

# CO<sub>r</sub>DIS кстракт

## АВТОМАТ

### Набор реагентов для экстракции ДНК человека с использованием автоматизированных станций

## Инструкция пользователя

### Оглавление

<b>1.</b>	<b>ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ</b>	<b>2</b>
1.1	Описание продукта	2
1.2	Компоненты набора и состав	3
1.3	Условия хранения	4
1.4	Сопутствующие материалы	4
1.5	Гарантии качества	5
<b>2.</b>	<b>ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ПОДГОТОВКА МАТЕРИАЛА</b>	<b>5</b>
2.1	Стандартный протокол	5
2.2	Дополнительные протоколы	6
2.2.1	Образцы волос	6
2.2.2	Образцы ногтей	7
2.2.3	Выделение ДНК из парафиновых блоков	8
2.2.4	Выделение ДНК из тканей, фиксированных формалином	9
2.2.5	Дифференциальный лизис	10
2.2.6	Выделение ДНК из костной ткани	12
2.2.7	Выделение ДНК из зубов	13
2.2.8	Выделение ДНК из окурков	14
<b>3.</b>	<b>АВТОМАТИЧЕСКАЯ ЭКСТРАКЦИЯ</b>	<b>15</b>
3.1	Протокол автоматической экстракции	15
<b>4.</b>	<b>ИНФОРМАЦИЯ О ФИРМЕ ПРОИЗВОДИТЕЛЕ</b>	<b>18</b>

## 1. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОДУКТЕ

### 1.1 Описание продукта

Набор реагентов CO<sub>r</sub>DIS «ЭКСТРАКТ» АВТОМАТ предназначен для получения препаратов ДНК из биологического материала человека для последующего анализа методом полимеразной цепной реакции. Принцип метода основан на протеиназной обработке исследуемого материала. В присутствии хаотропных веществ, входящих в состав лизирующего буфера, ДНК сорбируется на поверхности магнитных частиц, а затем отмывается от потенциальных ингибиторов ПЦР с использованием отмывочных растворов. Финальная элюция нуклеиновых кислот с поверхности магнитных частиц позволяет получить высокоочищенный препарат ДНК, пригодный для проведения полимеразной реакции.

Набор реагентов CO<sub>r</sub>DIS «ЭКСТРАКТ» АВТОМАТ предназначен для работы с автоматической станцией для выделения ДНК «AutoMate Express». Набор реагентов CO<sub>r</sub>DIS «ЭКСТРАКТ» АВТОМАТ может применяться для выделения ДНК из образцов для криминалистического анализа: из мягких тканей, биологических жидкостей (кровь, слюна), мышечных тканей, эпителия, из контактных биологических следов на предметах носителях (смывы биологического материала, предметы одежды, отпечатки пальцев), образцов волос, ногтевого содержимого, парафиновых блоков, биологического материала, содержащего сперматозоиды в смеси с эпителиальными клетками. Набор CO<sub>r</sub>DIS «ЭКСТРАКТ» АВТОМАТ выпускается в дополнительной комплектации CO<sub>r</sub>DIS «ЭКСТРАКТ» АВТОМАТ ДЕКАЛЬЦИН для работы с протоколами предназначенными для выделения ДНК из костной ткани.

Лизирующий буферный раствор, используемый в составе набора, позволяет добиться высокой эффективности лизиса биологического материала, в том числе, помещенного на различные материалы-носители (бумага, синтетические и натуральные ткани, ткани со сложной волокнистой структурой).

Это позволяет добиться максимального результата при экстракции ДНК из «контактных» биологических следов (смывы биологического материала на ватных тампонах, фрагменты одежды человека, отпечатки пальцев, предметы личного пользования и. т. д.).

Полученные препараты могут быть напрямую использованы для постановки ПЦР с наборами для амплификации STR-маркеров человека.

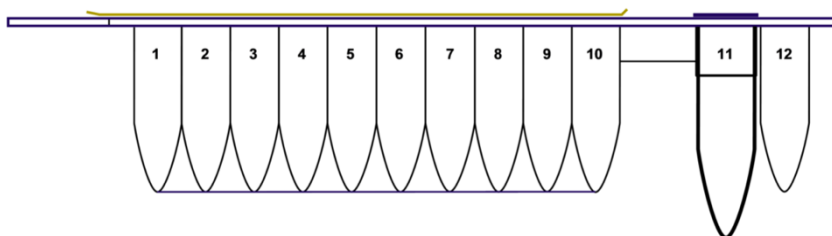
## 1.2 Компоненты набора и состав

1. Лизирующий буфер	1 флакон (30 мл)
2. Протеиназа К	1 пробирка (1 мл)
3. Картриджи	52 шт.
4. Наконечники	52 шт.
5. Колонки UniSpin	52 шт.
6. Пробирки для колонок UniSpin	52 шт.
7. Пробирки для лизата	52 шт.
8. Пробирки для элюции	52 шт.

Дополнительно для набора CO<sub>r</sub>DIS «ЭКСТРАКТ» АВТОМАТ Декальцин:

Лизирующий буфер «Декальцин» 1 флакон (30 мл)

Реагенты, необходимые для экстракции ДНК, содержатся в ячейках индивидуальных реагентных картриджей: Магнитные частицы, Связывающий буфер, Отмывочные буферы, Элюирующий буфер. Ячейки картриджей, содержащие реагенты герметично изолированы фольгой.



Номер ячейки	Содержание
1	Пустая ячейка
2	Магнитные частицы
3	Связывающий буфер
4	Отмывочный буфер 1
5	Отмывочный буфер 2
6	Отмывочный буфер 2
7	Элюирующий буфер
8	Пустая ячейка
9	Пустая ячейка
10	Пустая ячейка
11	Пустая ячейка
12	Пустая ячейка

### 1.3 Условия хранения

Компоненты набора: Лизирующий буфер, Лизирующий буфер «Декальцин», Картриджи, Наконечники, Держатели наконечников, Пробирки для элюции, Пробирки для лизата, Колонки UniSpin, Пробирки для колонок UniSpin хранить при температуре +15°C / +25°C.

Компоненты набора: **Протеиназа К** хранить при температуре +2°C / +8°C.

Допускается режим транспортировки при температуре от +15°C до +25°C в течении 14 календарных дней. При более длительной транспортировке набора необходимо разукomплектовать наборы реагентов и обеспечить хранение следующих компонентов наборов: **«Протеиназа К»** при температуре от +2°C до +8°C.

**Срок годности** компонентов набора - 10 месяцев при соблюдении условий хранения.

### 1.4 Сопутствующие материалы

**Необходимое оборудование и материалы, не входящие в состав набора:**

- Автоматическая станция для выделения ДНК «AutoMate Express»
- Термостат с возможностью нагрева до 56°C и погружения пробирок объемом 1.5, 2 мл
- Центрифуга
- Раствор Дитиотреитола (DTT) 1M
- Ксилол
- Этанол 96%
- Пробирки объемом 1.5 мл

## 1.5 Гарантии качества

Качество компонентов набора проверено и контролируется в процессе производства. Каждый выпущенный лот реагентов регулярно проверяется на соответствие заявленным характеристикам в течение 10 месяцев. В случае возникновения вопросов относительно качества набора просим незамедлительно связаться с ООО “ГОРДИЗ”.

## 2. ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ПОДГОТОВКА МАТЕРИАЛА

### 2.1 Стандартный протокол

Стандартный протокол экстракции может применяться для выделения ДНК из мягких тканей, биологических жидкостей (кровь, слюна), мышечных тканей, эпителия, адгезивных материалов (липкие ленты, клапаны конвертов), жевательных резинок, а также из контактных биологических следов на предметах носителях (смывы биологического материала, предметы одежды, отпечатки пальцев).

#### **Предварительная подготовка материала:**

Подготовьте биоматериал для исследования. Поместите новый баскет UniSpin для лизиса биоматериала в чистую Пробирку для колонок UniSpin. Вносите в баскет UniSpin не более 50 мкл биологического материала в жидком состоянии или не более 20 мг биологического материала в твердом состоянии. В случае, если исследуемый образец находится на материале-носителе, необходимо произвести вырезки материала-носителя размером не более 5x5 мм. Объем исследуемого материала подбирается с учетом необходимости полного погружения образца в 500 мкл смеси лизирующего буфера и протеиназы К.

#### **Протокол подготовки материала**

1. Поместите исследуемый биологический материал в баскет UniSpin с Пробиркой для колонок UniSpin. Добавьте к исследуемому материалу в баскете UniSpin **485 мкл** Лизирующего буфера и **15 мкл** Протеиназы К. Закройте баскет UniSpin крышкой Пробирки для колонок UniSpin. Перемешайте смесь на вортексе.
2. Поместите закрытую пробирку с баскетом UniSpin в термостат. Инкубируйте препарат в течение **1 часа при 56°C**. В случае, если лизис исследуемого материала проходит недостаточно эффективно (для образцов, содержащих трудно лизируемый материал), допускается

добавление дополнительного количества раствора Протеиназы К (10 мкл) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 56°C.

3. После завершения процедуры лизиса проведите **центрифугирование** полученного препарата в бaskете UniSpin **1 мин на максимальных оборотах** для разделения жидкой и твердой части лизата. Жидкая часть лизата переместится в Пробирку для колонок UniSpin. В бaskете UniSpin останется нелизировавшая часть объекта (или предмета носителя). Переместите жидкую часть лизата в Пробирку для лизата. Доведите объем жидкой части лизата до **500 мкл раствором Лизирующего буфера**, если объем недостаточен. Пробирку для лизата используйте для продолжения процедуры экстракции.
4. Дальнейшая процедура экстракции проводится в соответствии с протоколом автоматической экстракции (раздел 3).

## 2.2 Дополнительные протоколы

### 2.2.1 Образцы волос

#### Предварительная подготовка материала:

Исследуемые образцы волос тщательно промыть бидистиллированной водой и высушить. Высушенные образцы нарезать в новую пробирку по 0,5–1 см начиная с волосяной луковицы. Выделение ДНК может быть также проведено из образцов волос, не подвергнутых предварительной промывке. Такой подход может повысить суммарный выход экстрагированной ДНК. Однако, необходимо иметь в виду, что наложения, присутствующие на стержне волоса могут являться источником контаминации посторонней ДНК.

#### Протокол подготовки материала

1. Поместите исследуемый биологический материал в бaskет UniSpin с Пробиркой для колонок UniSpin. Добавьте к исследуемому материалу в бaskете UniSpin **485 мкл Лизирующего буфера** и **15 мкл Протеиназы К** и **25 мкл раствора 1М DTT** (не входит в состав набора). Закройте бaskет UniSpin крышкой Пробирки для колонок UniSpin. Перемешайте смесь на вортексе.
2. Поместите закрытую пробирку с бaskетом UniSpin в термостат. Инкубируйте препарат в течение **1 часа при 56°C**. В случае, если лизис исследуемого материала проходит недостаточно эффективно (для образцов, содержащих трудно лизируемый материал),

- допускается добавление дополнительного количества раствора Протеиназы К (10 мкл) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 56°C.
3. После завершения процедуры лизиса проведите **центрифугирование** полученного препарата в бaskете UniSpin **1 мин на максимальных оборотах** для разделения жидкой и твердой части лизата. Жидкая часть лизата переместится в Пробирку для колонок UniSpin. В бaskете UniSpin останется нелизировавшая часть объекта (или предмета носителя). Переместите жидкую часть лизата в Пробирку для лизата. Доведите объем жидкой части лизата до **500 мкл раствором Лизирующего буфера**, если объем недостаточен. Пробирку для лизата используйте для продолжения процедуры экстракции.
  4. Дальнейшая процедура экстракции проводится в соответствии с протоколом автоматической экстракции (раздел 3).

## 2.2.2 Образцы ногтей

### Предварительная подготовка материала:

Исследуемые образцы ногтевых пластин очистить от подногтевого содержимого. Выделение ДНК из биологического материала, присутствующего в подногтевом содержимом может быть проведено с использованием стандартного протокола исследования. Ногтевые пластины необходимо тщательно промыть бидистиллированной водой и высушить. Высушенные образцы ногтевых пластин нарезать в новую пробирку. Размер фрагментов ногтевых пластин не должен превышать 5x5 мм.

### **Протокол подготовки материала**

1. Поместите исследуемый биологический материал в бaskет UniSpin с Пробиркой для колонок UniSpin. Добавьте к исследуемому материалу в бaskете UniSpin **485 мкл Лизирующего буфера** и **15 мкл Протеиназы К** и **25 мкл раствора 1M DTT** (не входит в состав набора). Закройте бaskет UniSpin крышкой Пробирки для колонок UniSpin. Перемешайте смесь на вортексе.
2. Поместите закрытую пробирку с бaskетом UniSpin в термостат. Инкубируйте препарат в течение **1 часа при 56°C**. В случае, если лизис исследуемого материала проходит недостаточно эффективно (для образцов, содержащих трудно лизируемый материал), допускается добавление дополнительного количества раствора

Протеиназы К (10 мкл) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 56°C.

3. После завершения процедуры лизиса проведите **центрифугирование** полученного препарата в бaskете UniSpin **1 мин на максимальных оборотах** для разделения жидкой и твердой части лизата. Жидкая часть лизата переместится в Пробирку для колонок UniSpin. В бaskете UniSpin останется нелизировавшая часть объекта (или предмета носителя). Переместите жидкую часть лизата в Пробирку для лизата. Доведите объем жидкой части лизата до **500 мкл раствором Лизирующего буфера**, если объем недостаточен. Пробирку для лизата используйте для продолжения процедуры экстракции.
4. Дальнейшая процедура экстракции проводится в соответствии с протоколом автоматической экстракции (раздел 3).

### 2.2.3 Выделение ДНК из парафиновых блоков

Протокол валидирован для депарафинизации фрагментов мягких тканей, заключенных в парафин и подготовки образцов к дальнейшей экстракции ДНК реактивами набора CO<sub>r</sub>DIS «ЭКСТРАКТ» АВТОМАТ для дальнейшей постановки реакций с наборами CO<sub>r</sub>DIS. Использование полученных препаратов ДНК для других целей требует дополнительной валидации.

#### Протокол подготовки материала

1. Внести 1–3 среза, содержащих гистологический препарат в чистую пробирку объемом 1.5 мл (не входит в состав набора).
2. Внести 1000 мкл ксилола (не входит в состав набора). Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
3. Инкубируйте препарат в течение 30 минут при 56°C.
4. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки супернатант.
5. Внести 1000 мкл 96 % этанола (не входит в состав набора). Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
6. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки супернатант.
7. Осторожно удалите остатки этанола с помощью тонкого наконечника пипетки.



8. Откройте пробирку и инкубируйте при комнатной температуре или до 37°C. Инкубировать в течение 10 минут или до тех пор, пока весь остаточный этанол не испарится.
9. Внести 485 мкл Лизирующего буфера и 15 мкл Протеиназы К и 25 мкл раствора 1М DTT (не входит в состав набора). Перемешайте смесь на вортексе.
10. Поместите закрытую пробирку в термостат. Инкубируйте препарат в течение 1 часа при 56°C. В случае, если лизис исследуемого материала проходит недостаточно эффективно (для образцов, содержащих трудно лизируемый материал), допускается добавление дополнительного количества раствора Протеиназы К (10 мкл) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 56°C.
11. Перенести лизат в бачок UniSpin с Пробиркой для колонок UniSpin.
12. Для фильтрации проведите центрифугирование полученного препарата в бачке UniSpin (1 мин на максимальных оборотах). Жидкая часть лизата переместится в Пробирку для колонок UniSpin. Переместите жидкую часть лизата в Пробирку для лизата. Доведите объем жидкой части лизата до 500 мкл раствором Лизирующего буфера, если объем недостаточен. Пробирку для лизата используйте для продолжения процедуры экстракции.
13. Дальнейшая процедура экстракции проводится в соответствии с протоколом автоматической экстракции (раздел 3).

#### **2.2.4 Выделение ДНК из тканей, фиксированных формалином**

Протокол валидирован для выделения ДНК из тканей, фиксированных формалином, но не заключенных в парафин и подготовки образцов к дальнейшей экстракции ДНК реактивами набора CO<sub>r</sub>DIS «ЭКСТРАКТ» АВТОМАТ для дальнейшей постановки реакций с наборами CO<sub>r</sub>DIS. Использование полученных препаратов ДНК для других целей требует дополнительной валидации.

##### **Протокол подготовки материала**

14. Внести 1–3 среза, содержащих гистологический препарат в чистую пробирку объемом 1.5 мл (не входит в состав набора).
1. Внести 500 мкл 96 % этанола (не входит в состав набора). Перемешать содержимое пробирки на вортексе.

2. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки супернатант.
3. Внести 500 мкл 96 % этанола (не входит в состав набора). Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
4. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки супернатант.
5. Внести 500 мкл раствора TE (не входит в состав набора). Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
6. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки супернатант.
7. Внести 485 мкл Лизирующего буфера и 15 мкл Протеиназы К и 25 мкл раствора 1M DTT (не входит в состав набора). Перемешайте смесь на вортексе.
8. Поместите закрытую пробирку в термостат. Инкубируйте препарат в течение 1 часа при 56°C. В случае, если лизис исследуемого материала проходит недостаточно эффективно (для образцов, содержащих трудно лизируемый материал), допускается добавление дополнительного количества раствора Протеиназы К (10 мкл) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 56°C.
9. Перенести лизат в баскет UniSpin с Пробиркой для колонок UniSpin.
10. Для фильтрации проведите центрифугирование полученного препарата в бастете UniSpin (1 мин на максимальных оборотах). жидкая часть лизата переместится в Пробирку для колонок UniSpin. Переместите жидкую часть лизата в Пробирку для лизата. Доведите объем жидкой части лизата до 500 мкл раствором Лизирующего буфера, если объем недостаточен. Пробирку для лизата используйте для продолжения процедуры экстракции.
11. Дальнейшая процедура экстракции проводится в соответствии с протоколом автоматической экстракции (раздел 3).

### 2.2.5 Дифференциальный лизис

Протокол предназначен для проведения дифференциальной экстракции биологического материала, содержащего сперматозоиды в смеси с эпителиальными клетками. В случае экстракции исключительно сперматозоидов следует начинать с пункта 7.

## Протокол подготовки материала

1. Поместите исследуемый биологический материал в чистую пробирку объемом 1.5 мл (не входит в состав набора). Добавьте к исследуемому материалу 485 мкл Лизирующего буфера и 15 мкл Протеиназы К. Кратко перемешайте смесь на вортексе. Проведите краткое центрифугирование для удаления капель со стенок пробирки.
2. Поместите пробирку в термостат. Инкубируйте препарат в течение 1 часа при 56°C. В случае, если лизис исследуемого материала проходит недостаточно эффективно (для образцов, содержащих трудно лизируемый материал), допускается добавление дополнительного количества раствора Протеиназы К (10 мкл) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 56°C.
3. После завершения процедуры лизиса проведите центрифугирование полученного препарата (5 мин, 10 000 gcf) для разделения жидкой и твердой части лизата. Не задевая твердого нелизировавшего осадка, перенесите жидкую часть лизата в чистую пробирку объемом 1.5 мл для продолжения процедуры экстракции (**эпителиальный компонент**) – **Препарат №1**.
4. К твердому нелизировавшему остатку добавьте 485 мкл Лизирующего буфера и 15 мкл Протеиназы К. Кратко перемешайте смесь на вортексе. Проведите краткое центрифугирование для удаления капель со стенок пробирки.
5. Поместите пробирку в термостат. Инкубируйте препарат в течение 30 минут при 56°C.
6. После завершения процедуры лизиса проведите центрифугирование полученного препарата (5 мин, 10 000 gcf) для разделения жидкой и твердой части лизата. Не задевая твердого нелизировавшего осадка, удалите максимально возможный объем жидкой части лизата.
7. К твердому нелизировавшему осадку добавьте 485 мкл Лизирующего буфера и 15 мкл Протеиназы К и 5 мкл раствора 1M DTT (не входит в состав набора). Кратко перемешайте смесь на вортексе. Проведите краткое центрифугирование для удаления капель со стенок пробирки.
8. Поместите пробирку в термостат. Инкубируйте препарат в течение 1 часа при 56°C.
9. Перенесите жидкую и твердую часть лизата с помощью дозатора и чистого пинцета в basket UniSpin с Пробиркой для колонок UniSpin. Закройте basket UniSpin крышкой Пробирки для колонок UniSpin.
10. Проведите центрифугирование полученного препарата в бaskете UniSpin (1 мин на максимальных оборотах) для разделения жидкой и твердой

части лизата. Жидкая часть лизата переместится в Пробирку для колонок UniSpin. В бaskете UniSpin останется нелизировавшая часть объекта (или предмета носителя). Переместите жидкую часть лизата в Пробирку для лизата. Доведите объем жидкой части лизата до 500 мкл раствором Лизирующего буфера, если объем недостаточен. Пробирку для лизата используйте для продолжения процедуры экстракции (**спермальный компонент**) - **Препарат №2**.

11. Дальнейшая экстракция полученных **препаратов №1 (эпителиальная фракция) и №2 (спермальная фракция)** проводится в соответствии с протоколом автоматической экстракции (раздел 3).

## 2.2.6 Выделение ДНК из костной ткани

Данный протокол предназначен для использования с компонентами набора CO<sub>r</sub>DIS «ЭКСТРАКТ» АВТОМАТ Декальцин. Протокол предназначен для экстракции ДНК из образцов костной ткани. Подготовьте исследуемый биоматериал для исследования. Для эффективного лизиса костного материала образец ткани должен быть предварительно измельчен до состояния костного порошка. Рекомендуемое количество материала для исследования составляет **300 мг** порошка.

### Протокол подготовки материала

1. Поместите **300 мг** навески костного порошка в чистую пробирку объемом 1.5 мл (не входит в состав набора). Добавьте к исследуемому материалу **500 мкл** лизирующего буфера «Декальцин», **15 мкл Протеиназы К** и **25 мкл раствора 1М DTT** (не входит в состав набора). Кратко перемешайте смесь на вортексе. Проведите краткое центрифугирование для удаления капель со стенок пробирки.
2. Поместите пробирку в термостат или термошейкер. Инкубируйте препарат в течение **2 часов при 56°C**. Для более эффективного лизиса костного материала рекомендуется раз в 15 минут проводить дополнительную процедуру вортексирования лизируемого материала.
3. После завершения процедуры лизиса проведите центрифугирование полученного препарата (**5 мин, > 10 000 gcf**) для разделения жидкой и твердой части лизата. Не задевая твердого нелизировавшего осадка, перенесите жидкую часть лизата в чистую пробирку для лизата. Непосредственно перед проведением автоматизированной экстракции доведите объем жидкой части лизата до **500 мкл раствором Лизирующего буфера**, если объем недостаточен. Пробирку для лизата с

полученным лизатом используйте для продолжения процедуры выделения в соответствии с протоколом автоматической экстракции (раздел 3).

### 2.2.7 Выделение ДНК из зубов

Протокол предназначен для экстракции ДНК из зубов. Подготовьте исследуемый биоматериал для исследования. Для эффективного лизиса следует предварительно механически измельчить образец ткани для доступа к сохранившимся фрагментам пульпы зуба.

#### Протокол подготовки материала

1. Поместите исследуемый биологический материал в бasket UniSpin с Пробиркой для колонок UniSpin. Добавьте к исследуемому материалу в бasketе UniSpin **485 мкл Лизирующего буфера** и **15 мкл Протеиназы К** и **25 мкл раствора 1M DTT** (не входит в состав набора). Закройте бasket UniSpin крышкой Пробирки для колонок UniSpin. Перемешайте смесь на вортексе.
2. Поместите закрытую пробирку с бasketом UniSpin в термостат. Инкубируйте препарат в течение **1 часа при 56°C**. В случае, если лизис исследуемого материала проходит недостаточно эффективно (для образцов, содержащих трудно лизируемый материал), допускается добавление дополнительного количества раствора Протеиназы К (10 мкл) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 56°C.
3. После завершения процедуры лизиса проведите центрифугирование полученного препарата в бasketе UniSpin (**1 мин на максимальных оборотах**) для разделения жидкой и твердой части лизата. Жидкая часть лизата переместится в Пробирку для колонок UniSpin. В бasketе UniSpin останется нелизировавшая часть объекта (или предмета носителя). Переместите жидкую часть лизата в Пробирку для лизата. Доведите объем жидкой части лизата до **500 мкл раствором Лизирующего буфера**, если объем недостаточен. Пробирку для лизата используйте для продолжения процедуры экстракции.
4. Дальнейшая процедура экстракции проводится в соответствии с протоколом автоматической экстракции (раздел 3).

## 2.2.8 Выделение ДНК из окурков

Протокол предназначен для экстракции ДНК из окурков сигарет. Подготовьте исследуемый биоматериал для исследования. Для эффективного лизиса следует предварительно срезать 1 см<sup>2</sup> наружного слоя бумаги с концевой части сигареты или сигаретного фильтра.

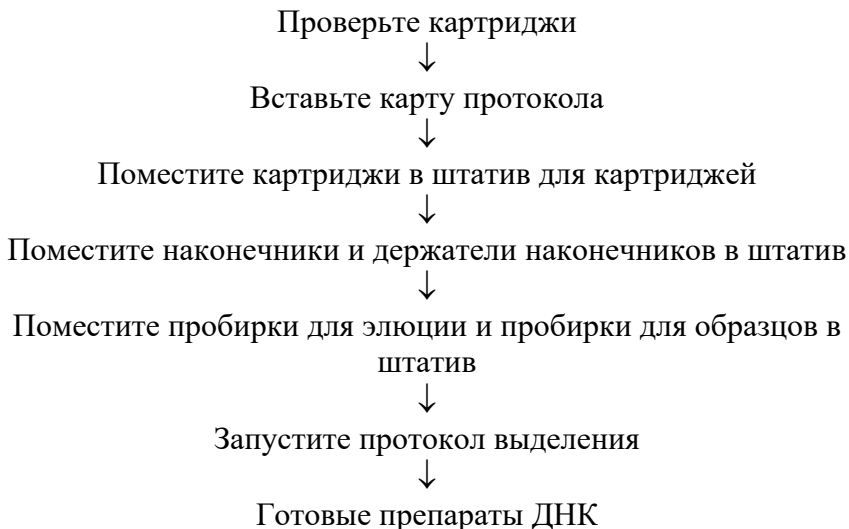
### Протокол подготовки материала

1. Поместите исследуемый биологический материал в basket UniSpin с Пробиркой для колонок UniSpin. Добавьте к исследуемому материалу в basketе UniSpin **485 мкл Лизирующего буфера** и **15 мкл Протеиназы К**. Закройте basket UniSpin крышкой Пробирки для колонок UniSpin. Перемешайте смесь на вортексе.
2. Поместите закрытую пробирку с basketом UniSpin в термостат. Инкубируйте препарат в течение **1 часа при 56°C**. В случае, если лизис исследуемого материала проходит недостаточно эффективно (для образцов, содержащих трудно лизируемый материал), допускается добавление дополнительного количества раствора Протеиназы К (10 мкл) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 56°C.
3. После завершения процедуры лизиса проведите центрифугирование полученного препарата в basketе UniSpin (**1 мин на максимальных оборотах**) для разделения жидкой и твердой части лизата. Жидкая часть лизата переместится в Пробирку для колонок UniSpin. В basketе UniSpin останется нелизировавшая часть объекта (или предмета носителя). Переместите жидкую часть лизата в Пробирку для лизата. Доведите объем жидкой части лизата до **500 мкл раствором Лизирующего буфера**, если объем недостаточен. Пробирку для лизата используйте для продолжения процедуры экстракции.
4. Дальнейшая процедура экстракции проводится в соответствии с протоколом автоматической экстракции (раздел 3).

### 3. АВТОМАТИЧЕСКАЯ ЭКСТРАКЦИЯ

#### 3.1 Протокол автоматической экстракции

##### Краткая схема протокола автоматической экстракции



##### **1. Проверьте картриджи**

Извлеките необходимое количество картриджей из упаковки. Убедитесь, что реагенты в картриджах находятся на дне ячеек. Убедитесь, что в ячейках картриджей не наблюдается видимый осадок или кристаллизация. В случае возникновения вопросов относительно качества набора просим незамедлительно связаться с ООО «ГОРДИЗ».

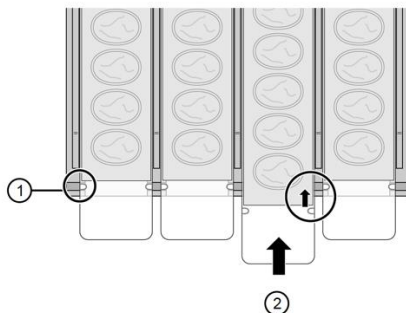
##### **2. Вставьте карту протокола**

Вставьте карту протокола в прибор в соответствии с инструкцией пользователя автоматизированной станции для экстракции ДНК «AutoMate Express™ Forensic DNA Extraction System». После этого включите прибор.

##### **3. Поместите картриджи в штатив для картриджей**

Откройте дверь прибора. Достаньте штатив для картриджей из прибора. Поместите картриджи в штатив для картриджей (как на рис. 1). Вставьте штатив обратно в прибор.

Рис. 1 Расположение картриджей в штативе прибора



1 – правильное положение

2 – подвиньте картридж, чтобы он занял правильное положение

#### 4. Поместите наконечники в штатив

Поместите наконечники и держатели наконечников в штатив (рис. 2, в позицию T2). Позицию T1 оставьте пустой.

Рис. 2 Расположение наконечников, держателей наконечников, пробирок для лизатов и пробирок для элюции в штативе



1 – пробирки для лизата (позиция S)

2 – держатели наконечников с наконечниками (позиция T2)

3 – держатели наконечников с наконечниками (позиция T1)

4 – пробирки для элюции (позиция E)




## 5. Поместите пробирки для элюции и пробирки для лизата в штатив

Поместите пробирки с лизатами в штатив (рис. 2). Объем лизатов должен составлять не менее 500 мкл. Загрузите штативы в прибор (рис.3). Закройте дверь прибора.

Рис. 3 Расположение штативов в приборе




## 6. Запустите протокол экстракции

Запустите протокол выделения на приборе (см. Инструкцию пользователя «AutoMate Express™ Forensic DNA Extraction System»). Для этого на дисплее прибора нажмите кнопку  Далее выберите стандартный протокол «PF Express» в режиме элюции **50 мкл**. Нажмите «Start».

Важно! Не открывайте дверь во время выполнения протокола. Чтобы прервать или остановить прибор, обратитесь к инструкции пользователя «AutoMate Express™ Forensic DNA Extraction System».

## 7. Готовые препараты ДНК

После завершения выделения нажмите , чтобы вернуться в основное меню. Откройте дверь прибора и извлеките пробирки с выделенными препаратами ДНК. Рекомендуется хранить полученный препарат при температуре 4°C в течение 3-4 недель. Для более длительного хранения препарата ДНК рекомендуется осуществлять хранение при -20°C.

#### 4. ИНФОРМАЦИЯ О ФИРМЕ ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

**Производитель:** ООО «ГОРДИЗ»

**Юридический и почтовый адрес:** 143026 г. г. Москва, территория инновационного центра Сколково, ул. Большой Бульвар, д.42, стр. 1, пом.337.

**Телефон/факс:** (499) 670-40-41

**Домашняя страница:** [www.gordiz.ru](http://www.gordiz.ru)

**e-mail:** [gordiz@gordiz.ru](mailto:gordiz@gordiz.ru)