

# 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	4
<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	Дифференциальный лизис	9
2.2.5	Выделение ДНК из костной ткани	11
<b>3.</b>	<b>АВТОМАТИЧЕСКАЯ ЭКСТРАКЦИЯ</b>	<b>12</b>
3.1	Протокол автоматической экстракции	12
<b>4.</b>	<b>ИНФОРМАЦИЯ О ФИРМЕ ПРОИЗВОДИТЕЛЕ</b>	<b>15</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 (кровь, слюна, биологические жидкости, мышечные ткани, эпителий), из контактных биологических следов на предметах носителях (смывы биологического материала, предметы одежды, отпечатки пальцев), образцов волос, ногтевого содержимого, парафиновых блоков, костей, биологического материала, содержащего сперматозоиды в смеси с эпителиальными клетками.

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.

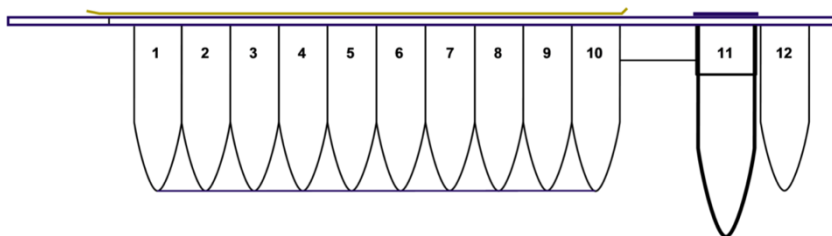
Дополнительно для набора CO<sub>r</sub>DIS «ЭКСТРАКТ» АВТОМАТ Декальцин:

Лизирующий буфер «Декальцин»	1 флакон (30 мл)
------------------------------	------------------

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

Реагент для депарафинизации	1 флакон (60 мл)
Раствор TE	1 флакон (50 мл)
Раствор Tris 1M	1 флакон (50 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, Реагент для депарафинизации, Раствор TE, Раствор Tris 1M хранить при температуре +15°C / +25°C.

Компоненты набора: **Протеиназа К** хранить при температуре +4°C.

Срок годности компонентов набора - 18 месяцев при соблюдении условий хранения.

### 1.4 Сопутствующие материалы

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

Автоматическая станция для выделения ДНК «AutoMate Express»

Термостат с возможностью нагрева до 56°C

Центрифуга

Раствор Дитиотреитола (ДТТ) 1M

### 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 18 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 (кровь, слюна, биологические жидкости, мышечные ткани, эпителий), 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 (входит в состав набора). 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 объемом 1.5 мл. 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 (до 10 мкл) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 56°C.
3. После завершения процедуры лизиса проведите центрифугирование полученного препарата в баскете UniSpin (1 мин на максимальных оборотах) для разделения жидкой и твердой части лизата. Жидкая часть лизата переместится в Пробирку для колонок UniSpin. В баскете 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. Длина фрагментов стержня волоса не должна превышать 5 мм. 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 basket UniSpin с Пробиркой для колонок UniSpin объемом 1.5 мл. Добавьте к исследуемому материалу в basketе UniSpin 485 мкл Лизирующего буфера и 15 мкл Протеиназы К и 5 мкл раствора 1M DTT. 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 (до 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).

### 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 бачок UniSpin с Пробиркой для колонок UniSpin объемом 1.5 мл. Добавьте к исследуемому материалу в бачке UniSpin 485 мкл Лизирующего буфера и 15 мкл Протеиназы К и 5 мкл раствора 1М ДТТ. Закройте бачок UniSpin крышкой Пробирки для колонок UniSpin. Перемешайте смесь на вортексе.
2. Поместите закрытую пробирку с бачком 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 (до 10 мкл) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 56°C.
3. После завершения процедуры лизиса проведите центрифугирование полученного препарата в бачке UniSpin (1 мин на максимальных оборотах) для разделения жидкой и твердой части лизата. Жидкая часть лизата переместится в Пробирку для колонок UniSpin. В бачке 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 пробирку для образцов объемом 1.5 мл.
2. Внести 600 мкл реагента для депарафинизации. Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
3. Инкубировать 30 мин при 56°C.
4. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки жидкую часть лизата.
5. Внести 500 мкл 96 % этанола. Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
6. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки жидкую часть лизата.
7. Внести 500 мкл 96 % этанола. Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
8. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки жидкую часть лизата.
9. Внести 500 мкл раствора TE. Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
10. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки жидкую часть лизата.
11. Внести 500 мкл 1 М Tris. Перемешать содержимое пробирки на вортексе.
12. Центрифугировать 2 мин при максимальных оборотах. Удалить из пробирки жидкую часть лизата.
13. Поместите исследуемый биологический материал в basket UniSpin с Пробиркой для колонок UniSpin объемом 1.5 мл. Добавьте к исследуемому материалу в бастете UniSpin 485 мкл Лизирующего буфера и 15 мкл Протеиназы К и 5 мкл раствора 1M DTT. Закройте basket UniSpin крышкой Пробирки для колонок UniSpin. Перемешайте смесь на вортексе.



14. 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 (до 10 мкл) с последующей инкубацией в течение 1 часа при 56°C.
15. 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.
16. Дальнейшая процедура экстракции проводится в соответствии с протоколом автоматической экстракции (раздел 3).

#### 2.2.4 Дифференциальный лизис

Протокол предназначен для проведения дифференциальной экстракции биологического материала, содержащего сперматозоиды в смеси с эпителиальными клетками.

##### Протокол подготовки материала

1. Поместите исследуемый биологический материал в пробирку объемом 1.5 мл. 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 (до 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 нелизированного осадка, перенесите жидкую часть лизата в чистую пробирку объемом 1.5 мл для продолжения процедуры экстракции (**эпителиальный компонент**) – **Препарат №1**.
4. К твердому нелизированному 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 нелизированного осадка, удалите максимально возможный объем жидкой части лизата.
7. К твердому нелизированному осадку добавьте 485 мкл Лизирующего буфера и 15 мкл Протеиназы К и 5 мкл раствора 1M DTT. 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 баскет UniSpin с Пробиркой для колонок UniSpin объемом 1.5 мл. Закройте баскет 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 нелизированная 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).

## 2.2.5 Выделение ДНК из костной ткани

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 50 мг порошка (объем навески примерно равен 50-60 мкл).

### Протокол подготовки материала

1. Поместите навеску костного порошка в пробирку объемом 1.5 мл. Добавьте к исследуемому материалу 485 мкл лизирующего буфера «Декальцин», 15 мкл Протеиназы К и 5 мкл раствора 1M DDT. Кратко перемешайте смесь на вортексе. Проведите краткое центрифугирование для удаления капель со стенок пробирки.
2. Поместите пробирку в термостат. 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 со протоколом автоматической экстракции (раздел 3).

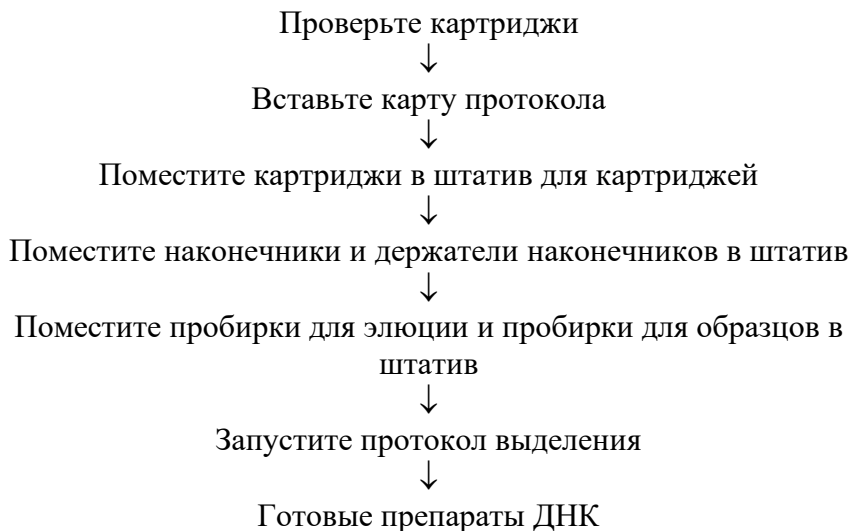
---

### 3. АВТОМАТИЧЕСКАЯ ЭКСТРАКЦИЯ

#### 4.1 Протокол автоматической экстракции

---

##### Краткая схема протокола автоматической экстракции



#### **1. Проверьте картриджи**

Извлеките необходимое количество картриджей из упаковки. Убедитесь, что в ячейках картриджей не наблюдается видимый осадок. Если наблюдается видимый осадок в растворах, то необходимо прогреть картридж при 37 °C в течение 30 минут, пока осадок не растворится. Прогревайте картриджи только перед началом использования. Убедитесь, что реагенты в картриджах находятся на дне ячеек.

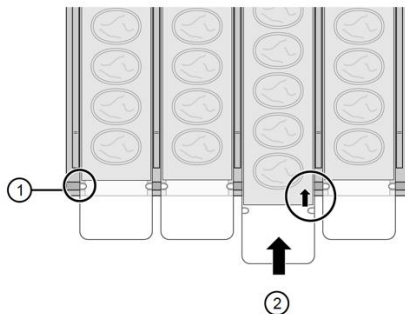
#### **2. Вставьте карту протокола**

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 протокол «PF Express» (кнопка 1). 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)