage et mise à jour du nom et de l'adresse du représentant autorisé au Royaume-Uni.
v1.2, Avril 2025	Changement de nom et d'adresse du mandataire Autorisé par l'UE et ajouter des informations sur le représentant du Royaume-Uni
v1.1, Juillet 2023	Ajout d'informations sur le représentant autorisé de la Suisse
v1.0, Décembre 2022	Publication initiale

Notifications et avis de non-responsabilité

Divulgation REACH

Pour une utilisation dans l'Union européenne.

Le tampon AL contient du Triton X-100, 2-[4-(2,4,4-triméthylpentan-2-yl)phénoxy]éthanol (CAS 9002-93-1), une substance figurant sur la liste d'autorisations européenne (Annexe XIV) du règlement REACH (CE) nº 1907/2006. Les substances et les mélanges utilisés dans le cadre de la recherche-développement scientifique sont disposés des exigences d'autorisation s'ils sont utilisés selon un volume inférieur à une tonne par an.

La recherche-développement scientifique comprend les activités de recherche et d'analyse expérimentales à l'échelle d'un laboratoire, notamment la synthèse et les tests d'applications sur les produits chimiques, des tests de libération, etc. ainsi que l'utilisation de la substance pour la surveillance et le contrôle qualité de routine ou un diagnostic in vitro.

Marques de commerce et Licences

Mag-Bind®, HiBind®, E.Z.N.A.® et MicroElute® sont des marques déposées d' Omega Bio-tek, Inc.
DNA Genotek Oragene®, Mawi iSWAB™, Biomatrica® DNAgard® Saliva sont des marques de commerce de leurs sociétés respectives.
La méthode PCR est une procédure brevetée d'Hoffman-La Roche. L'utilisation de la procédure de PCR nécessite une licence..