








# Набор реагентов для подготовки геномных библиотек для массового параллельного секвенирования

## Используемые пиктограммы

Знак	Описание
	Производитель
	Каталожный номер
	Срок годности
	Номер лота
	Температурный режим хранения
	Минимальное количество реакций
	Ссылка на информацию, размещённую на сайте производителя

## Информация о продукте

### SyntEra ДНК

Набор реагентов «SyntEra» предназначен для подготовки геномных библиотек для массового параллельного секвенирования

Кат №	Количество реакций
NGS-01-32	32
NGS-01-96	96

### SyntEra 2 ДНК

Набор реагентов «SyntEra 2» предназначен для подготовки геномных библиотек для массового параллельного секвенирования

Кат №	Количество реакций
NGS-02-32	32
NGS-02-96	96

## Информация о производителе



125499, Москва, Кронштадтский б-р, 39 к1

syntol@syntol.ru



## Описание и состав набора

Набор реагентов «SyntEra» предназначен для подготовки геномных библиотек для массового параллельного секвенирования

КОМПОНЕНТ	NGS-01-32	NGS-01-96	NGS-02-32	NGS-02-96
Магнитные частицы SynMag	10 мл	2x10 мл	10 мл	2x10 мл
2X PCR Mix	1 мл	3x1 мл	1 мл	3x1 мл
TAG-Буфер	1 мл	3x1 мл	–	–
Тагментаза TAG	40 мкл	110 мкл	–	–
Иммобилизованная тагментаза TAG IMM	–	–	800 мкл	2x1 мл
ddH <sub>2</sub> O	1,7 мл	3x1,7 мл	1,7 мл	3x1,7 мл
96 пар индексирующих праймеров	15 мкл	15 мкл	15 мкл	15 мкл

## Рекомендации к использованию набора

1. Рекомендуемый температурный режим хранения:

- **-20 °C** для всех компонентов, кроме магнитных частиц.
- **Магнитные частицы SynMag** – хранить при температуре **+4 °C**.

2. После размораживания тщательно перемешайте каждый компонент на вортексе в течение нескольких секунд.

3. Перед началом операций необходимо прогреть все реактивы до комнатной температуры.

## Рекомендуемое оборудование

Оборудование	Производитель
Флуориметр «Qubix»	Айвок х «СИНТОЛ»
Амплификатор ДТклассик, ДТпрайм (или аналоги)	ООО «ДНК-Технология»

### Требования к ДНК

- ДНК без примеси РНК
- Чистота образца (OD260/OD280): 1,8–2,0
- A260/230:  $\geq 2,0$
- Количество: 1–100 нг

### Тагментирование

1.1. В **20 мкл\*** реакционного буфера **TAG-Буфер** внести **1 мкл** фермента **TAG** и **2 мкл** образца ДНК (концентрация: **1-50 нг/мкл**). Тщательно перемешать.

\*При необходимости объем реакционной смеси может быть увеличен путем добавления еще 20 мкл реакционного буфера **SyntEra TAG буфер**.

1.2. Инкубировать в термостате при 55 °С в течение 5 минут.

### Очистка после тагментирования

2.1. К проинкубированной с ДНК реакционной смеси добавить 2 объема магнитных частиц **SynMag (46 мкл)**, тщательно перемешать, инкубировать 5 минут при комнатной температуре.

2.2. Перенести пробирки на магнитный штатив, подождать 1-5 минут, пока раствор не станет прозрачным, удалить супернатант, не задевая магнитные частицы.

2.3. Не снимая пробирки с магнитного штатива добавить **200 мкл** свежеприготовленного 80% водного раствора этанола. Подождать 30 секунд, удалить супернатант, не задевая магнитные частицы. Повторить данный шаг еще один раз.

2.4. Оставить пробирки с открытыми крышками на 2-3 минуты.

2.5. Снять пробирки с магнитного штатива и добавить **22 мкл ddH<sub>2</sub>O**, тщательно перемешать и инкубировать 5 минут при комнатной температуре.

2.6. Перенести пробирки на магнитный штатив, подождать 1-2 минуты, пока раствор станет прозрачным, и перенести **20 мкл** супернатанта в новую пробирку 0,2 мл.

## Тагментирование

- 1.1 В **20 мкл TAG IMM** (суспензии магнитных шариков с тагментазой) добавить **1-20 мкл** ДНК (концентрация: **1-100 нг/мкл**). Тщательно перемешать.
- 1.2. Инкубировать в термостате при **55 °С** в течение **5 минут**.

## Очистка после тагментирования

- 2.1. К проинкубированной с ДНК реакционной смеси добавить **2** объёма магнитных частиц **SynMag (46 мкл)**, тщательно перемешать, инкубировать **5 минут** при комнатной температуре.
- 2.2. Перенести пробирки на магнитный штатив, подождать **1-2 минуты**, пока раствор не станет прозрачным, удалить супернатант, не задевая магнитные частицы.
- 2.3. Не снимая пробирки с магнитного штатива добавить **200 мкл** свежеприготовленного **80%** водного раствора этанола. Подождать **30 секунд**, удалить супернатант, не задевая магнитные частицы. Повторить данный шаг еще один раз.
- 2.4. Оставить пробирки с открытыми крышками на **2-3 минуты**.
- 2.5. Снять пробирки с магнитного штатива и добавить **22 мкл ddH<sub>2</sub>O**, тщательно перемешать и инкубировать **5 минут** при комнатной температуре.
- 2.6. Перенести пробирки на магнитный штатив, подождать **1-2 минуты**, пока раствор станет прозрачным, и перенести **20 мкл** супернатанта в новую пробирку **0,2 мл**.

## Амплификация

3.1. К **20 мкл** элюата из этапа 2.6. добавить **25 мкл** амплификационной смеси **SyntEra 2X PCR** и **5 мкл** смеси индексированных праймеров.

3.2. Тщательно перемешать. Перенести пробирки в амплификатор и запустить следующую программу:

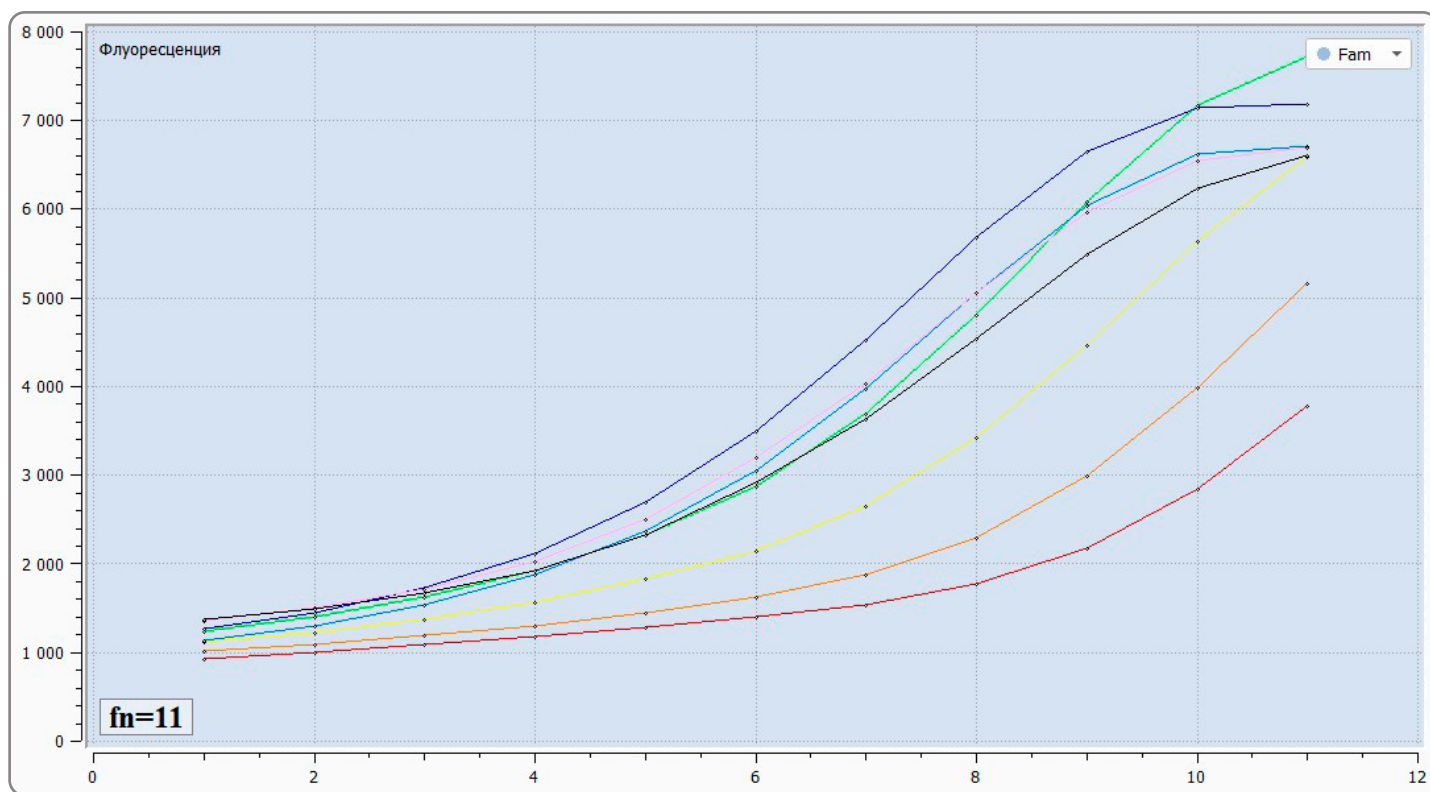
**Таблица 1.** Программа амплификации

Температурный режим	Время	Количество циклов *
72 °C	30 секунд	6-12
95 °C	1 минуты	
95 °C	10 секунд	
55 °C	30 секунд	
72 °C	30 секунд	
10 °C	Hold	

\* В зависимости от количества ДНК, внесенной в реакцию тагментирования:

КОЛИЧЕСТВО ДНК	ЦИКЛЫ ПЦР
0,1 - 1 нг	11 - 12
2 - 5 нг	9 - 10
10 - 100 нг	6 - 8

ПЦР в реальном времени на приборе ДТпрайм II:



**Рисунок 1.** Данные роста сигнала флуоресценции при амплификации тагментированных образцов с исходным количеством **1, 2, 4, 8, 16, 25, 50, 100** и **200** нг ДНК, соответственно.

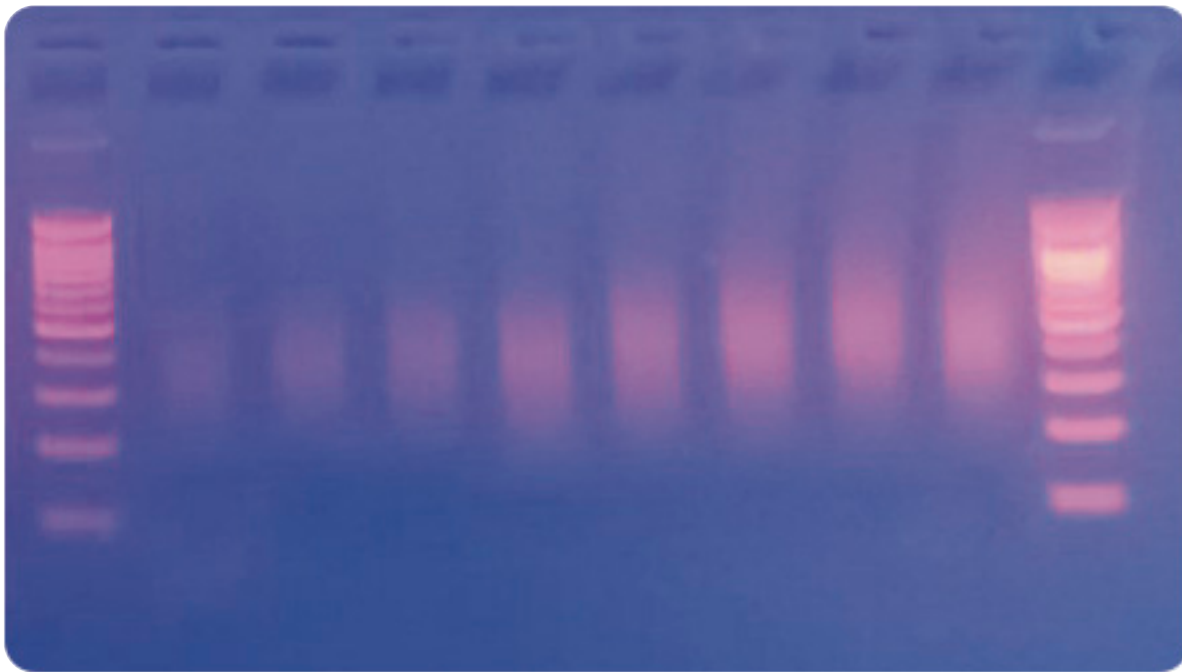


Рисунок 2. Пример результатов агарозного фореа библиотек после амплификации и очистки на магнитных частицах **SynMag beads**

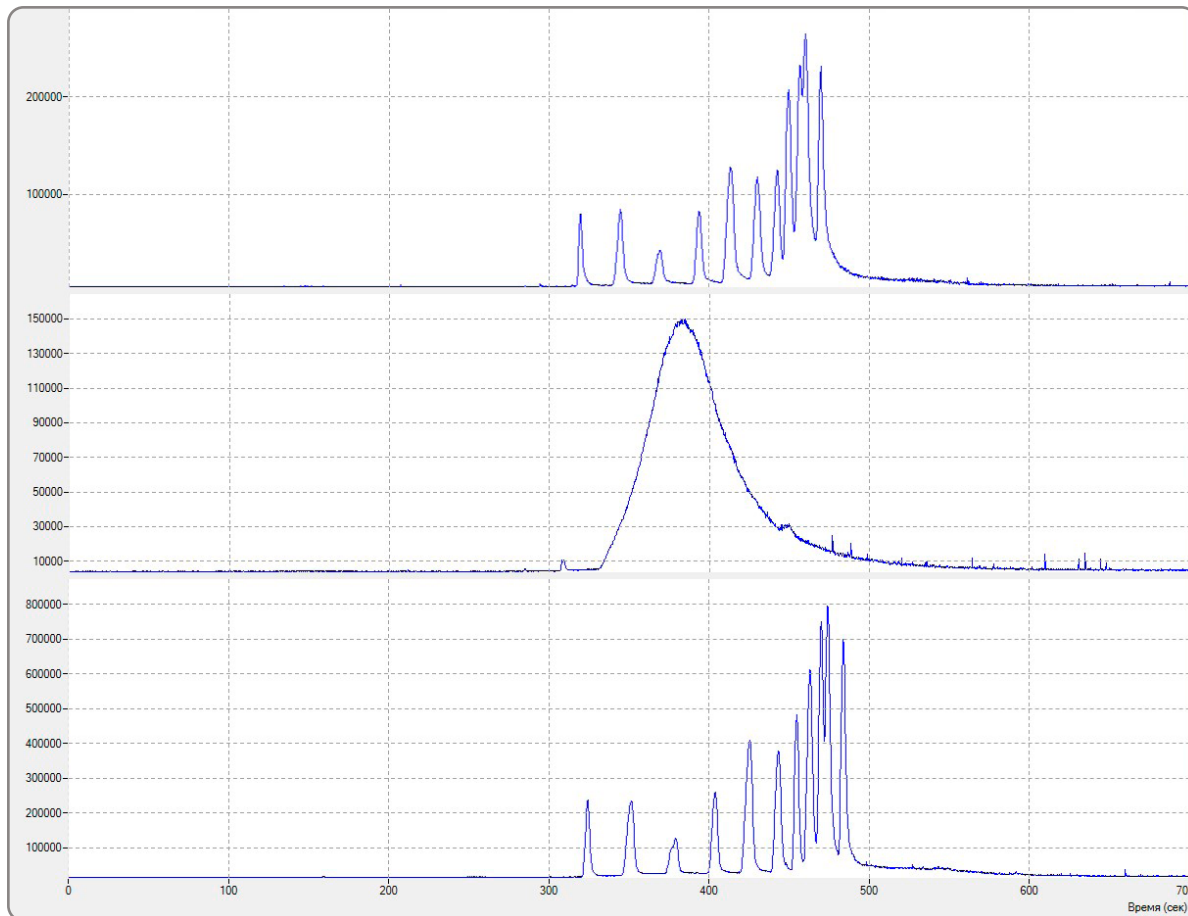


Рисунок 3. Пример результатов капиллярного гель-электрофореза библиотеки на приборе **Нанофор 05**

## Очистка после амплификации

4.1. После амплификации добавить к ПЦР продукту 1 объем магнитных частиц **SynMag (50 мкл)**. Тщательно перемешать и инкубировать 5 минут при комнатной температуре.

4.2. Перенести пробирки на магнитный штатив, подождать 1-2 минуты, пока раствор станет прозрачным, удалить супернатант, не задевая магнитные частицы.

4.3. Не снимая пробирки с магнитного штатива, добавить **200 мкл** свежеприготовленного 80% водного раствора этанола. Подождать 30 секунд, удалить супернатант, не задевая магнитные частицы. Повторить данный шаг еще один раз.

4.4. Оставить пробирки с открытыми крышками на 2-3 минуты.

4.5. Снять пробирки с магнитного штатива и добавить **31 мкл ddH<sub>2</sub>O**, тщательно перемешать и инкубировать 5 минут при комнатной температуре.

4.6. Перенести пробирки на магнитный штатив, подождать 1-2 минуты, пока раствор не станет прозрачным, и перенести **30 мкл** супернатанта в новую пробирку 0,2 мл.

**Измерить концентрацию полученных библиотек на флуориметре.**

Расположение индексов в плашке

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1	9	17	25	33	41	49	57	65	73	81	89
B	2	10	18	26	34	42	50	58	66	74	82	90
C	3	11	19	27	35	43	51	59	67	75	83	91
D	4	12	20	28	36	44	52	60	68	76	84	92
E	5	13	21	29	37	45	53	61	69	77	85	93
F	6	14	22	30	38	46	54	62	70	78	86	94
G	7	15	23	31	39	47	55	63	71	79	87	95
H	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	96

## UDI ADAPTER 1

0001-0032

>UDP0001\_INDEX\_1  
CGCTCAGTTC  
>UDP0002\_INDEX\_1  
TATCTGACCT  
>UDP0003V3\_INDEX\_1  
TCGGATGTCG  
>UDP0004\_INDEX\_1  
CTTATGGAAT  
>UDP0005V3\_INDEX\_1  
TCCTATTGTG  
>UDP0006\_INDEX\_1  
GCGCGATGTT  
>UDP0007\_INDEX\_1  
AGAGCACTAG  
>UDP0008\_INDEX\_1  
TGCCTTGATC  
>UDP0009\_INDEX\_1  
CTACTCAGTC  
>UDP0010\_INDEX\_1  
TCGTCTGACT  
>UDP0011\_INDEX\_1  
GAACATACGG  
>UDP0012\_INDEX\_1  
CCTATGACTC  
>UDP0013\_INDEX\_1  
TAATGGCAAG  
>UDP0014\_INDEX\_1  
GTGCCGCTTC  
>UDP0015\_INDEX\_1  
CGGCAATGGA  
>UDP0016\_INDEX\_1  
GCCGTAACCG  
>UDP0017\_INDEX\_1  
AACCATTCTC  
>UDP0018\_INDEX\_1  
GGTTGCCTCT  
>UDP0019\_INDEX\_1  
CTAATGATGG  
>UDP0020\_INDEX\_1  
TCGGCCTATC  
>UDP0021\_INDEX\_1  
AGTCAACCAT  
>UDP0022\_INDEX\_1  
GAGCGCAATA  
>UDP0023\_INDEX\_1  
AACAAGGCGT  
>UDP0024\_INDEX\_1  
GTATGTAGAA  
>UDP0025\_INDEX\_1  
TTCTATGGTT  
>UDP0026\_INDEX\_1  
CCTCGCAACC  
>UDP0027\_INDEX\_1  
TGGATGCTTA  
>UDP0028\_INDEX\_1  
ATGTCGTGGT  
>UDP0029\_INDEX\_1  
AGAGTGCGGC  
>UDP0030\_INDEX\_1  
TGCCTGGTGG  
>UDP0031\_INDEX\_1  
TGCCTGTAC  
>UDP0032\_INDEX\_1  
CATACACTGT

0033-0064

>UDP0033\_INDEX\_1  
CGTATAATCA  
>UDP0034\_INDEX\_1  
TACGGCGCTG  
>UDP0035\_INDEX\_1  
GCGAGTTACC  
>UDP0036\_INDEX\_1  
TACGGCCGGT  
>UDP0037\_INDEX\_1  
GTCGATTACA  
>UDP0038\_INDEX\_1  
CTGTCTGCAC  
>UDP0039\_INDEX\_1  
CAGCCGATTG  
>UDP0040\_INDEX\_1  
TGACTIONATA  
>UDP0041\_INDEX\_1  
ATTGCCGAGT  
>UDP0042\_INDEX\_1  
GCCATTAGAC  
>UDP0043\_INDEX\_1  
GGCGAGATGG  
>UDP0044\_INDEX\_1  
TGGCTCGCAG  
>UDP0045\_INDEX\_1  
TAGAATAACG  
>UDP0046V3\_INDEX\_1  
TCCATGTTGC  
>UDP0047\_INDEX\_1  
TATCCAGGAC  
>UDP0048\_INDEX\_1  
AGTGCCACTG  
>UDP0049\_INDEX\_1  
GTGCAACACT  
>UDP0050\_INDEX\_1  
ACATGGTGTC  
>UDP0051\_INDEX\_1  
GACAGACAGG  
>UDP0052\_INDEX\_1  
TCTTACATCA  
>UDP0053V3\_INDEX\_1  
TACCGAACTA  
>UDP0054V3\_INDEX\_1  
GTAGTAATAG  
>UDP0055V3\_INDEX\_1  
GGTTATGCTA  
>UDP0056V3\_INDEX\_1  
ACAATAGAGT  
>UDP0057\_INDEX\_1  
TTAGGATAGA  
>UDP0058\_INDEX\_1  
CCGAAGCGAG  
>UDP0059\_INDEX\_1  
GGACCAACAG  
>UDP0060\_INDEX\_1  
TTCCAGGTAA  
>UDP0061\_INDEX\_1  
TGATTAGCCA  
>UDP0062\_INDEX\_1  
TAACAGTGTT  
>UDP0063\_INDEX\_1  
ACCGCGCAAT  
>UDP0064\_INDEX\_1  
GTTCCGCCCA

0065 - 0096

>UDP0065\_INDEX\_1  
AGACACATTA  
>UDP0066\_INDEX\_1  
GCGTTGGTAT  
>UDP0067\_INDEX\_1  
AGCACATCCT  
>UDP0068\_INDEX\_1  
TTGTTCCGTG  
>UDP0069V3\_INDEX\_1  
AAGGCCTTGG  
>UDP0070V3\_INDEX\_1  
TGTGGAGTAA  
>UDP0071V3\_INDEX\_1  
CACTTCTACT  
>UDP0072V3\_INDEX\_1  
TGGACTCGTA  
>UDP0073V3\_INDEX\_1  
TATCATGAGA  
>UDP0074V3\_INDEX\_1  
CTTGGCCTCG  
>UDP0075V3\_INDEX\_1  
GTCTCGTGAA  
>UDP0076V3\_INDEX\_1  
CCATCCACCG  
>UDP0077\_INDEX\_1  
GGATACCAGA  
>UDP0078\_INDEX\_1  
CGCACTAATG  
>UDP0079\_INDEX\_1  
TCCTGACCGT  
>UDP0080\_INDEX\_1  
CTGGCTTGCC  
>UDP0081\_INDEX\_1  
ACCAGCGACA  
>UDP0082\_INDEX\_1  
TTGTAACGGT  
>UDP0083\_INDEX\_1  
GTAAGGCATA  
>UDP0084V3\_INDEX\_1  
TAGATCCAGT  
>UDP0085\_INDEX\_1  
TTAGGTACCA  
>UDP0086\_INDEX\_1  
GGAATCCAA  
>UDP0087\_INDEX\_1  
CATGTAGAGG  
>UDP0088\_INDEX\_1  
TACACGCTCC  
>UDP0089\_INDEX\_1  
GCTTACGGAC  
>UDP0090\_INDEX\_1  
CGCTTGAAGT  
>UDP0091\_INDEX\_1  
CGCCTTCTGA  
>UDP0092\_INDEX\_1  
ATACCAACGC  
>UDP0093\_INDEX\_1  
CTGGATATGT  
>UDP0094\_INDEX\_1  
CAATCTATGA  
>UDP0095\_INDEX\_1  
GGTGGAAATAC  
>UDP0096\_INDEX\_1  
TGGACGGAGG

## UDI ADAPTER 2

0001–0032

>UDP0001\_INDEX\_2  
TCGTGGAGCG  
>UDP0002\_INDEX\_2  
CTACAAGATA  
>UDP0003V3\_INDEX\_2  
TACGTTCAAT  
>UDP0004\_INDEX\_2  
TGCCTGGTGG  
>UDP0005V3\_INDEX\_2  
TCCATCCGAG  
>UDP0006\_INDEX\_2  
GTCCACTTGT  
>UDP0007\_INDEX\_2  
TGGAACAGTA  
>UDP0008\_INDEX\_2  
CCTTGTTAAT  
>UDP0009\_INDEX\_2  
GTTGATAGTG  
>UDP0010\_INDEX\_2  
ACCAGCGACA  
>UDP0011\_INDEX\_2  
CATACACTGT  
>UDP0012\_INDEX\_2  
GTGTGGCGCT  
>UDP0013\_INDEX\_2  
ATCACGAAGG  
>UDP0014\_INDEX\_2  
CGGCTCTACT  
>UDP0015\_INDEX\_2  
GAATGCACGA  
>UDP0016\_INDEX\_2  
AAGACTATAG  
>UDP0017\_INDEX\_2  
TCGGCAGCAA  
>UDP0018\_INDEX\_2  
CTAATGATGG  
>UDP0019\_INDEX\_2  
GGTTGCCCTCT  
>UDP0020\_INDEX\_2  
CGCACATGGC  
>UDP0021\_INDEX\_2  
GGCCTGTCCT  
>UDP0022\_INDEX\_2  
CTGTGTTAGG  
>UDP0023\_INDEX\_2  
TAAGGAACGT  
>UDP0024\_INDEX\_2  
CTAACTGTAA  
>UDP0025\_INDEX\_2  
GGCGAGATGG  
>UDP0026\_INDEX\_2  
AATAGAGCAA  
>UDP0027\_INDEX\_2  
TCAATCCATT  
>UDP0028\_INDEX\_2  
TCGTATGCGG  
>UDP0029\_INDEX\_2  
TCCGACCTCG  
>UDP0030\_INDEX\_2  
CTTATGGAAT  
>UDP0031\_INDEX\_2  
GCTTACGGAC  
>UDP0032\_INDEX\_2  
GAACATACGG

0033–0064

>UDP0033\_INDEX\_2  
GTCGATTACA  
>UDP0034\_INDEX\_2  
ACTAGCCGTG  
>UDP0035\_INDEX\_2  
AAGTTGGTGA  
>UDP0036\_INDEX\_2  
TGGCAATATT  
>UDP0037\_INDEX\_2  
GATCACCGCG  
>UDP0038\_INDEX\_2  
TACCATCCGT  
>UDP0039\_INDEX\_2  
GCTGTAGGAA  
>UDP0040\_INDEX\_2  
CGCACTAATG  
>UDP0041\_INDEX\_2  
GACAACGTAA  
>UDP0042\_INDEX\_2  
AGTGGTCAGG  
>UDP0043\_INDEX\_2  
TTCTATGGTT  
>UDP0044\_INDEX\_2  
AATCCGGCCA  
>UDP0045\_INDEX\_2  
CCATAAGGTT  
>UDP0046V3\_INDEX\_2  
CTTGTCTTAA  
>UDP0047\_INDEX\_2  
CGGTGGCGAA  
>UDP0048\_INDEX\_2  
TAACAATAGG  
>UDP0049\_INDEX\_2  
CTGGTACACG  
>UDP0050\_INDEX\_2  
TCAACGTGTA  
>UDP0051\_INDEX\_2  
ACTGTTGTGA  
>UDP0052\_INDEX\_2  
GTGCGTCCTT  
>UDP0053V3\_INDEX\_2  
CCATGTGTAG  
>UDP0054V3\_INDEX\_2  
GAGTCTCTCC  
>UDP0055V3\_INDEX\_2  
GCTATGCGCA  
>UDP0056V3\_INDEX\_2  
ATCGCATATG  
>UDP0057\_INDEX\_2  
CGTCGACTGG  
>UDP0058\_INDEX\_2  
TACTAGTCAA  
>UDP0059\_INDEX\_2  
ATAGACCGTT  
>UDP0060\_INDEX\_2  
ACAGTTCAG  
>UDP0061\_INDEX\_2  
AGGCATGTAG  
>UDP0062\_INDEX\_2  
GCAAGTCTCA  
>UDP0063\_INDEX\_2  
TTGGCTCCGC  
>UDP0064\_INDEX\_2  
AACTGATACT

0065 – 0096

>UDP0065\_INDEX\_2  
GTAAGGCATA  
>UDP0066\_INDEX\_2  
AATTGCTGCG  
>UDP0067\_INDEX\_2  
TTACAATTCC  
>UDP0068\_INDEX\_2  
AACCTAGCAC  
>UDP0069V3\_INDEX\_2  
TCGAAGTACT  
>UDP0070V3\_INDEX\_2  
GACACCGATG  
>UDP0071V3\_INDEX\_2  
CTAGCGTCGA  
>UDP0072V3\_INDEX\_2  
TAGCGAAGCA  
>UDP0073V3\_INDEX\_2  
AACACGTGGA  
>UDP0074V3\_INDEX\_2  
GTGTTACCGG  
>UDP0075V3\_INDEX\_2  
AGATTGTTAC  
>UDP0076V3\_INDEX\_2  
TTGACCAATG  
>UDP0077\_INDEX\_2  
CGTTGCTTAC  
>UDP0078\_INDEX\_2  
TGACTACATA  
>UDP0079\_INDEX\_2  
CGGCCTCGTT  
>UDP0080\_INDEX\_2  
CAAGCATCCG  
>UDP0081\_INDEX\_2  
TCGTCTGACT  
>UDP0082\_INDEX\_2  
CTCATAGCGA  
>UDP0083\_INDEX\_2  
AGACACATTA  
>UDP0084V3\_INDEX\_2  
TCGCCGCTAG  
>UDP0085\_INDEX\_2  
CATGAGTACT  
>UDP0086\_INDEX\_2  
ACGTCAATAC  
>UDP0087\_INDEX\_2  
GATACCTCCT  
>UDP0088\_INDEX\_2  
ATCCGTAAGT  
>UDP0089\_INDEX\_2  
CGTGATCTT  
>UDP0090\_INDEX\_2  
GAACCATGAA  
>UDP0091\_INDEX\_2  
GGCCATCATA  
>UDP0092\_INDEX\_2  
ACATACTTCC  
>UDP0093\_INDEX\_2  
TATGTGCAAT  
>UDP0094\_INDEX\_2  
GATTAAGGTG  
>UDP0095\_INDEX\_2  
ATGTAGACAA  
>UDP0096\_INDEX\_2  
CACATCGGTG

