

Nexxo-Prep PCR Clean-Up mini

Kit d'extraction d'ADN, par centrifugation sur colonne, pour la purification de produits de PCR, de digestion de restriction ou de synthèse d'ADNc.

Les amorces, enzymes, nucléotides non incorporés, colorants et autres impuretés sont efficacement éliminés, en environ 5 minutes, avec un taux de récupération de l'ADN de jusqu'à 95 %.

(ADN de 80 bp à 30 kb, max. 100 µl)

L'ADN obtenu peut être directement utilisé dans les applications down stream courantes (séquençage, clonage, digestions de restrictions, hybridation, marquage de l'ADN) ou être stocké pour une utilisation ultérieure.

I. Composants du kit

	10 preps ⁽¹⁾	50 preps	250 preps
Solution de fixation S1	X	12 ml (volume final 32 ml)	63 ml (volume final 163 ml)
Tampon d'éluion	X	3 x 2 ml	30 ml
Filtres de centrifugation	X	50	5 x 50
 Tubes receveurs 1,5 ml	X	50	5 x 50
 Tubes receveurs 2,0 ml	X	50	5 x 50
Notice	X	1	1
Réf. Catalogue	2037.10	2037.50	2037.250

Matériels et instruments non fournis

- Isopropanol >99.7 % (propanol-2 >99.7 %)
- Microtubes (1.5 ml et 2.0 ml)
- Microcentrifugeuse (min. 11100 x g)
- Pipettes et pointes de pipette
- Gants à usage unique

Certains composants de ce kit sont livrés sous forme concentrée et sont à diluer avant utilisation (voir chapitre « Préparation des réactifs et tampons », page 2).

⁽¹⁾ Le kit Nexxo-Prep PCR Clean-Up mini 10 preps est délivré sous la forme du kit Nexxo-Prep duo, Gel Extraction & PCR Clean-Up 10 preps. Le kit Nexxo-Prep duo, Gel Extraction & PCR Clean-Up, est constitué des composants du kit Nexxo-Prep PCR Clean-Up mini et des composants du kit Nexxo-Prep Gel Extraction DNA mini. Ce kit permet d'effectuer le nombre de purifications indiqué (10, 50 ou 250), sans pour autant avoir de contrainte sur le type d'extraction réalisé (gel/PCR).

II. Conditions de stockage et durée de validité

L'ensemble des composants de ce kit sont à stocker à température ambiante (15-30 °C).

L'isopropanol est un composé volatil. Bien refermer le flacon **Solution de fixation S1**.

Avant utilisation du kit, amener l'ensemble des composants à température ambiante et vérifier l'absence de précipités dans les solutions. Au besoin, chauffer avec précaution (< 30 °C) jusqu'à disparition du précipité.

Note : les composants du kit ont une durée de validité minimum de 12 mois (sous réserve de respecter les conditions de stockage).

III. Préparation des réactifs et tampons

1. Kit 10 extractions :

- Ajouter 7 ml de propanol-2 >99.7 % à la **Solution de fixation S1**.

2. Kit 50 extractions :

- Ajouter 20 ml de propanol-2 >99.7 % à la **Solution de fixation S1**.

3. Kit 250 extractions :

- Ajouter 100 ml de propanol-2 >99.7 % à la **Solution de fixation S1**.

IV. Protocole : purification de fragments d'ADN issu de PCR, de digestions de restriction ou de synthèse d'ADNc

Avant de commencer

- Vérifier que la préparation du kit, telle que décrite dans le chapitre « Préparation des réactifs et tampons », a été réalisée (voir page 2).

Remarque : en cas de présence ou d'apparition de précipités, chauffer avec précaution (< 30 °C) jusqu'à disparition du précipité.

Remarque : Afin d'éviter la contamination des liquides, changer de pointe de pipette après chaque prélèvement.

Selon les caractéristiques de l'échantillon, commencez par l'étape 1, 1 bis ou 1 ter.

1	Fixation de l'ADN au filtre de centrifugation (échantillons : <u>max. 50 µl</u>)
	<ul style="list-style-type: none">• Ajouter 250 µl de Solution de fixation S1 à l'échantillon (max. 50 µl) <hr/> <p><i>Remarque : pour les échantillons contenant de l'huile minérale (ex. échantillon de PCR), utiliser l'étape 1bis.</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Mélanger exhaustivement à l'aide d'une pipette ou vortexer• Placer un Filtre de centrifugation dans un Tube receveur 2.0 ml• Transférer la totalité de l'échantillon contenant la Solution de fixation S1 dans le Filtre de centrifugation• Centrifuger 2 min. à 11000 x g• Continuer avec l'étape 2 « Élution de l'ADN »

1 bis	Fixation de l'ADN au filtre de centrifugation (échantillons: <u>50 à 100 µl</u>)
	<ul style="list-style-type: none">• Ajouter 500 µl de Solution de fixation S1 à l'échantillon (50 à 100 µl)• Mélanger exhaustivement à l'aide d'une pipette ou vortexer• Placer un Filtre de centrifugation dans un Tube receveur 2.0 ml• Transférer la totalité de l'échantillon contenant la Solution de fixation S1 dans le Filtre de centrifugation• Centrifuger 2 min. à 11000 x g• Jeter le filtrat et remplacer le Filtre de centrifugation dans le Tube receveur 2.0 ml• Centrifuger 3 min. à 11000 x g• Continuer avec l'étape 2 « Élution de l'ADN »

Étapes 1 ter et 2 →

1 ter	Fixation de l'ADN au filtre de centrifugation (échantillons : <u>200 µl</u>)
	<ul style="list-style-type: none"> • Ajouter 1000 µl de Solution de fixation S1 à l'échantillon (max. 200 µl) <hr/> <p><i>Remarque : ajouter 500 µl de Solution de fixation S1 supplémentaire si l'échantillon contient de l'huile minérale.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Mélanger exhaustivement à l'aide d'une pipette ou vortexer • Placer un Filtre de centrifugation dans un Tube receveur 2.0 ml • Transférer env. la moitié de l'échantillon contenant la Solution de fixation S1 dans le Filtre de centrifugation • Centrifuger 2 min. à 11000 x g • Jeter le filtrat et replacer le Filtre de centrifugation dans le Tube receveur 2.0 ml • Transférer le restant de l'échantillon contenant la Solution de fixation S1 dans le Filtre de centrifugation • Centrifuger 2 min. à 11000 x g • Jeter le filtrat et replacer le Filtre de centrifugation dans le Tube receveur 2.0 ml • Centrifuger 3 min. à 11000 x g • Continuer avec l'étape 2 « Élution de l'ADN »

2	Élution de l'ADN
	<ul style="list-style-type: none"> • Placer le Filtre de centrifugation dans un nouveau Tube receveur 1.5 ml • Ajouter au minimum 10 µl de Tampon d'élution (ou ddH₂O, ou tampon Tris), au centre du filtre • Incuber 1 min. à température ambiante • Centrifuger 1 min. à 11000 x g <p><i>Remarque : une augmentation du temps d'incubation à 5 min. accroît légèrement le rendement d'extraction.</i></p>

L'ADN ainsi obtenu peut être utilisé directement dans les applications Down-stream courantes, telles que le séquençage, le clonage, les digestions de restrictions, l'hybridation, le marquage de l'ADN, etc. ou peut être stocké à 4 °C pendant plusieurs semaines.

Pour un stockage sur un plus long terme, stocker l'ADN à -20 °C.

Remarque : le kit a été calculé pour des échantillons de jusqu'à 100 µl. La variante du protocole pour les échantillons de 200 µl (1 ter) réduit le nombre de purifications.