

ИНСТРУКЦИЯ

SynMag Beads

Магнитные частицы для очистки и разделения ДНК по размерам





Используемые пиктограммы

Знак	Описание				
***	Производитель				
REF	Каталожный номер				
<u> </u>	Срок годности				
LOT	Номер лота				
1	Температурный режим хранения				
Σ	Минимальное количество очисток				
195% 19 72 195 195 198	Ссылка на информацию, размещенную на сайте производителя				

Информация о продукте

Магнитные частицы для очистки и разделения ДНК по размерам







SynMag Beads -500 мл

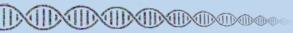
Информация о производителе

125499, Москва, Кронштадтский б-р, 39 к1 e-mail: syntol@syntol.ru









Описание продукта

Магнитные частицы **SynMag Beads** предназначены для очистки и разделения ДНК по размерам (size selection), в частности для очистки продуктов ПЦР, лигирования и других реакций от не включившихся в реакцию компонентов (в том числе праймеров, солей, нуклеозидтрифосфатов и ферментов). **SynMag Beads также** предназначен для работы с малыми количествами ДНК. Выделенная ДНК пригодна для тагментации, рестрикции, лигирования, ПЦР и других молекулярно-биологических приложений.

Магнитные частицы оптимизированы для проведения очистки с использованием магнитных штативов (например, М-16, Синтол; МагниРэк-3202-ОС или МагниРэк- 9602-ОСП-Р, Хеликон). На этапе промывки частиц необходимо использовать свежеприготовленный 80%-й водный раствор этилового спирта, а на этапе элюции очищенного продукта – деионизированную воду или 0.1х ТЕ-буфер. Указанные компоненты приобретаются отдельно.

Компонент	SynMag Beads - 10	SynMag Beads - 50	SynMag Beads - 500
SynMag Beads	1 флакон, 10 мл	1 флакон, 50 мл	1 флакон, 500 мл

Рекомендации по использованию, хранению и транспортировке магнитных частиц

- Рекомендуемый температурный режим хранения от +2 °C до +8 °C.
- Перед использованием прогрейте флакон с раствором магнитных частиц до комнатной температуры.
- Перед использованием тщательно перемешайте суспензию магнитных частиц.
- Используйте средства индивидуальной защиты, такие как одноразовые перчатки, защитные очки, маски и т.п.
- Срок годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.
- Транспортировка: при комнатной температуре в сухом, защищенном от света месте в упаковке производителя.

Важно!!! Магнитные частицы нельзя замораживать.

Описание метода

Использован принцип обратимой сорбции/десорбции ДНК на/с поверхности магнитных частиц. Частицы находятся в буферном растворе, позволяющем избирательно связывать фрагменты ДНК нужной длины в зависимости от соотношения объемов раствора магнитных частиц и очищаемой реакционной смеси в диапазоне длин ДНК от 100 до 1000 и более пар нуклеотидов. Частицы, сорбировавшие ДНК, под действием магнитного поля штатива (магнитный штатив не входит в комплект поставки) собираются в виде осадка у стенки пробирки. Профиль сорбции ДНК на частицах зависит от отношения объема исходного образца к объему добавленного вместе с частицами буфера (точность пипетирования влияет на качество очистки и разделения по размерам). Не сорбировавшаяся ДНК меньших размеров, нуклеотиды, праймеры, соли, белки, ингибиторы ферментативных реакций и другие соединения остаются в растворе. При необходимости оставшуюся





в растворе ДНК можно связать частицами при добавлении к раствору, снятому с частиц нового объема **SynMag Beads**. Профиль распределения по длинам связанной ДНК зависит от отношения объема исходного образца к объему добавленного вместе с частицами буфера. Промывки 80%-м этанолом магнитных частиц, связавших ДНК заданного диапазона длин, позволяют избавиться от лишних примесей. С магнитных частиц ДНК элюируется деионизированной водой или низкосолевым слабощелочным буфером (например, 0.1x TE).

SynMag Beads обладают предельной емкостью **10 нг ДНК на 1 мкл** суспензии магнитных частиц для ДНК, фрагментированной в диапазоне от 100 до 1000 п.н. с максимумом распределения длин около 550 п.н.

Выход ДНК при использовании **SynMag Beads** достигает **90%** и зависит от размера очищаемой ДНК, объема добавленной суспензии магнитных частиц, плотности и качества распределения частиц по объему на этапе связывания ДНК.

Для получения более прогнозируемых результатов при работе с **SynMag Beads** необходимо учитывать рабочую концентрацию ДНК и использовать пластик с низкой сорбцией ДНК.

Важно!!! Перед использованием раствора магнитных частиц необходимо ознакомиться с рекомендациями, изложенными в этой инструкции.

Необходимое оборудование и дополнительные материалы

- Магнитный штатив (например, для пробирок 1,5–2 мл М-16, Синтол; для стрипованных пробирок 0,2 мл МагниРэк-3202-ОС, Хеликон; для планшетов 0,2 мл МагниРэк- 9602-ОСП-Р, Хеликон).
- Мини-центрифуга (например, SPINNIX, Айвок).
- Микроцентрифужные пробирки (объем зависит от типа используемого магнитного штатива).
- Вода деионизированная, свободная от нуклеаз (например, В-057, Синтол), или любой низкосолевой раствор для элюции ДНК (например, В-014, Синтол).
- Этанол 96%.
- Дозаторы переменного объема со сменными наконечниками к ним.

Pacxod SynMag Beads и дополнительных компонентов на очистку и разделение ДНК по размерам одного образца

Компонент	Объем реакции 10 мкл	Объем реакции 20 мкл	Объем реакции 50 мкл
SynMag Beads	До 18 мкл	До 36 мкл	До 90 мкл
Свежеприготовленный 80%- й этиловый спирт*	От 180 мкл	От 180 мкл	От 180 мкл
Деионизированная вода (или 0.1x TE)*	От 10 мкл	От 20 мкл	От 20 мкл

^{*} компонент приобретается отдельно



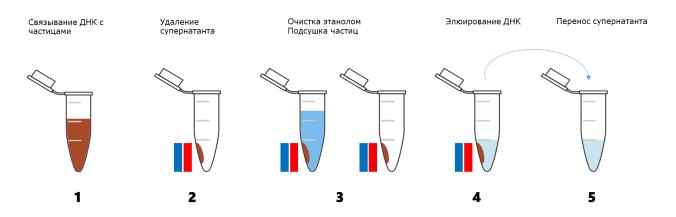


Объем раствора SynMag Beads, необходимый для очистки ДНК от низкомолекулярных примесей, считается по формуле:

$$V_{SMB}=1.8*V_{JHK}$$

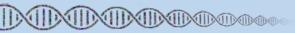
где V_{SMB} – объем вносимого компонента SynMag Beads (мкл), $V_{\text{днк}}$ – объем очищаемой ДНК (мкл). В случае очистки и разделения ДНК по размерам в объеме, отличном от указанного в таблице, следует пересчитать объем добавляемого компонента SynMag Beads.

Очистка ДНК от компонентов реакции и низкомолекулярной ДНК длиной до 100 п.н.



- 1. Приготовьте свежий 80%-й водный раствор этилового спирта, смешав 5 объемов 96%-го спирта и 1 объем ddH_2O .
 - ВАЖНО!!! Не рекомендуется использовать ранее приготовленный раствор 80%-го этилового спирта.
- 2. После окончания реакции в пробирку с реакционной смесью добавьте необходимый объем компонента SynMag Beads (расчетная формула представлена в предыдущем пункте).
- 3. Инкубируйте раствор 5–10 минут при комнатной температуре, перемешивая смесь пипетированием 3–5 раз каждую минуту, после чего осадите капли на стенках пробирки на микроцентрифуге и установите пробирки в магнитный штатив.
- 4. После полного примагничивания частиц к стенке пробирки (1–3 минуты) тщательно удалите всю жидкость, не затрагивая магнитные частицы.
 - ВАЖНО!!! От полноты удаления надосадочной жидкости зависит качество очистки продуктов реакции.
- 5. Добавьте в пробирку 180 мкл свежего 80%-го этилового спирта, достаньте пробирку из магнитного штатива и перемешайте содержимое пипетированием 5–10 раз, после чего осадите капли на стенках пробирки на микроцентрифуге и снова установите пробирку в магнитный штатив.
- 6. После полного примагничивания частиц к стенке пробирки тщательно удалите всю жидкость, не затрагивая магнитные частицы.
- 7. Оставьте пробирки открытыми на воздухе в течение 3–5 минут.
- ВАЖНО!!! Пересушивание сорбента приводит к снижению количества элюируемой ДНК.
- 8. Для элюции ДНК:
 - 8.1 Достаньте пробирку из магнитного штатива.





8.2 Внесите в нее необходимый объем деионизированной воды (или 0,1х ТЕ).

ВАЖНО!!! При внесении малого объема воды при элюции возможны потери ДНК при последующем отборе надосадочной фракции с магнитных частиц.

- 8.3 Перемешайте смесь пипетированием 5-10 раз.
- 8.4 Инкубируйте 3–5 минут при комнатной температуре.
- 8.5 Осадите капли на стенках пробирки на микроцентрифуге.
- 8.6 Снова установите пробирку в магнитный штатив.
- 9. После полного примагничивания частиц к стенке пробирки (1 минута) тщательно, не затрагивая магнитные частицы, соберите всю жидкую фракцию, содержащую ДНК, и аккуратно перенесите ее в новую пробирку.
- 10. Препарат ДНК готов для использования в следующих приложениях.

Очистка и разделение ДНК по размерам



1. Приготовьте свежий 80%-й водный раствор этилового спирта, смешав 5 объемов 96%-го спирта и 1 объем ddH_2O .

ВАЖНО!!! Не рекомендуется использовать ранее приготовленный раствор 80% -го этилового спирта.

2. Для получения фрагментов ДНК в нужном диапазоне длин в пробирку с реакционной смесью добавьте объем суспензии магнитных частиц SynMaq Beads согласно таблице ниже.

Объем ре- акционной	Диапазоны длин выделяемых фрагментов ДНК и рекомендуемый объем SynMag Beads, необходимый для их выделения, мкл							
смеси, мкл	от 130 до 170	от 150 до 200	от 180 до 220	от 220 до 280	от 280 до 320	от 320 до 400	от 450 до 550	от 600 до 800
10	11	10	9	8	7	6	5	4
20	22	20	18	16	14	12	10	8
50	55	50	45	40	35	30	25	20

- 3. Инкубируйте раствор 5–10 минут при комнатной температуре, перемешивая смесь пипетированием 3–5 раз каждую минуту, после чего осадите капли на стенках пробирки на микроцентрифуге и установите пробирки в магнитный штатив.
- 4. После полного примагничивания частиц к стенке пробирки (1–3 минуты) тщательно соберите всю надосадочную жидкость, не затрагивая магнитные частицы, и перенесите в новую подготовленную пробирку. Контролируйте полноту переносимой жидкости, не допуская переноса магнитных частиц.





5. Для связывания с магнитными частицами оставшихся в растворе целевых фрагментов ДНК добавьте в пробирку с надосадочной жидкостью (см. пункт 4) новый объем суспензии магнитных частиц SynMag Beads в зависимости от начального объема реакции и повторите действия из пункта 3.

Компонент	Объем реакции 10 мкл	Объем реакции 20 мкл	Объем реакции 50 мкл
SynMag Beads V _{SMB} =0,2*V _{ДНК}	2 мкл	4 мкл	10 мкл

6. После полного примагничивания частиц к стенке пробирки (1–3 минуты) тщательно удалите всю жидкость, не затрагивая магнитные частицы.

ВАЖНО!!! От полноты удаления надосадочной жидкости зависит качество очистки продуктов реакции.

- 7. Добавьте в пробирку, содержащую магнитный сорбент, 180 мкл свежего 80%-го этилового спирта, достаньте пробирку из магнитного штатива и перемешайте содержимое пипетированием 5–10 раз, после чего осадите капли на стенках пробирки на микроцентрифуге и снова установите пробирку в магнитный штатив.
- 8. После полного примагничивания частиц к стенке пробирки тщательно удалите всю жидкость, не затрагивая магнитные частицы.
- 9. Оставьте пробирки открытыми на воздухе в течение 3–5 минут.

ВАЖНО!!! Пересушивание сорбента приводит к снижению количества элюируемой ДНК.

- 10. Для элюции ДНК:
 - 10.1 Достаньте пробирку из магнитного штатива.
 - 10.2 Внесите в нее необходимый объем деионизированной воды (или 0,1х ТЕ).

ВАЖНО!!! При внесении малого объема воды при элюции возможны потери ДНК при последующем отборе надосадочной фракции с магнитных частиц.

- 10.3 Перемешайте смесь пипетированием 5–10 раз.
- 10.4 Инкубируйте 3–5 минут при комнатной температуре.
- 10.5 Осадите капли на стенках пробирки на микроцентрифуге.
- 10.6 Снова установите пробирку в магнитный штатив.
- 11. После полного примагничивания частиц к стенке пробирки (1 минута) тщательно, не затрагивая магнитные частицы, соберите всю жидкую фракцию, содержащую ДНК, и аккуратно перенесите ее в новую пробирку.
- 12. Препарат готов для использования в следующих приложениях.

Поддержка пользователей:

Для получения технической поддержки обращайтесь по email: syntol@syntol.ru

