

# Очистка смеси от коротких фрагментов

Кат. номер: K0910

**Назначение:** удаление коротких фрагментов

**Условия хранения:** +4°C

**Условия транспортировки:** особых условий не требуется

Содержание:

1. Описание	1
2. Особенности применения	2
3. Протокол очистки смеси дцДНК от коротких фрагментов	3
4. Связанные продукты	3
5. Контактные данные	3

## Состав набора

Набор содержит количество реагентов, достаточное для проведения 100 процедур выделения. Одно выделение предполагает использование 500 нг дцДНК.

### Компонент набора

• Буфер <b>Dilution</b>	20 мл
• Буфер <b>Cut-Off</b>	10 мл
• Буфер <b>Binding</b>	20 мл
• Магнитные частицы	0.5 мл
• Буфер <b>Wash 1</b>	50 мл
• Буфер <b>Wash 2</b>	50 мл
• Буфер <b>Elution</b>	10 мл

## 1. Описание

Предлагаемый набор позволяет удалять короткие фрагменты меньше 300 п.н. из смеси, состоящей из двухцепочечных ДНК (дцДНК). Благодаря набору имеется возможность выполнять эффективную очистку дцДНК по размеру для приложений NGS, ПЦР и общей молекулярной биологии. Набор можно использовать как для ручных, так и для автоматизированных рабочих процессов.

В наборе используются магнитные частицы со специально модифицированной поверхностью. Данная модификация позволяет осуществлять селективное связывание в контролируемых условиях.

Короткие фрагменты представляют собой: праймеры, праймер-димеры, отдельные трифосфаты (в том числе меченые различными метками), нуклеотидные зонды или адапторы, не пришившиеся в процессе лигирования, короткие ампликоны и т.п..

Короткие фрагменты могут мешать при:

- последующем секвенировании образца,
- лигировании с другими нуклеотидными зондами,
- иммобилизации образца на поверхности для последующего секвенирования методом NGS или с целями использования для дальнейшей гибридизации.

Наличие адапторов, которые не были полностью пришиты и остаются в пробе, является большой проблемой при чиповом секвенировании (NGS), так как свободные адапторы (обычно от 60 до 150 п.н.) более эффективно связываются с поверхностью и ухудшают результаты секвенирования.

## 2. Особенности применения

При использовании набора нужно принимать во внимание особенности его работы.

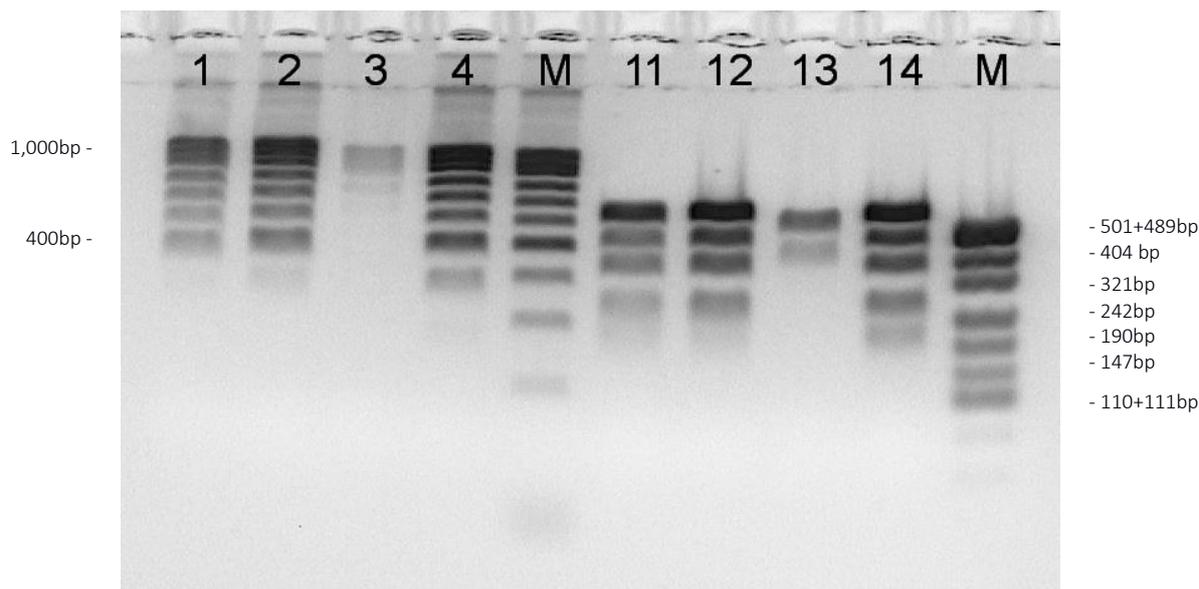
Основной принцип функционирования набора – преимущественная сорбция фрагментов длиннее определенного размера.

На практике это работает таким образом (правило 30%) – преимущественно удаляются фрагменты, имеющие размер до 30% от максимальной длины фрагментов в смеси.

В качестве примера приводится электрофорез, на котором видно, как удаляются короткие фрагменты у маркеров длин фрагментов 50-1000 п.н. и pUC19/Msp I, 26-501 п.н..

У маркера длин фрагментов 50-1000 п.н. удаляются фрагменты короче 300 п.н..

У маркера длин фрагментов pUC19/Msp I, 26-501 п.н. удаляются фрагменты короче 150 п.н..



		Образец	Dilution + Cut-Off Buf.	Binding Buf.	Mag.Part.	Elution Volume	Образец/Проба
Маркер 50 - 1,000 п.н.	1	15 µL	285 µL	185 µL	5 µL	15 µL	375 ng
	2	20 µL	285 µL	185 µL	5 µL	15 µL	500 ng
	3	30 µL	285 µL	185 µL	5 µL	15 µL	750 ng
	4	30 µL	2x285 µL	2x185 µL	5 µL	15 µL	750 ng
	M						375 ng
Маркер pUC19 / Msp I	11	15 µL	285 µL	185 µL	5 µL	15 µL	375 ng
	12	20 µL	285 µL	185 µL	5 µL	15 µL	500 ng
	13	30 µL	285 µL	185 µL	5 µL	15 µL	750 ng
	14	30 µL	2x285 µL	2x185 µL	5 µL	15 µL	750 ng
	M						375 ng

Как видно из приводимого электрофореза и схемы опыта, важно соблюдать соотношения количеств вносимого образца и всех остальных добавляемых компонентов.

Процедура является масштабируемой при соблюдении предлагаемых в протоколе соотношений.

### 3. Протокол очистки смеси дцДНК от коротких фрагментов

Протокол рассчитан на очистку приблизительно 500 нг дцДНК в одной процедуре.  
Протокол можно масштабировать при соблюдении соотношений используемых компонентов.

1. Внесите в 1.5 мл пробирку **образец (максимальный объем – 200 мкл)**.  
Общее количество нуклеиновой кислоты в образце должно составлять около 500 нг.
2. Добавьте буфер **Dilution до конечного объема 200 мкл**. Тщательно перемешать пипетированием.  
Если было внесено 200 мкл образца, вносить буфер **Dilution** не нужно:  $V_{\text{Dilution}} = 200 \text{ мкл} - V_{\text{образец}}$
3. Добавьте **100 мкл** буфера **Cut-Off**. Тщательно перемешать пипетированием.
4. Добавьте **185 мкл** буфера **Binding**. Тщательно перемешать пипетированием.
5. Внесите **5 мкл Магнитных Частиц**. Тщательно перемешать пипетированием.  
Инкубировать с периодическим пипетированием **5 минут при комнатной температуре**.
6. Поместить пробирку **в магнитный штатив**, удалить супер.
7. Поместить пробирку в немагнитный штатив. Внесите **500 мкл** буфера **Wash 1**.  
Тщательно перемешать пипетированием.
8. Поместить пробирку **в магнитный штатив**, удалить супер.
9. Поместить пробирку в немагнитный штатив. Внесите **500 мкл** буфера **Wash 2**.  
Тщательно перемешать пипетированием.
10. Поместить пробирку **в магнитный штатив**, удалить супер.
11. Перенести пробирку в термоблок и сушите магнитные частицы в течение **5 минут при +60 °C**.
12. Поместите пробирку в немагнитный штатив. Внесите **15 мкл** дистиллированной воды или буфера **Elution**. Тщательно перемешать пипетированием. Объем, используемый для элюции, может быть другим, в зависимости от последующей задачи.  
Инкубировать **5 минут при комнатной температуре**.
13. Поместить пробирку **в магнитный штатив**, перенесите супер в чистую пробирку.

### 4. Связанные продукты

- LabMix Mini 201, лабораторный миксер, кат. номер EQMM201  
Миксер позволяет ускорить процедуру выделения, заменяя пипетирование
- Магнитные штативы для работы с магнитными частицами:  
MagRack6, кат. номер EQMR006-2  
MagRack16, кат. номер EQMR016  
MagRack40, кат. номер EQMR040  
MagRack50ML, кат. номер EQMR50ML

### 5. Контактные данные

телефон: +7 495 737 4224

эл. почта: info@sileks.com