

## Тагментація, очищення та ампліфікація після тагментації

1. Позначте планшет для ПЛР (або еквівалент).
2. Додайте молекулярну воду в лунки.
3. Додайте ДНК зразка до лунок.
4. Змішайте на вортексі попередньо нагрітий BLT протягом 10 с.
5. Підготуйте майстер-мікс для тагментації та добре перемішайте на вортексі.
6. Додайте 20 мкл суміші (BLT + TB1) у кожну лунку зразка.
7. Добре перемішайте піпеткою.
8. Запечатуйте планшет та інкубуйте на термоциклері (55°C протягом 15 хв, потім витримуйте при 10° C).
9. Додайте 10 мкл TSB у лунки для зразків.
10. Обережно перемішайте піпеткою.
11. Запечатуйте планшет та інкубуйте на термоциклері (37°C протягом 15 хвилин, витримуйте при 10°C).
12. Покладіть планшет на магніт на 3 хвилини.
13. Видаліть і викиньте надосадову рідину (супернатант).
14. Зніміть з магніту і додайте 100 мкл TWB.
15. Обережно піпеткою ресуспендуйте гранули.
16. Покладіть назад на магніт на 3 хвилини.
17. Видаліть і викиньте надосадову рідину (супернатант).
18. Зніміть планшет з магніту і додайте 100 мкл TWB.
19. Обережно ресуспендуйте гранули піпеткою.
20. Покладіть назад на магніт принаймні на 3 хвилини.
21. Видаліть і викиньте надосадову рідину (супернатант).
22. Зніміть з магніту і додайте 100 мкл TWB.
23. Обережно ресуспендуйте гранули піпеткою.
24. Покладіть назад на магніт принаймні на 3 хвилини.
25. Під час інкубації на магніті приготуйте основну суміш для ПЛР (ERM + вода молекулярного класу).
26. Змішайте на вортексі та швидко відкрутіть майстер-мікс.
27. Видаліть TWB з гранул намистин.
28. Видаліть увесь надлишок TWB за допомогою меншого наконечника піпетки.
29. Видалити з магніту та додати 40 мкл майстер-міксу для ПЛР, змішати піпеткою.
30. Додайте 10 мкл індексів з відповідної лунки індексного планшета до відповідної лунки для зразка.

### Очищення після проведення ПЛР та пулінг

1. Центрифугуйте планшет при 280 x g протягом 1 хвилини.
2. Помістіть на магніт на 5 хвилин.
3. Перенесіть 45 мкл супернатанту в нові лунки на планшеті для ПЛР (або планшет MIDI).
4. Відкритіть на вортексі базовий розчин IPB.
5. Підготувати майстер-мікс IPB (IPB + вода молекулярного класу).
6. Добре змішайте майстер-мікс на вортексі.
7. Зніміть планшет з магніту та додайте 85 мкл майстер-міксу IPB до кожного зразка.
8. Піпеткою змішайте мінімум 10 х для перемішування.
9. Інкубуйте протягом 5 хвилин.
10. Помістіть на магніт на 3 хвилини.
11. Під час інкубації ретельно змішайте розчин IPB на вортексі.
12. Перенесіть 125 мкл супернатанту в нові лунки.
13. Видаліть з магніту і додайте 15 мкл базового розчину IPB до кожного зразка.
14. Піпеткою змішайте мінімум 10 х для перемішування.
15. Інкубуйте протягом 5 хвилин.
16. Приготуйте свіжий 80% EtOH
17. Покладіть планшет на магніт на 3 хвилини.
18. Викиньте надосадову рідину.
19. Тримаючи на магніті, додайте 170 мкл 80% EtOH та інкубуйте протягом 30 секунд.
20. Викиньте надосадову рідину.
21. Перебуваючи на магніті, додайте 170 мкл 80% EtOH та інкубуйте протягом 30 секунд.
22. Викиньте надосадову рідину та видаліть надлишок за допомогою наконечника піпетки меншого об'єму.
23. Дайте гранулам висохнути на повітрі 3-5 хв.
24. Зніміть з магніту і додайте 32 мкл RSB кімнатної температури.