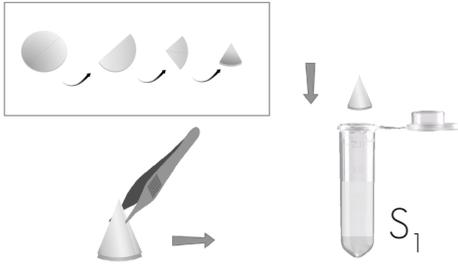




DNA PURE-FLASH

protocole illustré

EXTRACTION



1. Après filtration de l'échantillon, plier le filtre en 8 comme indiqué, et la placer dans le tube de lysis buffer (S_1) pointe vers le haut.



2. Effectuer la lyse thermique : 15 minutes à 95°C, puis retirer la membrane et la jeter.



3. Centrifuger le tube 2 minutes entre 500 et 1000 g, ou laisser décanter 5 minutes.

PURIFICATION



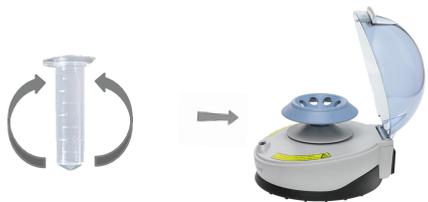
4. Transférer 1 ml de surnageant dans un tube neuf de 2 ml. Attention à ne pas prélever de résine.



5. Ajouter 2 gouttes de binding buffer (S_2) dans le tube.



6. Agiter doucement par 3 retournements, puis transférer la totalité de la solution dans le tube contenant la résine WCX.



7. Agiter au vortex 20 secondes à 2 000 RPM puis centrifuger 30 secondes à 2000 g.



8. Eliminer le surnageant manuellement ou à l'aide d'une pompe à vide.



9. Ajouter 100 µl de la solution d'elution buffer (S_3) dans le tube contenant la résine.



10. Placer les tubes dans le thermomixer et mettre sous agitation orbitale : >1500 RPM à 75°C +/- 5°C pendant 10 minutes.



11. Centrifuger 1 minute à 2000 g et récupérer 100 µl du surnageant. Stocker à -20°C ou mettre en analyse qPCR immédiatement.

ERGONOMIE

- Stabilité des consommables à 5°C pendant plus de 6 mois
- Durée du protocole inférieure à 30 minutes pour 5 échantillons
- Temps de main d'œuvre réduit



30 min

MATÉRIEL NÉCESSAIRE

- Centrifugeuse de paillasse
- Thermomixer
- Pipettes de précision P200, P1000
- Accès au vide



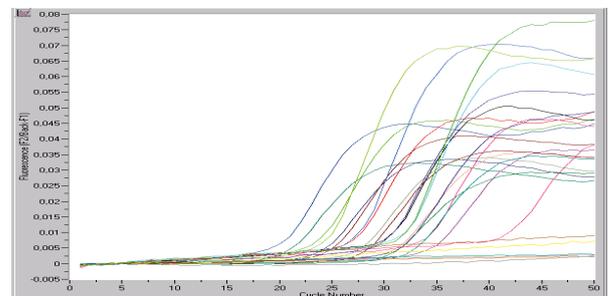
CALCUL DU RÉSULTAT

$$UG/L = UG_{PCR} \times Z \times 1/V$$

avec $Z = 44$

$$UG_{PCR} = UG \text{ quantifié par qPCR dans } 5\mu l$$

$V =$ Volume de l'échantillon filtré en litre



PERFORMANCES

- Rendement supérieur à 50% sur toutes matrices
- Purification très efficace, moins d'1% d'échantillon inhibé
- LDmini (1 litre filtré) = 44 UG/L
- LQmini (1 litre filtré) = 660 UG/L (avec $LQ_{pcr} = 20 \text{ UG}/5\mu l$)