

## Руководство к набору QIAamp<sup>®</sup> DNA Investigator

Для выделения общей (геномной и митохондриальной) ДНК из поверхностных и буккальных мазков; карт FTA<sup>®</sup> и Гутри; пятен физиологических жидкостей; жевательной резинки; сигаретных окурков; обрезков ногтей; волос; бумаги и аналогичных материалов; небольших количеств крови или слюны; тканей; проб, полученных методом лазерной микродиссекции; костей; зубов; а также образцов, взятых при расследовании случаев изнасилования.



# QIAGEN Sample and Assay Technologies

Компания QIAGEN — ведущий поставщик инновационных технологий отбора и анализа проб, позволяющих выделять и распознавать компоненты любых биологических образцов. Наши высокотехнологичные продукты и услуги отличаются высоким качеством и обеспечивают успех на всех этапах работы, от взятия образца до получения результата анализа.

**QIAGEN задает стандарты в таких областях, как:**

- Выделение ДНК, РНК и белков
- Анализ нуклеиновых кислот и белков
- Исследование микро-РНК и РНК-интерференции
- Автоматизация технологических процессов отбора и анализа проб

Наша миссия заключается в том, чтобы помогать вам добиваться выдающихся успехов и совершать прорывы. Более подробную информацию см. на веб-сайте [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Комплектация

<b>Комплектация набора</b>	<b>4</b>
<b>Хранение</b>	<b>4</b>
<b>Назначение</b>	<b>4</b>
<b>Информация по технике безопасности</b>	<b>5</b>
<b>Контроль качества</b>	<b>5</b>
<b>Введение</b>	<b>6</b>
Принцип действия и порядок работы	6
Автоматизированное выделение ДНК на QIAcube	6
<b>Оборудование и реактивы, обеспечиваемые пользователем</b>	<b>9</b>
<b>Важные замечания</b>	<b>10</b>
РНК-носитель	10
Обращение с колонками QIAamp MinElute	10
Приготовление буферов	11
<b>Протоколы</b>	
■ <b>Выделение общей ДНК из поверхностных и буккальных мазков</b>	<b>13</b>
■ <b>Выделение общей ДНК из карт FTA и Гутри</b>	<b>17</b>
■ <b>Выделение общей ДНК из пятен физиологических жидкостей</b>	<b>20</b>
■ <b>Выделение общей ДНК из жевательной резинки</b>	<b>23</b>
■ <b>Выделение общей ДНК из сигаретных окурков</b>	<b>26</b>
■ <b>Выделение общей ДНК из обрезков ногтей и волос</b>	<b>29</b>
■ <b>Выделение общей ДНК из бумаги и аналогичных материалов</b>	<b>32</b>
■ <b>Выделение общей ДНК из небольших количеств крови или слюны</b>	<b>35</b>
■ <b>Выделение общей ДНК из тканей</b>	<b>38</b>
■ <b>Выделение общей ДНК из проб, полученных методом лазерной микродиссекции</b>	<b>41</b>
■ <b>Выделение общей ДНК из костей и зубов</b>	<b>44</b>
■ <b>Выделение общей ДНК из образцов, взятых при расследовании случаев изнасилования</b>	<b>47</b>
<b>Руководство по поиску и устранению неполадок</b>	<b>51</b>
<b>Приложение А: работа с ДНК</b>	<b>53</b>
<b>Приложение В: Очистка ДНК</b>	<b>53</b>
<b>Информация для заказа</b>	<b>55</b>

# Комплектация набора

<b>QIAamp DNA Investigator Kit</b>	<b>(50)</b>
<b>№ по каталогу</b>	<b>56504</b>
<b>Кол-во препаратов</b>	<b>50</b>
QIAamp MinElute® Columns (колонок QIAamp MinElute)	50
Collection Tubes (2 ml) (пробирки для сбора образцов)	200
Buffer ATL (буфер ATL)	50 ml
Buffer AL* (буфер AL)	33 ml
Buffer AW1* (concentrate) (буфер AW1) (концентрат)	19 ml
Buffer AW2† (concentrate) (буфер AW2) (концентрат)	13 ml
Buffer ATE (буфер ATE) (концентрат)	20 ml
Carrier RNA (red cap) (PHK-носителя) (красная крышка)	310 µg
Proteinase K (протеиназы K)	1.25 ml
Руководство по выбору	1

\* Содержит гуанидиновую соль. Несовместимо с дезинфицирующими средствами, содержащими отбеливающий компонент. Информацию по технике безопасности см. на стр. 5.

† Содержит натрия азид в качестве консерванта.

## Хранение

Колонки QIAamp MinElute после доставки подлежат хранению при температуре 2–8°C и сохраняют стабильность в таких условиях не менее одного года после доставки. Однако кратковременное (до 4 недель) хранение при комнатной температуре (15–25°C) не влияет на их функциональные характеристики.

Все буферы можно хранить при комнатной температуре. Они сохраняют стабильность не менее одного года после доставки.

Набор QIAamp DNA Investigator содержит новый готовый к использованию раствор протеиназы K, который поставляется в специальном буфере для хранения. Протеиназа K сохраняет стабильность не менее одного года после доставки при хранении при комнатной температуре. При хранении протеиназы K более одного года, а также если температура окружающего воздуха часто превышает 25°C, рекомендуется использовать температуру 2–8°C.

## Назначение

Набор QIAamp DNA Investigator предназначен для использования в молекулярной биологии. Данный продукт не предназначен для диагностики, профилактики, а также лечения заболеваний.

При обращении с продуктами следует тщательно соблюдать все надлежащие меры предосторожности. Всем пользователям продукции QIAGEN® рекомендуется следовать директивам Национального института здравоохранения США (National Institute of Health, NIH), разработанным для опытов с рекомбинантной ДНК, и другим действующим методическим указаниям.

# Информация по технике безопасности

При работе с химическими веществами обязательно надевайте соответствующие халат, одноразовые перчатки и защитные очки. Дополнительную информацию см. в соответствующих паспортах безопасности (ПБ). Для каждого набора QIAGEN и каждого компонента набора их можно найти, просмотреть и распечатать в Интернете по адресу [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), где они размещены в удобном и компактном формате PDF.



**ВНИМАНИЕ! НЕ добавляйте отбеливающие вещества и кислые растворы непосредственно в отходы, образовавшиеся в результате приготовления образцов.**

Буферы AL и AW1 содержат гуанидингидрохлорид, который в сочетании с отбеливающими агентами может образовывать высокоактивные соединения.

При пролипании жидкости, содержащей эти буферы, вымойте загрязненную поверхность водным раствором подходящего лабораторного моющего средства. Если пролитая жидкость содержит потенциальные возбудители инфекции, вымойте загрязненный участок сначала водным раствором лабораторного моющего средства, а затем 1 % (объемное содержание) раствором гипохлорита натрия.

## **Круглосуточная аварийная информационная служба**

Необходимая в чрезвычайных ситуациях информация на английском, французском и немецком языках доступна круглосуточно и предоставляется следующей службой:

Информационный центр по отравлениям, Майнц, Германия

Тел.: +49-6131-19240

## **Контроль качества**

В рамках сертифицированной по ISO системы управления качеством компании QIAGEN каждая партия наборов QIAamp DNA Investigator проходит проверку на соответствие определенным параметрам в целях обеспечения стабильного качества продукции.

# Введение

В наборе QIAamp DNA Investigator используется отработанная технология выделения геномной и митохондриальной ДНК из образцов небольшого объема или размера. В наборе сочетаются свойства селективного связывания мембраны на основе кремнезема и гибкость в отношении элюирующего объема, который может составлять от 20 до 100 мкл. Данная методика подходит для широкого спектра образцов, используемых в судебной медицине, а также для идентификации личности.

Эта методика позволяет избежать перекрестной контаминации образцов. После лизиса образцов простая процедура применения набора QIAamp DNA Investigator, которая превосходно подходит для одновременной обработки нескольких образцов, позволяет получить чистую ДНК менее чем за 40 минут.

ДНК элюируется в буфере АТЕ или воде и сразу пригодна для использования в реакциях амплификации либо хранения при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . Очищенная ДНК не содержит белков, нуклеаз и других ингибиторов.

## Принцип действия и порядок работы

Процедура применения набора QIAamp DNA Investigator состоит из 4 этапов (см. графическую схему, стр. 8):

- Лизис: образец лизируется в денатурирующих условиях с протеиназой K
- Связывание: ДНК связывается с мембраной, а примеси проходят через нее
- Отмывка: оставшиеся примеси вымываются
- Элюирование: чистая, концентрированная ДНК элюируется из мембраны

## Автоматизированное выделение ДНК на QIAcube®

Выделение ДНК из образцов, используемых в судебной медицине, а также для идентификации личности, с помощью набора QIAamp DNA Investigator можно автоматизировать с помощью рабочей станции QIAcube. В инновационном решении QIAcube используются передовые технологии обработки центрифужных колонок QIAGEN, обеспечивающие полную интеграцию автоматизированной медленной подготовки проб в лабораторный рабочий процесс. Приготовление образцов с помощью QIAcube осуществляется в том же порядке, что и ручная процедура (т. е. тоже включает этапы лизиса, связывания, отмывки и элюирования). Подробнее об автоматизированной процедуре см. в соответствующем протоколе на веб-сайте по адресу: [www.qiagen.com/MyQIAcube](http://www.qiagen.com/MyQIAcube).

На рабочей станции QIAcube используются предустановленные протоколы выделения плазмидной ДНК, геномной ДНК, РНК, нуклеиновых кислот вирусов, белков, а также очистки ДНК и РНК. Диапазон доступных протоколов постоянно расширяется, дополнительные протоколы QIAGEN можно загрузить бесплатно на веб-сайте [www.qiagen.com/MyQIAcube](http://www.qiagen.com/MyQIAcube).



**Рис. 1. Автоматизированное выделение ДНК.** Выделение ДНК с помощью набора QIAamp DNA Investigator можно автоматизировать с помощью рабочей станции QIAcube.



Возможность полной автоматизации с помощью рабочей станции



# Оборудование и реактивы, обеспечиваемые пользователем

При работе с химическими веществами обязательно надевайте соответствующие халат, одноразовые перчатки и защитные очки. Подробнее см. в соответствующих паспортах безопасности (ПБ), предоставляемых поставщиком продукции.

- Этиловый спирт (96–100 %)\*
- Микроцентрифужные пробирки 0,2 мл, 1,5 мл или 2 мл (для этапов лизиса)
- Микроцентрифужные пробирки 1,5 мл (для этапов отмывки и элюирования) (предлагаются поставщиками Brinkmann [с защелкой Safe-Lock, № по кат. 022363204], Eppendorf [с защелкой Safe-Lock, № по кат. 0030 120.086] и Sarstedt [с предохранительной крышкой, № по кат. 72.690])†
- Наконечники пипеток (во избежание перекрестной контаминации рекомендуется использовать наконечники пипеток с аэрозольным барьером)
- Термомиксер, орбитальный инкубатор с подогревом, термостат или водяная баня
- Микроцентрифуга с ротором, для пробирок 2 мл

## Для мазков, карт FTA и Гутри, жевательной резинки, сигаретных окурков, обрезков ногтей и волос, бумаги и аналогичных материалов

- Ножницы или подходящее приспособление для резки

## Для мазков и текстильных материалов с пятнами

- Дополнительно: центрифужные колонки QIAshredder (для обеспечения максимального выхода) — см. информацию для заказа на стр. 55

## Для обрезков ногтей и волос, пятен спермы и образцов, взятых при расследовании случаев изнасилования

- Дитиотреитол (ДТТ), 1 М водный раствор

## Для проб, полученных методом лазерной микродиссекции

- Микроцентрифужные пробирки 0,2 мл (для этапов лизиса)

## Для костей и зубов

- Металлический блендер (напр., Waring)† или TissueLyser II с набором сосудов для размола, нерж. сталь — см. информацию для заказа на стр. 55
- Жидкий азот

## Для образцов, взятых при расследовании случаев изнасилования

- Дополнительный буфер ATL — см. информацию для заказа на стр. 55

\* Не используйте денатурированный спирт. Он содержит посторонние вещества, такие как метиловый спирт или метилэтилкетон.

† Представленный перечень поставщиков не является полным, в него не включены многие крупные производители биологического оборудования.

# Важные замечания

## РНК-носитель

Набор поставляется с РНК-носителем, которую при необходимости можно добавить в буфер AL. РНК-носитель улучшает связывание ДНК с мембраной колонки QIAamp MinElute, особенно если в образце очень мало целевых молекул.

Предоставляемое количество лиофилизированной РНК-носителя является достаточным для входящего в набор объема буфера AL. Концентрация РНК-носителя, предусмотренная процедурой применения QIAamp DNA Investigator, позволяет использовать эту процедуру в качестве универсальной системы выделения целевых веществ, совместимой с многими системами амплификации.

Разные системы амплификации характеризуются разной эффективностью в зависимости от общего количества нуклеиновой кислоты, участвующей в реакции. Если используется РНК-носитель, то элюаты из колонок QIAamp MinElute содержат как ДНК из образца, так и РНК-носитель, причем количество РНК-носителя значительно превосходит количество ДНК. Поэтому при расчетах количества элюата, которое следует добавлять на последующих этапах работы при амплификации, необходимо опираться на количество РНК-носителя, добавленное в буфер AL. Для достижения максимальной чувствительности реакций амплификации может потребоваться скорректировать количество РНК-носителя, добавляемое в буфер AL.

## Обращение с колонками QIAamp MinElute

В силу чувствительности технологий амплификации нуклеиновых кислот в обращении с колонками QIAamp MinElute во избежание перекрестной контаминации образцов необходимо принимать следующие меры предосторожности:

- Соблюдайте осторожность при нанесении образца или раствора на колонку QIAamp MinElute. При переносе образца в колонку QIAamp MinElute с помощью пипетки не допускайте попадания образца на края колонки.
- Всегда заменяйте наконечники пипеток между операциями переноса жидкости. Рекомендуется использовать наконечники пипеток с аэрозольным барьером.
- Не допускайте соприкосновения наконечника пипетки с мембраной колонки QIAamp MinElute.
- После выполнения всех этапов пульсационного перемешивания кратковременно центрифугируйте микроцентрифужные пробирки для удаления капель жидкости с внутренней стороны крышек.
- Открывайте только по одной колонке QIAamp MinElute за один раз и соблюдайте осторожность во избежание формирования аэрозолей.
- Вся процедура необходимо выполнять в перчатках. В случае соприкосновения перчаток с образцом немедленно замените перчатки.

### Центрифугирование

Колонки QIAamp MinElute помещаются в большинство стандартных микроцентрифужных пробирок 1,5–2 мл. Дополнительные пробирки для сбора образцов 2 мл можно заказать отдельно.

Центрифугирование колонок QIAamp MinElute выполняется при 6000 x g (8000 об/мин) в целях уменьшения шума при центрифугировании. Центрифугирование на полной скорости не позволяет увеличить выход ДНК.

Однако центрифугирование колонок QIAamp MinElute на полной скорости является обязательным на 2 этапах процедуры: этапе сухого центрифугирования после отмывки мембран и этапе элюирования.

Все этапы центрифугирования следует выполнять при комнатной температуре (15–25°C).

### **Обработка колонок QIAamp MinElute в микроцентрифуге**

- Всегда закрывайте колонки QIAamp MinElute перед помещением их в микроцентрифугу. Центрифугируйте колонки, как описано в соответствующем протоколе.
- Проточные фракции могут содержать опасные отходы, и их следует утилизировать надлежащим образом.
- Для эффективной параллельной обработки нескольких образцов рекомендуется заполнять штатив пробирками для сбора образцов, в которые можно перенести колонки QIAamp MinElute после центрифугирования. И использованные пробирки для сбора образцов, содержащие фильтрат, можно удалять в отходы, после чего новые пробирки для сбора образцов с колонками QIAamp MinElute можно помещать прямо в микроцентрифугу.

## **Приготовление буферов**

### **Приготовление буфера ATL**

Перед началом процедуры проверьте, образовался ли в буфере ATL осадок. При необходимости растворите осадок путем нагревания до температуры 70°C при осторожном помешивании.

### **Приготовление буфера AL**

Перед началом процедуры проверьте, образовался ли в буфере AL осадок. При необходимости растворите осадок путем нагревания до температуры 70°C при осторожном помешивании.

### **Приготовление буфера AW1**

Добавьте 25 мл этилового спирта (96–100 %) во флакон, содержащий 19 мл концентрата буфера AW1. Укажите, что этиловый спирт добавлен, отметив галочкой соответствующее поле на этикетке флакона. Разведенный буфер AW1 можно хранить при комнатной температуре (15–25°C) не более 1 года.

**Примечание.** перед началом процедуры перемешайте разведенный буфер AW1 встряхиванием.

### **Приготовление буфера AW2**

Добавьте 30 мл этилового спирта (96–100 %) во флакон, содержащий 13 мл концентрата буфера AW2. Разведенный буфер AW2 можно хранить при комнатной температуре (15–25°C) не более 1 года.

**Примечание.** перед началом процедуры перемешайте разведенный буфер AW2 встряхиванием.

## Внесение РНК-носителя в буфер AL

При выделении ДНК из очень небольших количеств образца, например из малых объемов крови (<10 мкл) или образцов, используемых в судебной медицине, рекомендуется добавлять в буфер AL РНК-носитель. Для образцов, содержащих ДНК в больших количествах, добавление РНК-носителя необязательно.

Добавьте 310 мкл буфера АТЕ в пробирку, содержащую 310 мкг лиофилизированной РНК-носителя, для получения раствора концентрацией 1 мкг/мкл. Полностью растворите РНК-носитель, разделите ее на аликвоты удобного объема и храните при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . Не подвергайте аликвоты РНК-носителя—замораживанию и оттаиванию более 3 раз.

Рассчитайте объем буфера AL и растворенной РНК-носителя, необходимый для партии образцов, умножив количество образцов, подлежащих **одновременной** обработке, на объемы, указанные в таблице 1. Чтобы сделать поправку на ошибки пипетирования, всегда готовьте буфер в количестве, достаточном для обработки еще двух образцов сверх запланированного количества.

Осторожно перемешайте буфер AL и растворенную РНК-носитель перевернув пробирку 10 раз. Во избежание образования пены не перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом. Следует учитывать, что РНК-носитель не растворяется в буфере AL. Ее необходимо сначала растворять в буфере АТЕ, а затем вносить в буфер AL. Буфер AL, содержащий РНК-носитель, сохраняет стабильность при комнатной температуре ( $15-25^{\circ}\text{C}$ ) до 48 часов.

**Таблица 1. Объемы буфера AL и растворенной РНК-носителя, необходимые для приготовления одного препарата ДНК с использованием набора QIAamp DNA Investigator**

Протокол	Объем буфера AL, добавляемый в образец (мкл)	Растворенная РНК-носитель (мкл)
Поверхностные и буккальные мазки	600* или 400†	1
Карты ФТА и Гутри	300	1
Пятна физиологических жидкостей	300	1
Жевательная резинка	300	1
Сигаретные окурки	300	1
Обрезки ногтей и волосы	300	1
Бумага и аналогичные материалы	300	1
Небольшие объемы крови и слюны	100	1
Ткани	200	1
Пробы, полученные методом лазерной микродиссекции	50	1
Кости и зубы	300	1
Образцы, взятые при расследовании случаев изнасилования		300 1

\* При использовании отделяемых мазков (напр., мазков Whatman® Omni).

† При использовании неотделяемых мазков (напр., на ватных тампонах или мазков Dacron®).

# Протокол: Выделение общей ДНК из поверхностных и буккальных мазков

Данный протокол предусмотрен для выделения общей (геномной и митохондриальной) ДНК из поверхностных мазков, а также мазков спермы, крови и слюны.

## Важные замечания перед началом работы

- Выполняйте все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15–25°C).
- Проверьте, требуется ли РНК-носитель (см. стр. 10 и 12).

## Необходимые действия перед началом процедуры

- Доведите буфер АТЕ или дистиллированную воду для элюирования до комнатной температуры (15–25°C).
- Задайте на термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом температуру 56°C для использования на этапе 3 и (дополнительном) этапе 15, а еще на одном термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом — температуру 70°C для использования на этапе 6. При отсутствии термомиксеров или орбитальных инкубаторов с подогревом можно использовать термостаты или водяные бани.
- При обработке мазков спермы приготовьте исходный 1 М водный раствор ДТТ (дитиотреитола). Храните аликвоты этого раствора при температуре –20°C, размораживая непосредственно перед использованием.
- Если буфер AL или буфер ATL содержит осадок, растворите осадок нагреванием до 70°C при осторожном помешивании.
- Убедитесь, что буферы AW1 и AW2 приготовлены в соответствии с инструкциями на стр.11.
- Дополнительно: для сбора оставшегося в мазке лизата могут потребоваться центрифужные колонки QIAshredder.

## Порядок работы

- 1. Поместите мазок в микроцентрифужную пробирку 2 мл (не входит в комплект поставки).**

Если используется мазок Omni, отделите мазок, сдвинув концевую часть ножки в направлении мазка.

Если используется мазок на ватном тампоне или мазок Dacron, отделите мазок от стержня вручную или с помощью ножниц.
- 2. Добавьте 20 мкл протеиназы К и либо 600 мкл буфера ATL (если используется мазок Omni), либо 400 мкл буфера ATL (если используется мазок на ватном тампоне или мазок Dacron), закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.**
- 3. Поместите пробирку 2 мл в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 56°C при встряхивании (900 об/мин) не менее 1 ч.**

Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 10 мин для улучшения лизиса.

4. Кратковременно центрифугируйте пробирку 2 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.
5. Добавьте либо 600 мкл буфера AL (если используется мазок Omni), либо 400 мкл буфера AL (если используется мазок на ватном тампоне или мазок Dacron), закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 15 с.

Для обеспечения эффективного лизиса необходимо тщательно перемешать образец с буфером AL, получив однородный раствор.

При добавлении буфера AL в буфер ATL возможно образование белого осадка. Этот осадок не мешает выполнению процедуры QIAamp и растворяется во время инкубирования на этапе 6.

**Примечание.** Если требуется РНК-носитель (см. стр. 10), добавьте 1 мкг растворенной РНК-носителя в 600 мкл буфера AL (если используется мазок Omni) либо в 400 мкл буфера AL (если используется мазок на ватном тампоне или мазок Dacron). Следует учитывать, что РНК-носитель не растворяется в буфере AL. Ее необходимо сначала растворять в буфере АТЕ, а затем вносить в буфер AL.

6. Поместите пробирку 2 мл в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 70°C при встряхивании (900 об/мин) в течение 10 мин.

Если используется термоблок или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 3 мин для улучшения лизиса.

7. Кратковременно центрифугируйте пробирку 2 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.
8. Добавьте либо 300 мкл этилового спирта (96–100 %) (если используется мазок Omni), либо 200 мкл этилового спирта (96–100 %) (если используется мазок на ватном тампоне или мазок Dacron), закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 15 с.

Для обеспечения эффективного связывания на этапе 10 необходимо тщательно перемешать образец с этиловым спиртом, получив однородный раствор.

9. Кратковременно центрифугируйте пробирку 2 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.
10. Если используется мазок Omni, следуйте инструкциям для этапа 10а. Если используется мазок на ватном тампоне или мазок Dacron, следуйте инструкциям для этапа 10b.

- 10a.** Осторожно перенесите 700 мкл лизата, полученного на этапе 9, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края, закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Осторожно удалите в отходы фильтрат из пробирки для сбора образцов, а затем поместите колонку QIAamp MinElute обратно в пробирку для сбора образцов. Осторожно нанесите оставшийся лизат, полученный на этапе 9, на колонку QIAamp MinElute. не замочив края, закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат. Если лизат не полностью прошел через мембрану при центрифугировании, выполните центрифугирование повторно с более высокой скоростью, пока колонка QIAamp MinElute не опустошится.

**Примечание.** В мазке остается до 250 мкл лизата. Чтобы собрать этот оставшийся лизат, поместите мазок в центрифужную колонку QIAshredder (не входит в комплект поставки) и центрифугируйте на полной скорости (20000 x g; 14000 об/мин) в течение 2 мин. Перенесите фильтрат в колонку QIAamp MinElute, не замочив края, закройте крышку и центрифугируйте при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин.

- 10b.** Осторожно перенесите весь лизат, полученный на этапе 9, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края, закройте крышку и центрифугируйте при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов с фильтратом.

Если лизат не полностью прошел через мембрану при центрифугировании, выполните центрифугирование повторно с более высокой скоростью, пока колонка QIAamp MinElute не опустошится.

**Примечание.** В мазке остается до 200 мкл лизата. Чтобы собрать этот оставшийся лизат, поместите мазок в центрифужную колонку QIAshredder (не входит в комплект поставки) и центрифугируйте на полной скорости (20000 x g; 14000 об/мин) в течение 2 мин. Перенесите фильтрат в колонку QIAamp MinElute, не замочив края, закройте крышку и центрифугируйте при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин.

- 11.** Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 500 мкл буфера AW1, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.
- 12.** Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл буфера AW2, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.

Не следует допускать соприкосновения колонки QIAamp MinElute с фильтратом. Некоторые центрифужные роторы могут вибрировать при снижении скорости, в результате чего фильтрат, содержащий этиловый спирт, соприкасается с колонкой QIAamp MinElute. При извлечении колонки QIAamp MinElute и пробирки для сбора образцов из ротора соблюдайте осторожность во избежание соприкосновения фильтрата с колонкой QIAamp MinElute.

13. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл этилового спирта (96–100 %), не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.

14. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 3 мин для полного высушивания мембраны.

Этот этап необходим, поскольку перенос этилового спирта в элюат может помешать на некоторых последующих этапах работы.

15. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки) и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр. Осторожно откройте крышку колонки QIAamp MinElute и инкубируйте колонку при комнатной температуре (15–25°C) в течение 10 мин или при 56°C в течение 3 мин.

16. Нанесите 20–100 мкл буфера АТЕ или дистиллированной воды по центру мембраны.

**Важно!** Убедитесь, что буфер АТЕ или дистиллированная вода доведены до комнатной температуры. Нанесите буфер АТЕ или дистиллированную воду по центру мембраны, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК.

Колонки QIAamp MinElute обеспечивают гибкость в выборе элюирующего объема. Подберите объем в соответствии с нуждами последующих этапов работы. Элюирование небольшими объемами ведет к значительному увеличению конечной концентрации ДНК в элюате, однако влечет за собой уменьшение общего выхода ДНК. Следует помнить о том, что объем элюата будет на величину до 5 мкл меньше объема элюирующего раствора, нанесенного на колонку.

17. Закройте крышку и инкубируйте содержимое при комнатной температуре в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.

Инкубирование колонки QIAamp MinElute с буфером АТЕ или водой в течение 5 мин при комнатной температуре перед центрифугированием обычно позволяет увеличить выход ДНК.



# Протокол: Выделение общей ДНК из карт FTA и Гутри

Данный протокол предусмотрен для выделения общей (геномной и митохондриальной) ДНК из цельной крови, слюны, а также буккальных клеток, высушенных и иммобилизованных на картах FTA, картах Гутри и аналогичных устройствах для сбора проб.

## Важное замечание перед началом работы

- Выполняйте все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15–25°C).

## Необходимые действия перед началом процедуры

- Доведите буфер АТЕ или дистиллированную воду для элюирования до комнатной температуры (15–25°C).
- Если буфер AL или буфер ATL содержит осадок, растворите осадок нагреванием до 70°C при осторожном помешивании.
- Задайте на термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом температуру 56°C для использования на этапе 4 и (дополнительном) этапе 16, а еще на одном термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом — температуру 70°C для использования на этапе 7. При отсутствии термомиксеров или орбитальных инкубаторов с подогревом можно использовать термостаты или водяные бани.
- Убедитесь, что буферы AW1 и AW2 приготовлены в соответствии с инструкциями на стр.11.
- Дополнительно: при обработке очень небольших количеств исходного материала добавляйте в буфер AL РНК-носитель, растворенную в буфере АТЕ, согласно инструкциям на стр. 12.

## Порядок работы

1. С помощью бумажного дырокола для пробивания одного отверстия получите кружки диаметром 3 мм на сухом участке карты. Поместите до 3 вырезанных из карты кружков в микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки).
2. Добавьте 280 мкл буфера ATL.
3. Добавьте 20 мкл протеиназы К и тщательно перемешайте содержимое вихревым способом.
4. Поместите пробирку 1,5 мл в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 56°C при встряхивании (900 об/мин) в течение 1 ч.  
Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 10 мин для улучшения лизиса.
5. Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.

6. **Добавьте 300 мкл буфера AL, закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.**

Для обеспечения эффективного лизиса необходимо тщательно перемешать образец с буфером AL, получив однородный раствор.

При добавлении буфера AL в буфер ATL возможно образование белого осадка. Этот осадок не мешает выполнению процедуры QIAamp и растворяется во время инкубирования с подогревом на этапе 7.

**Примечание.** Если обрабатывается только 1 кружок диаметром не более 3 мм из карты крови, рекомендуется добавить в буфер AL РНК-носитель (см. стр. 12). Следует учитывать, что РНК-носитель не растворяется в буфере AL. Ее необходимо сначала растворять в буфере ATE, а затем вносить в буфер AL.

7. **Поместите пробирку 1,5 мл в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 70°C при встряхивании (900 об/мин) в течение 10 мин.**

Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 3 мин.

8. **Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**
9. **Добавьте 150 мкл этилового спирта (96–100 %), закройте крышку и тщательно перемешивайте содержимое пульсационным способом в течение 15 с.**

Для обеспечения эффективного связывания на этапе 11 необходимо тщательно перемешать образец с этиловым спиртом, получив однородный раствор.

10. **Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**
11. **Осторожно перенесите весь лизат, полученный на этапе 10, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края, закройте крышку и центрифугируйте при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов с фильтратом.**

Если лизат не полностью прошел через мембрану при центрифугировании, выполните центрифугирование повторно с более высокой скоростью, пока колонка QIAamp MinElute не опустошится.

12. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 500 мкл буфера AW1, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**
13. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл буфера AW2, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**

Не следует допускать соприкосновения колонки QIAamp MinElute с фильтратом. Некоторые центрифужные роторы могут вибрировать при снижении скорости, в результате чего фильтрат, содержащий этиловый спирт, соприкасается с колонкой QIAamp MinElute. При извлечении колонки QIAamp MinElute и пробирки для сбора образцов из ротора соблюдайте осторожность во избежание соприкосновения фильтрата с колонкой QIAamp MinElute.

- Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл этилового спирта (96–100 %), не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.

- Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 3 мин для полного высушивания мембраны.

Этот этап необходим, поскольку перенос этилового спирта в элюат может помешать на некоторых последующих этапах работы.

- Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки) и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат. Осторожно откройте крышку колонки QIAamp MinElute и инкубируйте колонку при комнатной температуре (15–25°C) в течение 10 мин или при 56°C в течение 3 мин.

- Нанесите 20–100 мкл буфера АТЕ или дистиллированной воды по центру мембраны.

**Важно!** Убедитесь, что буфер АТЕ или дистиллированная вода доведены до комнатной температуры. При использовании малых элюирующих объемов (<50 мкл) наносите буфер АТЕ или дистиллированную воду по центру мембраны, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК.

Колонки QIAamp MinElute обеспечивают гибкость в выборе элюирующего объема. Подберите объем в соответствии с нуждами последующих этапов работы. Элюирование небольшими объемами ведет к значительному увеличению конечной концентрации ДНК в элюате, однако влечет за собой уменьшение общего выхода ДНК. Следует помнить о том, что объем элюата будет на величину до 5 мкл меньше объема элюирующего раствора, нанесенного на колонку.

- Закройте крышку и инкубируйте содержимое при комнатной температуре в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.

Инкубирование колонки QIAamp MinElute с буфером АТЕ или водой в течение 5 мин при комнатной температуре перед центрифугированием обычно позволяет увеличить выход ДНК.

# Протокол: Выделение общей ДНК из пятен физиологических жидкостей

Данный протокол предусмотрен для выделения общей (геномной и митохондриальной) ДНК из материалов с пятнами крови, слюны или спермы.

## Важные замечания перед началом работы

- Выполняйте все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15–25°C).
- Проверьте, требуется ли РНК-носитель (см. стр. 10 и 12).

## Необходимые действия перед началом процедуры

- Доведите буфер АТЕ или дистиллированную воду для элюирования до комнатной температуры (15–25°C).
- Задайте на термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом температуру 56°C для использования на этапе 3 и (дополнительном) этапе 16, а еще на одном термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом — температуру 70°C для использования на этапе 6. При отсутствии термомиксеров или орбитальных инкубаторов с подогревом можно использовать термостаты или водяные бани.
- Если буфер AL или буфер ATL содержит осадок, растворите осадок нагреванием до 70°C при осторожном помешивании.
- При обработке пятен спермы приготовьте исходный 1 М водный раствор ДТТ (дитиотреитола). Храните аликвоты этого раствора при температуре –20°C, размораживая непосредственно перед использованием.
- Убедитесь, что буферы AW1 и AW2 приготовлены в соответствии с инструкциями на стр.11.
- Дополнительно: при обработке текстильных материалов с пятнами могут потребоваться центрифужные колонки QIAshredder.

## Порядок работы

1. Отрежьте до 0,5 см<sup>2</sup> материала с пятнами, а затем разрежьте полученный кусок на более мелкие части. Поместите куски материала в микроцентрифужную пробирку 2 мл (не входит в комплект поставки).
2. Добавьте 300 мкл буфера ATL и 20 мкл протеиназы К. При обработке пятен спермы добавьте также 20 мкл 1 М раствора ДТТ. Закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.
3. Поместите пробирку в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 56°C при встряхивании (900 об/мин) не менее 1 ч.  
Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 10 мин для улучшения лизиса.
4. Кратковременно центрифугируйте пробирку для удаления капель с внутренней стороны крышки.

- 5. Добавьте 300 мкл буфера AL, закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.**

Для обеспечения эффективного лизиса необходимо тщательно перемешать образец с буфером AL, получив однородный раствор.

При добавлении буфера AL в буфер ATL возможно образование белого осадка. Этот осадок не мешает выполнению процедуры QIAamp и растворяется во время инкубирования на этапе 6.

**Примечание.** Если требуется РНК-носитель (см. стр. 10), добавьте 1 мкг растворенной РНК-носителя в 300 мкл буфера AL. Следует учитывать, что РНК-носитель не растворяется в буфере AL. Ее необходимо сначала растворять в буфере ATE, а затем вносить в буфер AL.
- 6. Поместите пробирку в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 70°C при встряхивании (900 об/мин) в течение 10 мин.**

Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 3 мин для улучшения лизиса.
- 7. Кратковременно центрифугируйте пробирку 2 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**

Если по-прежнему видны твердые частицы, центрифугируйте пробирку при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин и осторожно перенесите надосадочную жидкость в новую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки).

Для сбора лизата, оставшегося в твердом материале образца (напр., джинсовой ткани) можно перенести материал в центрифужную колонку QIAshredder (не входит в комплект поставки) и центрифугировать на полной скорости в течение 2 мин. Перенесите фильтрат в новую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки).
- 8. Добавьте 150 мкл этилового спирта (96–100 %), закройте крышку и тщательно перемешивайте содержимое пульсационным способом в течение 15 с.**

Для обеспечения эффективного связывания на этапе 10 необходимо тщательно перемешать образец с этиловым спиртом, получив однородный раствор.
- 9. Кратковременно центрифугируйте пробирку для удаления капель с внутренней стороны крышки.**
- 10. Осторожно перенесите надосадочную жидкость, полученную на этапе 9, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края.**
- 11. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**

Если лизат не полностью прошел через мембрану при центрифугировании, выполните центрифугирование повторно с более высокой скоростью, пока колонка QIAamp MinElute не опустошится.
- 12. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 500 мкл буфера AW1, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**

13. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл буфера AW2, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.

Не следует допускать соприкосновения колонки QIAamp MinElute с фильтратом. Некоторые центрифужные роторы могут вибрировать при снижении скорости, в результате чего фильтрат, содержащий этиловый спирт, соприкасается с колонкой QIAamp MinElute. При извлечении колонки QIAamp MinElute и пробирки для сбора образцов из ротора соблюдайте осторожность во избежание соприкосновения фильтрата с колонкой QIAamp MinElute.

14. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл этилового спирта (96–100 %), не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.

15. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 3 мин для полного высушивания мембраны.

Этот этап необходим, поскольку перенос этилового спирта в элюат может помешать на некоторых последующих этапах работы.

16. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки) и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр. Осторожно откройте крышку колонки QIAamp MinElute и инкубируйте колонку при комнатной температуре (15–25°C) в течение 10 мин или при 56°C в течение 3 мин.

17. Нанесите 20–50 мкл буфера ATE или дистиллированной воды по центру мембраны.

**Важно!** Убедитесь, что буфер ATE или дистиллированная вода доведены до комнатной температуры. Нанесите буфер ATE или дистиллированную воду по центру мембраны, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК.

Колонки QIAamp MinElute обеспечивают гибкость в выборе элюирующего объема. Подберите объем в соответствии с нуждами последующих этапов работы. Элюирование небольшими объемами ведет к значительному увеличению конечной концентрации ДНК в элюате, однако влечет за собой уменьшение общего выхода ДНК. Следует помнить о том, что объем элюата будет на величину до 5 мкл меньше объема элюирующего раствора, нанесенного на колонку.

18. Закройте крышку и инкубируйте содержимое при комнатной температуре в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.

Инкубирование колонки QIAamp MinElute с буфером ATE или водой в течение 5 мин при комнатной температуре перед центрифугированием обычно позволяет увеличить выход ДНК.

# Протокол: Выделение общей ДНК из жевательной резинки

Данный протокол предусмотрен для выделения общей (геномной и митохондриальной) ДНК из жевательной резинки.

## Важные замечания перед началом работы

- Выполняйте все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15–25°C).
- Проверьте, требуется ли РНК-носитель (см. стр. 10 и 12).

## Необходимые действия перед началом процедуры

- Доведите буфер АТЕ или воду для элюирования до комнатной температуры (15–25°C).
- Задайте на термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом температуру 56°C для использования на этапе 3 и (дополнительном) этапе 15, а еще на одном термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом — температуру 70°C для использования на этапе 6. При отсутствии термомиксеров или орбитальных инкубаторов с подогревом можно использовать термостаты или водяные бани.
- Если буфер AL или буфер ATL содержит осадок, растворите осадок нагреванием до 70°C при осторожном помешивании.
- Убедитесь, что буферы AW1 и AW2 приготовлены в соответствии с инструкциями на стр.11.

## Порядок работы

1. Разрежьте не более 30 мг жевательной резинки на мелкие части и перенесите их в микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки).
2. Добавьте 300 мкл буфера ATL и 20 мкл протеиназы К и перемешивайте содержимое пульсационным способом в течение 10 с.
3. Поместите пробирку 1,5 мл в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 56°C при встряхивании (900 об/мин) не менее 3 ч.  
Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 30 мин для улучшения лизиса.
4. Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.

5. **Добавьте 300 мкл буфера AL, закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.**

Для обеспечения эффективного лизиса необходимо тщательно перемешать образец с буфером AL, получив однородный раствор.

При добавлении буфера AL в буфер ATL возможно образование белого осадка. Этот осадок не мешает выполнению процедуры QIAamp и растворяется во время инкубирования на этапе 6.

**Примечание.** Если требуется РНК-носитель (см. стр. 10), добавьте 1 мкг растворенной РНК-носителя в 300 мкл буфера AL. Следует учитывать, что РНК-носитель не растворяется в буфере AL. Ее необходимо сначала растворять в буфере ATE, а затем вносить в буфер AL.

6. **Поместите пробирку 1,5 мл в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 70°C при встряхивании (900 об/мин) в течение 1 ч.**

Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 10 мин для улучшения лизиса.

7. **Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**

Если по-прежнему видны твердые частицы, центрифугируйте пробирку при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин и осторожно перенесите надосадочную жидкость в новую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки).

8. **Добавьте 150 мкл этилового спирта (96–100 %), закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.**

Для обеспечения эффективного связывания на этапе 10 необходимо тщательно перемешать образец с этиловым спиртом, получив однородный раствор.

9. **Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.**

10. **Осторожно перенесите надосадочную жидкость, полученную на этапе 9, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края, закройте крышку и центрифугируйте при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов с фильтратом.**

Если лизат не полностью прошел через мембрану при центрифугировании, выполните центрифугирование повторно с более высокой скоростью, пока колонка QIAamp MinElute не опустошится.

11. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 500 мкл буфера AW1, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**



12. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл буфера AW2, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.

Не следует допускать соприкосновения колонки QIAamp MinElute с фильтратом. Некоторые центрифужные роторы могут вибрировать при снижении скорости, в результате чего фильтрат, содержащий этиловый спирт, соприкасается с колонкой QIAamp MinElute. При извлечении колонки QIAamp MinElute и пробирки для сбора образцов из ротора соблюдайте осторожность во избежание соприкосновения фильтрата с колонкой QIAamp MinElute.

13. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл этилового спирта (96–100 %), не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.

14. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 3 мин для полного высушивания мембраны.

Этот этап необходим, поскольку перенос этилового спирта в элюат может помешать на некоторых последующих этапах работы.

15. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки) и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат. Осторожно откройте крышку колонки QIAamp MinElute и инкубируйте колонку при комнатной температуре (15–25°C) в течение 10 мин или при 56°C в течение 3 мин.

16. Нанесите 20–50 мкл буфера АТЕ или дистиллированной воды по центру мембраны.

**Важно!** Убедитесь, что буфер АТЕ или дистиллированная вода доведены до комнатной температуры. Нанесите буфер АТЕ или дистиллированную воду по центру мембраны, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК.

Колонки QIAamp MinElute обеспечивают гибкость в выборе элюирующего объема. Подберите объем в соответствии с нуждами последующих этапов работы. Элюирование небольшими объемами ведет к значительному увеличению конечной концентрации ДНК в элюате, однако влечет за собой уменьшение общего выхода ДНК. Следует помнить о том, что объем элюата будет на величину до 5 мкл меньше объема элюирующего раствора, нанесенного на колонку.

17. Закройте крышку и инкубируйте содержимое при комнатной температуре в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.

Инкубирование колонки QIAamp MinElute с буфером АТЕ или водой в течение 5 мин при комнатной температуре перед центрифугированием обычно позволяет увеличить выход ДНК.

# Протокол: Выделение общей ДНК из сигаретных окурков

Данный протокол предусмотрен для выделения общей (геномной и митохондриальной) ДНК из сигаретных окурков.

## Важные замечания перед началом работы

- Выполняйте все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15–25°C).
- Проверьте, требуется ли РНК-носитель (см. стр. 10 и 12).

## Необходимые действия перед началом процедуры

- Доведите буфер АТЕ или дистиллированную воду для элюирования до комнатной температуры (15–25°C).
- Задайте на термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом температуру 56°C для использования на этапе 3 и (дополнительном) этапе 16, а еще на одном термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом — температуру 70°C для использования на этапе 6. При отсутствии термомиксеров или орбитальных инкубаторов с подогревом можно использовать термостаты или водяные бани.
- Если буфер AL или буфер ATL содержит осадок, растворите осадок нагреванием до 70°C при осторожном помешивании.
- Убедитесь, что буферы AW1 и AW2 приготовлены в соответствии с инструкциями на стр.11.

## Порядок работы

1. Срежьте 1 см<sup>2</sup> наружного слоя бумаги с концевой части сигареты или сигаретного фильтра. Разрежьте этот кусок на 6 частей. Поместите их в микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки).
2. Добавьте 300 мкл буфера ATL и 20 мкл протеиназы К, закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.
3. Поместите пробирку в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 56°C при встряхивании (900 об/мин) не менее 1 ч.  
Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 10 мин для улучшения лизиса.
4. Кратковременно центрифугируйте пробирку для удаления капель с внутренней стороны крышки.

5. **Добавьте 300 мкл буфера AL, закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.**

Для обеспечения эффективного лизиса необходимо тщательно перемешать образец с буфером AL, получив однородный раствор.

При добавлении буфера AL в буфер ATL возможно образование белого осадка. Этот осадок не мешает выполнению процедуры QIAamp и растворяется во время инкубирования на этапе 6.

**Примечание.** Если требуется РНК-носитель (см. стр. 10), добавьте 1 мкг растворенной РНК-носителя в 300 мкл буфера AL. Следует учитывать, что РНК-носитель не растворяется в буфере AL. Ее необходимо сначала растворять в буфере ATE, а затем вносить в буфер AL.

6. **Поместите пробирку в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 70°C при встряхивании (900 об/мин) в течение 10 мин.**

Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 3 мин для улучшения лизиса.

7. **Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**

Если по-прежнему видны твердые частицы, центрифугируйте пробирку при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин и осторожно перенесите надосадочную жидкость в новую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки).

8. **Добавьте 150 мкл этилового спирта (96–100 %), закройте крышку и тщательно перемешивайте содержимое пульсационным способом в течение 15 с.**

Для обеспечения эффективного связывания на этапе 10 необходимо тщательно перемешать образец с этиловым спиртом, получив однородный раствор.

9. **Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**

10. **Осторожно перенесите надосадочную жидкость, полученную на этапе 9, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края.**

11. **Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**

Если лизат не полностью прошел через мембрану при центрифугировании, выполните центрифугирование повторно с более высокой скоростью, пока колонка QIAamp MinElute не опустошится.

12. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 500 мкл буфера AW1, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**

13. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл буфера AW2, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.

Не следует допускать соприкосновения колонки QIAamp MinElute с фильтратом. Некоторые центрифужные роторы могут вибрировать при снижении скорости, в результате чего фильтрат, содержащий этиловый спирт, соприкасается с колонкой QIAamp MinElute. При извлечении колонки QIAamp MinElute и пробирки для сбора образцов из ротора соблюдайте осторожность во избежание соприкосновения фильтрата с колонкой QIAamp MinElute.

14. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл этилового спирта (96–100 %), не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.
15. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 3 мин для полного высушивания мембраны.

Этот этап необходим, поскольку перенос этилового спирта в элюат может помешать на некоторых последующих этапах работы.

16. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки) и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр. Осторожно откройте крышку колонки QIAamp MinElute и инкубируйте колонку при комнатной температуре (15–25°C) в течение 10 мин или при 56°C в течение 3 мин.
17. Нанесите 20–50 мкл буфера ATE или дистиллированной воды по центру мембраны.

**Важно!** Убедитесь, что буфер ATE или дистиллированная вода доведены до комнатной температуры. Нанесите буфер ATE или дистиллированную воду по центру мембраны, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК.

Колонки QIAamp MinElute обеспечивают гибкость в выборе элюирующего объема. Подберите объем в соответствии с нуждами последующих этапов работы. Элюирование небольшими объемами ведет к значительному увеличению конечной концентрации ДНК в элюате, однако влечет за собой уменьшение общего выхода ДНК. Следует помнить о том, что объем элюата будет на величину до 5 мкл меньше объема элюирующего раствора, нанесенного на колонку.

18. Закройте крышку и инкубируйте содержимое при комнатной температуре в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.

Инкубирование колонки QIAamp MinElute с буфером ATE или водой в течение 5 мин при комнатной температуре перед центрифугированием обычно позволяет увеличить выход ДНК.

# Протокол: Выделение общей ДНК из обрезков ногтей и волос

Данный протокол предусмотрен для выделения общей (геномной и митохондриальной) ДНК из обрезков ногтей, а также корней и стержней волос.

## Важные замечания перед началом работы

- Выполняйте все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15–25°C).
- Проверьте, требуется ли РНК-носитель (см. стр. 10 и 12).

## Необходимые действия перед началом процедуры

- Доведите буфер АТЕ или дистиллированную воду для элюирования до комнатной температуры (15–25°C).
- Задайте на термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом температуру 56°C для использования на этапе 2 и (дополнительном) этапе 15, а еще на одном термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом — температуру 70°C для использования на этапе 5. При отсутствии термомиксеров или орбитальных инкубаторов с подогревом можно использовать термостаты или водяные бани.
- Если буфер AL или буфер ATL содержит осадок, растворите осадок нагреванием до 70°C при осторожном помешивании.
- Приготовьте исходный 1 М водный раствор ДТТ (дитиотреитола). Храните аликвоты этого раствора при температуре –20°C, размораживая непосредственно перед использованием.
- Убедитесь, что буферы AW1 и AW2 приготовлены в соответствии с инструкциями на стр.11.

## Порядок работы

1. Лизируйте образцы согласно инструкциям этапа 1a для обрезков ногтей, этапа 1b для корней волос или этапа 1c для стержней волос (без корней).
  - 1a. Перенесите обрезки ногтей в микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки). Добавьте 300 мкл буфера ATL, 20 мкл протеиназы К и 20 мкл 1 М раствора ДТТ. Закройте крышку и перемешивайте содержимое пульсационным способом в течение 10 с. Продолжите процедуру с этапа 2.
  - 1b. Внесите 300 мкл буфера ATL, 20 мкл протеиназы К и 20 мкл 1 М раствора ДТТ в микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки). Отрежьте 0,5–1 см волоса начиная с волосяной луковицы и перенесите в микроцентрифужную пробирку 1,5 мл. Закройте крышку и перемешивайте содержимое пульсационным способом в течение 10 с. Продолжите процедуру с этапа 2.
  - 1c. Внесите 300 мкл буфера ATL, 20 мкл протеиназы К и 20 мкл 1 М раствора ДТТ в микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки). Разрежьте волос на куски длиной 0,5–1 см и поместите их в микроцентрифужную пробирку 1,5 мл. Закройте крышку и перемешивайте содержимое пульсационным способом в течение 10 с. Продолжите процедуру с этапа 2.

2. Поместите пробирку в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 56°C при встряхивании (900 об/мин) не менее 1 ч.

Обычно для лизиса волос требуется 1 ч. При необходимости увеличьте время инкубации для обеспечения полного лизиса.

Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 10 мин для улучшения лизиса.

При работе с более крупными образцами обрезков ногтей рекомендуется инкубировать образцы в течение ночи при температуре 56°C. Весь материал, не лизированный на этом этапе инкубации или при инкубации на этапе 5, будет осажден центрифугированием на этапе 6.

3. Кратковременно центрифугируйте пробирку для удаления капель с внутренней стороны крышки.
4. Добавьте 300 мкл буфера AL, закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.

Для обеспечения эффективного лизиса необходимо тщательно перемешать образец с буфером AL, получив однородный раствор.

При добавлении буфера AL в буфер ATL возможно образование белого осадка. Этот осадок не мешает выполнению процедуры QIAamp и растворяется во время инкубирования на этапе 5.

**Примечание.** Если требуется РНК-носитель (см. стр. 10), добавьте 1 мкг растворенной РНК-носителя в 300 мкл буфера AL. Следует учитывать, что РНК-носитель не растворяется в буфере AL. Ее необходимо сначала растворять в буфере ATE, а затем вносить в буфер AL.

5. Поместите пробирку в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 70°C при встряхивании (900 об/мин) в течение 10 мин.

Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 3 мин для улучшения лизиса.

6. Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.

7. Добавьте 150 мкл этилового спирта (96–100 %), закройте крышку и тщательно перемешивайте содержимое пульсационным способом в течение 15 с.

Для обеспечения эффективного связывания на этапе 9 необходимо тщательно перемешать образец с этиловым спиртом, получив однородный раствор.

8. Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.

9. Осторожно перенесите надосадочную жидкость, полученную на этапе 8, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края.

10. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.

Если лизат не полностью прошел через мембрану при центрифугировании, выполните центрифугирование повторно с более высокой скоростью, пока колонка QIAamp MinElute не опустошится.

11. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 500 мкл буфера AW1, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.
12. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл буфера AW2, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.

Не следует допускать соприкосновения колонки QIAamp MinElute с фильтратом. Некоторые центрифужные роторы могут вибрировать при снижении скорости, в результате чего фильтр, содержащий этиловый спирт, соприкасается с колонкой QIAamp MinElute. При извлечении колонки QIAamp MinElute и пробирки для сбора образцов из ротора соблюдайте осторожность во избежание соприкосновения фильтра с колонкой QIAamp MinElute.

13. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл этилового спирта (96–100 %), не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.
14. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 3 мин для полного высушивания мембраны.

Этот этап необходим, поскольку перенос этилового спирта в элюат может помешать на некоторых последующих этапах работы.

15. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки) и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр. Осторожно откройте крышку колонки QIAamp MinElute и инкубируйте колонку при комнатной температуре (15–25°C) в течение 10 мин или при 56°C в течение 3 мин.
16. Нанесите 20–50 мкл буфера АТЕ или дистиллированной воды по центру мембраны.

**Важно!** Убедитесь, что буфер АТЕ или дистиллированная вода доведены до комнатной температуры. Наносите буфер АТЕ или дистиллированную воду по центру мембраны, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК.

Колонки QIAamp MinElute обеспечивают гибкость в выборе элюирующего объема. Подберите объем в соответствии с нуждами последующих этапов работы. Элюирование небольшими объемами ведет к значительному увеличению конечной концентрации ДНК в элюате, однако влечет за собой уменьшение общего выхода ДНК. Следует помнить о том, что объем элюата будет на величину до 5 мкл меньше объема элюирующего раствора, нанесенного на колонку.

17. Закройте крышку и инкубируйте содержимое при комнатной температуре в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.

Инкубирование колонки QIAamp MinElute с буфером АТЕ или водой в течение 5 мин при комнатной температуре перед центрифугированием обычно позволяет увеличить выход ДНК.

# Протокол: Выделение общей ДНК из бумаги и аналогичных материалов

Данный протокол предусмотрен для выделения общей (геномной и митохондриальной) ДНК из служащих уликами образцов на бумаге, например из слюны на клапанах конвертов или отпечатков пальцев на документах.

## Важные замечания перед началом работы

- Выполняйте все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15–25°C).
- Проверьте, требуется ли РНК-носитель (см. стр. 10 и 12).

## Необходимые действия перед началом процедуры

- Доведите буфер АТЕ или дистиллированную воду для элюирования до комнатной температуры (15–25°C).
- Задайте на термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом температуру 56°C для использования на этапе 3 и (дополнительном) этапе 16, а еще на одном термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом — температуру 70°C для использования на этапе 6. При отсутствии термомиксеров или орбитальных инкубаторов с подогревом можно использовать термостаты или водяные бани.
- Если буфер AL или буфер ATL содержит осадок, растворите осадок нагреванием до 70°C при осторожном помешивании.
- Убедитесь, что буферы AW1 и AW2 приготовлены в соответствии с инструкциями на стр.11.

## Порядок работы

1. Вырежьте из бумаги или аналогичного материала образец площадью 0,5–2,5 см<sup>2</sup> и разрежьте его на более мелкие куски. Поместите эти куски в микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки).

**Примечание.** перед разрезанием образца можно уменьшить его поверхностное загрязнение, протерев его тампоном, смоченным дистиллированной водой.

2. Добавьте 300 мкл буфера ATL и 20 мкл протеиназы К, закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.
3. Поместите пробирку в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 56°C при встряхивании (900 об/мин) не менее 1 ч.

Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 10 мин для улучшения лизиса.

4. Кратковременно центрифугируйте пробирку для удаления капель с внутренней стороны крышки.



5. **Добавьте 300 мкл буфера AL, закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.**

Для обеспечения эффективного лизиса необходимо тщательно перемешать образец с буфером AL, получив однородный раствор.

При добавлении буфера AL в буфер ATL возможно образование белого осадка. Этот осадок не мешает выполнению процедуры QIAamp и растворяется во время инкубирования на этапе 6.

**Примечание.** Если требуется РНК-носитель (см. стр. 10), добавьте 1 мкг растворенной РНК-носителя в 300 мкл буфера AL. Следует учитывать, что РНК-носитель не растворяется в буфере AL. Ее необходимо сначала растворять в буфере ATE, а затем вносить в буфер AL.

6. **Поместите пробирку в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 70°C при встряхивании (900 об/мин) в течение 10 мин.**

Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 3 мин для улучшения лизиса.

7. **Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**

Если по-прежнему видны твердые частицы, центрифугируйте пробирку при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин и осторожно перенесите надосадочную жидкость в новую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки).

8. **Добавьте 150 мкл этилового спирта (96–100 %), закройте крышку и тщательно перемешивайте содержимое пульсационным способом в течение 15 с.**

Для обеспечения эффективного связывания на этапе 10 необходимо тщательно перемешать образец с этиловым спиртом, получив однородный раствор.

9. **Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**

10. **Осторожно перенесите надосадочную жидкость, полученную на этапе 9, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края.**

11. **Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**

Если лизат не полностью прошел через мембрану при центрифугировании, выполните центрифугирование повторно с более высокой скоростью, пока колонка QIAamp MinElute не опустошится.

12. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 500 мкл буфера AW1, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**

13. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл буфера AW2, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.

Не следует допускать соприкосновения колонки QIAamp MinElute с фильтратом. Некоторые центрифужные роторы могут вибрировать при снижении скорости, в результате чего фильтрат, содержащий этиловый спирт, соприкасается с колонкой QIAamp MinElute. При извлечении колонки QIAamp MinElute и пробирки для сбора образцов из ротора соблюдайте осторожность во избежание соприкосновения фильтрата с колонкой QIAamp MinElute.

14. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл этилового спирта (96–100 %), не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.
15. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 3 мин для полного высушивания мембраны.

Этот этап необходим, поскольку перенос этилового спирта в элюат может помешать на некоторых последующих этапах работы.

16. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки) и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр. Осторожно откройте крышку колонки QIAamp MinElute и инкубируйте колонку при комнатной температуре (15–25°C) в течение 10 мин или при 56°C в течение 3 мин.
17. Нанесите 20–50 мкл буфера ATE или дистиллированной воды по центру мембраны.

**Важно!** Убедитесь, что буфер ATE или дистиллированная вода доведены до комнатной температуры. Нанесите буфер ATE или дистиллированную воду по центру мембраны, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК.

Колонки QIAamp MinElute обеспечивают гибкость в выборе элюирующего объема. Подберите объем в соответствии с нуждами последующих этапов работы. Элюирование небольшими объемами ведет к значительному увеличению конечной концентрации ДНК в элюате, однако влечет за собой уменьшение общего выхода ДНК. Следует помнить о том, что объем элюата будет на величину до 5 мкл меньше объема элюирующего раствора, нанесенного на колонку.

18. Закройте крышку и инкубируйте содержимое при комнатной температуре в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.

Инкубирование колонки QIAamp MinElute с буфером ATE или водой в течение 5 мин при комнатной температуре перед центрифугированием обычно позволяет увеличить выход ДНК.

# Протокол: Выделение общей ДНК из небольших количеств крови или слюны

Данный протокол предусмотрен для выделения общей (геномной и митохондриальной) ДНК из 1–100 мкл цельной крови с антикоагулянтом ЭДТА, цитратом или гепариновыми антикоагулянтами либо из 1–100 мкл слюны.

## Важное замечание перед началом работы

- Выполняйте все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15–25°C).

## Необходимые действия перед началом процедуры

- Доведите образцы до комнатной температуры (15–25°C).
- Доведите буфер АТЕ или дистиллированную воду для элюирования до комнатной температуры.
- Задайте на термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом температуру 56°C для использования на этапе 5 и (дополнительном) этапе 14.
- Убедитесь, что буферы AW1 и AW2 приготовлены в соответствии с инструкциями на стр. 11.
- Если буфер AL или буфер ATL содержит осадок, растворите осадок нагреванием до 70°C при осторожном помешивании.
- Дополнительно: при обработке образцов малого объема (<10 мкл) добавляйте в буфер AL РНК-носитель, растворенную в буфере АТЕ, согласно инструкциям на стр. 12.

## Порядок работы

1. С помощью пипетки перенесите 1–100 мкл крови или слюны в микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки).
2. Добавьте буфер ATL, доведя объем смеси до конечного значения 100 мкл.
3. Добавьте 10 мкл протеиназы К.
4. Добавьте 100 мкл буфера AL, закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 15 с.

Для обеспечения эффективного лизиса необходимо тщательно перемешать образец с буфером ATL, протеиназой К и буфером AL, получив однородный раствор.

**Примечание.** если объем образца крови меньше 10 мкл, рекомендуется добавить в буфер AL РНК-носитель (см. стр. 10). Следует учитывать, что РНК-носитель не растворяется в буфере AL. Ее необходимо сначала растворять в буфере АТЕ, а затем вносить в буфер AL.

При добавлении буфера AL в буфер ATL возможно образование белого осадка. Этот осадок не мешает выполнению процедуры QIAamp и растворяется во время инкубирования с подогревом на этапе 5.

5. **Выдержите смесь при температуре 56°C в течение 10 мин.**  
Примечание. выход ДНК можно увеличить путем встряхивания образцов.
6. **Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**
7. **Добавьте 50 мкл этилового спирта (96–100 %), закройте крышку и тщательно перемешивайте содержимое пульсационным способом в течение 15 с, а затем инкубируйте в течение 3 мин при комнатной температуре (15–25°C).**  
Примечание. если температура в помещении превышает 25°C, охладите этиловый спирт на льду перед внесением в пробирку.
8. **Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**
9. **Осторожно перенесите весь лизат, полученный на этапе 8, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края, и, закрыв крышку, центрифугируйте при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов с фильтратом.**  
Если лизат не полностью прошел через мембрану при центрифугировании, выполните центрифугирование повторно с более высокой скоростью, пока колонка QIAamp MinElute не опустошится.
10. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 500 мкл буфера AW1, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**
11. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл буфера AW2, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**  
Не следует допускать соприкосновения колонки QIAamp MinElute с фильтратом. Некоторые центрифужные роторы могут вибрировать при снижении скорости, в результате чего фильтрат, содержащий этиловый спирт, соприкасается с колонкой QIAamp MinElute. При извлечении колонки QIAamp MinElute и пробирки для сбора образцов из ротора соблюдайте осторожность во избежание соприкосновения фильтрата с колонкой QIAamp MinElute.
12. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл этилового спирта (96–100 %), не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**
13. **Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 3 мин для полного высушивания мембраны.**  
Этот этап необходим, поскольку перенос этилового спирта в элюат может помешать на некоторых последующих этапах работы.

14. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки) и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат. Осторожно откройте крышку колонки QIAamp MinElute и инкубируйте колонку при комнатной температуре в течение 10 мин или при 56°C в течение 3 мин.

15. Нанесите 20–100 мкл буфера АТЕ или дистиллированной воды по центру мембраны.

**Важно!** Убедитесь, что буфер АТЕ или дистиллированная вода доведены до комнатной температуры. При использовании малых элюирующих объемов (<50 мкл) наносите буфер АТЕ или дистиллированную воду по центру мембраны, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК.

Колонки QIAamp MinElute обеспечивают гибкость в выборе элюирующего объема. Подберите объем в соответствии с нуждами последующих этапов работы. Элюирование небольшими объемами ведет к значительному увеличению конечной концентрации ДНК в элюате, однако влечет за собой уменьшение общего выхода ДНК. Следует помнить о том, что объем элюата будет на величину до 5 мкл меньше объема элюирующего раствора, нанесенного на колонку.

16. Закройте крышку и инкубируйте содержимое при комнатной температуре в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.

Инкубирование колонки QIAamp MinElute с буфером АТЕ или водой в течение 5 мин при комнатной температуре перед центрифугированием обычно позволяет увеличить выход ДНК.

# Протокол: Выделение общей ДНК из тканей

Данный протокол предусмотрен для выделения общей (геномной и митохондриальной) ДНК из образцов тканей массой менее 10 мг.

## Важные замечания перед началом работы

- Выполняйте все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15–25°C).
- При выделении ДНК из очень небольших количеств ткани необходимо использовать РНК-носитель (см. стр. 10 и 12).
- Приготовьте образцы ткани на холодной поверхности (напр., на стеклянной, стальной или алюминиевой пластине, помещенной на кусок сухого льда).
- При использовании замороженной ткани убедитесь, что образец не оттаял, прежде чем добавлять буфер ATL на этапе 2.

## Необходимые действия перед началом процедуры

- Доведите буфер АТЕ или дистиллированную воду для элюирования до комнатной температуры (15–25°C).
- Задайте на термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом температуру 56°C для использования на этапе 4 и (дополнительном) этапе 13. При отсутствии термомиксера или орбитального инкубатора с подогревом можно использовать термостат или водяную баню.
- Если буфер AL или буфер ATL содержит осадок, растворите осадок нагреванием до 70°C при осторожном помешивании.
- Убедитесь, что буферы AW1 и AW2 приготовлены в соответствии с инструкциями на стр. 11.

## Порядок работы

1. **Перенесите образец ткани массой менее 10 мг в микроцентрифужную пробирку 1,5 мл.**
2. **Сразу добавьте 180 мкл буфера ATL и доведите смесь до комнатной температуры (15–25°C).**
3. **Добавьте 20 мкл протеиназы K и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 15 с.**
4. **Поместите пробирку 1,5 мл в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 56°C в течение ночи или до полного лизиса образца.**

Для лизирования небольших количеств ткани требуется 4–6 ч, но наилучшие результаты достигаются при лизировании в течение ночи.

5. **Добавьте 200 мкл буфера AL, закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 15 с.**

Для обеспечения эффективного лизиса необходимо тщательно перемешать образец с буфером AL, получив однородный раствор.

**Примечание.** Если требуется РНК-носитель (см. стр. 10), добавьте 1 мкг растворенной РНК-носителя в 200 мкл буфера AL. Следует учитывать, что РНК-носитель не растворяется в буфере AL. Ее необходимо сначала растворять в буфере АТЕ, а затем вносить в буфер AL.

6. **Добавьте 200 мкл этилового спирта (96–100 %), закройте крышку и тщательно перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 15 с. Инкубируйте в течение 5 мин при комнатной температуре.**

**Примечание.** если температура в помещении превышает 25°C, охладите этиловый спирт на льду перед внесением в пробирку.

7. **Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**

8. **Осторожно перенесите весь лизат, полученный на этапе 7, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края, и, закрыв крышку, центрифугируйте при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов с фильтратом.**

Если лизат не полностью прошел через мембрану при центрифугировании, выполните центрифугирование повторно с более высокой скоростью, пока колонка QIAamp MinElute не опустошится.

9. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 500 мкл буфера AW1, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**

10. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл буфера AW2, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**

Не следует допускать соприкосновения колонки QIAamp MinElute с фильтратом. Некоторые центрифужные роторы могут вибрировать при снижении скорости, в результате чего фильтрат, содержащий этиловый спирт, соприкасается с колонкой QIAamp MinElute. При извлечении колонки QIAamp MinElute и пробирки для сбора образцов из ротора соблюдайте осторожность во избежание соприкосновения фильтрата с колонкой QIAamp MinElute.

11. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл этилового спирта (96–100 %), не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**

12. **Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 3 мин для полного высушивания мембраны.**

Этот этап необходим, поскольку перенос этилового спирта в элюат может помешать на некоторых последующих этапах работы.

13. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки) и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат. Осторожно откройте крышку колонки QIAamp MinElute и инкубируйте колонку при комнатной температуре в течение 10 мин или при 56°C в течение 3 мин.
14. Нанесите 20–100 мкл буфера АТЕ или дистиллированной воды по центру мембраны.

**Важно!** Убедитесь, что буфер АТЕ или дистиллированная вода доведены до комнатной температуры. При использовании малых элюирующих объемов (<50 мкл) наносите буфер АТЕ или дистиллированную воду по центру мембраны, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК.

Колонки QIAamp MinElute обеспечивают гибкость в выборе элюирующего объема. Подберите объем в соответствии с нуждами последующих этапов работы. Элюирование небольшими объемами ведет к значительному увеличению конечной концентрации ДНК в элюате, однако влечет за собой уменьшение общего выхода ДНК. Следует помнить о том, что объем элюата будет на величину до 5 мкл меньше объема элюирующего раствора, нанесенного на колонку.

15. Закройте крышку и инкубируйте содержимое при комнатной температуре в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.

Инкубирование колонки QIAamp MinElute с буфером АТЕ или водой в течение 5 мин при комнатной температуре перед центрифугированием обычно позволяет увеличить выход ДНК.



# Протокол: Выделение общей ДНК из проб, полученных методом лазерной микродиссекции

Данный протокол предусмотрен для выделения общей (геномной и митохондриальной) ДНК из проб тканей, полученных методом лазерной микродиссекции. Пробы ткани, полученные методом лазерной микродиссекции, представляют особую сложность для молекулярного анализа, поскольку нуклеиновые кислоты необходимо выделять из очень небольших количеств исходного материала. Кроме того, фиксация и окрашивания могут приводить к нарушению целостности ДНК, и может возникать необходимость либо в изменении протоколов фиксации, либо в использовании криосрезов мгновенно замороженных образцов для сведения этой проблемы к минимуму.

Широкий ассортимент оборудования и расходных материалов для приготовления срезов, окрашивания и микродиссекции образцов предлагается компанией Leica ([www.leica-microsystems.com](http://www.leica-microsystems.com)).

## Важные замечания перед началом работы

- Выполняйте все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15–25°C).
- При выделении ДНК из очень небольших количеств клеток необходимо использовать РНК-носитель (см. стр. 10 и 12).

## Необходимые действия перед началом процедуры

- Доведите образцы до комнатной температуры (15–25°C).
- Доведите буфер ATE или дистиллированную воду для элюирования до комнатной температуры.
- Задайте на термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом температуру 56°C для использования на этапе 3 и (дополнительном) этапе 13. При отсутствии термомиксера или орбитального инкубатора с подогревом можно использовать термостат или водяную баню.
- Если буфер AL или буфер ATL содержит осадок, растворите осадок нагреванием до 70°C при осторожном помешивании.
- Убедитесь, что буферы AW1 и AW2 приготовлены в соответствии с инструкциями на стр.11.

## Порядок работы

1. **Добавьте 15 мкл буфера ATL к полученной методом лазерной микродиссекции пробе, помещенной в микроцентрифужную пробирку 0,2 мл (не входит в комплект поставки).**
2. **Добавьте 10 мкл протеиназы K и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 15 с.**
3. **Поместите пробирку 0,2 мл в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 56°C в течение 3 ч (16 ч — для тканей, фиксированных в формалине) при периодическом встряхивании.**  
Время инкубации может быть разным в зависимости от собранного количества ткани.
4. **Добавьте 25 мкл буфера ATL.**

5. **Добавьте 50 мкл буфера AL, закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 15 с.**

Для обеспечения эффективного лизиса необходимо тщательно перемешать образец с буфером AL, получив однородный раствор.

**Примечание.** Если требуется РНК-носитель (см. стр. 10), добавьте 1 мкг растворенной РНК-носителя в 50 мкл буфера AL. Следует учитывать, что РНК-носитель не растворяется в буфере AL. Ее необходимо сначала растворять в буфере АТЕ, а затем вносить в буфер AL.

6. **Добавьте 50 мкл этилового спирта (96–100 %), закройте крышку и тщательно перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 15 с, а затем инкубируйте в течение 5 мин при комнатной температуре (15–25°C).**

**Примечание.** если температура в помещении превышает 25°C, охладите этиловый спирт на льду перед внесением в пробирку.

7. **Кратковременно центрифугируйте пробирку 0,2 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**

8. **Осторожно перенесите весь лизат, полученный на этапе 7, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края, и, закрыв крышку, центрифугируйте при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов с фильтратом.**

Если лизат не полностью прошел через мембрану при центрифугировании, выполните центрифугирование повторно с более высокой скоростью, пока колонка QIAamp MinElute не опустошится.

9. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 500 мкл буфера AW1, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**

10. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл буфера AW2, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**

Не следует допускать соприкосновения колонки QIAamp MinElute с фильтратом. Некоторые центрифужные роторы могут вибрировать при снижении скорости, в результате чего фильтрат, содержащий этиловый спирт, соприкасается с колонкой QIAamp MinElute. При извлечении колонки QIAamp MinElute и пробирки для сбора образцов из ротора соблюдайте осторожность во избежание соприкосновения фильтрата с колонкой QIAamp MinElute.

11. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл этилового спирта (96–100 %), не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.**

12. **Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 3 мин для полного высушивания мембраны.**

Этот этап необходим, поскольку перенос этилового спирта в элюат может помешать на некоторых последующих этапах работы.

13. **Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки) и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат. Осторожно откройте крышку колонки QIAamp MinElute и инкубируйте колонку при комнатной температуре в течение 10 мин или при 56°C в течение 3 мин.**

14. **Нанесите 20–30 мкл буфера АТЕ или дистиллированной воды по центру мембраны.**

**Важно!** Убедитесь, что буфер АТЕ или дистиллированная вода доведены до комнатной температуры. Наносите буфер АТЕ или дистиллированную воду по центру мембраны, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК.

Колонки QIAamp MinElute обеспечивают гибкость в выборе элюирующего объема. Подберите объем в соответствии с нуждами последующих этапов работы. Элюирование небольшими объемами ведет к значительному увеличению конечной концентрации ДНК в элюате, однако влечет за собой уменьшение общего выхода ДНК. Следует помнить о том, что объем элюата будет на величину до 5 мкл меньше объема элюирующего раствора, нанесенного на колонку.

15. **Закройте крышку и инкубируйте содержимое при комнатной температуре в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.**

Инкубирование колонки QIAamp MinElute с буфером АТЕ или водой в течение 5 мин при комнатной температуре перед центрифугированием обычно позволяет увеличить выход ДНК.

# Протокол: Выделение общей ДНК из костей и зубов

Данный протокол предусмотрен для выделения общей (геномной и митохондриальной) ДНК из фрагментов костей и зубов.

## Важные замечания перед началом работы

- Время лизирования варьируется в зависимости от размера фрагментов и плотности исходного материала. Указанные здесь условия лизирования приводятся в справочных целях.
- Выполняйте все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15–25°C).

## Необходимые действия перед началом процедуры

- Доведите буфер АТЕ или дистиллированную воду для элюирования до комнатной температуры (15–25°C).
- Задайте на термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом температуру 56°C для использования на этапе 2 и (дополнительном) этапе 15, а еще на одном термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом — температуру 70°C для использования на этапе 5. При отсутствии термомиксеров или орбитальных инкубаторов с подогревом можно использовать термостаты или водяные бани.
- Если буфер AL или буфер ATL содержит осадок, растворите осадок нагреванием до 70°C при осторожном помешивании.
- Убедитесь, что буферы AW1 и AW2 приготовлены в соответствии с инструкциями на стр.11.
- Дополнительно: при обработке очень небольших количеств исходного материала добавляйте в буфер AL РНК-носитель, растворенную в буфере АТЕ, согласно инструкциям на стр. 12.

## Порядок работы

1. **Разбейте кость на небольшие фрагменты. Смелите эти фрагменты в тонкий порошок с помощью металлического блендера, наполовину заполненного жидким азотом. Для размола кости в тонкий порошок можно использовать также гомогенизатор TissueLyser II с набором сосудов для размола из нержавеющей стали.**

При использовании гомогенизатора TissueLyser II перенесите образец кости и шарик в сосуд для размола. Вылейте в сосуд для размола на шарик и фрагменты кости жидкий азот. Дождитесь установления теплового равновесия (т. е. прекращения кипения жидкого азота). Декантируйте избыток жидкого азота, закройте сосуд для размола крышкой и перенесите его в гомогенизатор TissueLyser II. Размалывайте кость при частоте 30 Гц в течение 1 мин или до превращения кости в порошок (время размалывания зависит от типа, состояния и размера костных фрагментов).

2. **Поместите  $\leq 100$  мг костного порошка в микроцентрифужную пробирку 1,5 мл. Добавьте 360 мкл буфера ATL и 20 мкл протеиназы К. Инкубируйте смесь в течение ночи при температуре 56°C.**

После инкубации установите температуру 70°C для инкубации на этапе 5.

3. **Кратковременно центрифугируйте пробирку для удаления капель с внутренней стороны крышки.**

4. **Добавьте 300 мкл буфера AL, закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.**

Для обеспечения эффективного лизиса необходимо тщательно перемешать образец с буфером AL, получив однородный раствор.

При добавлении буфера AL в буфер ATL возможно образование белого осадка. Этот осадок не мешает выполнению процедуры QIAamp и растворяется во время инкубирования на этапе 5.

**Примечание.** Если требуется РНК-носитель (см. стр. 10), добавьте 1 мкг растворенной РНК-носителя в 300 мкл буфера AL. Следует учитывать, что РНК-носитель не растворяется в буфере AL. Ее необходимо сначала растворять в буфере ATE, а затем вносить в буфер AL.

5. **Поместите пробирку в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 70°C при встряхивании (900 об/мин) в течение 10 мин.**

Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 3 мин для улучшения лизиса.

6. **Центрифугируйте пробирку при 20000 x g (14000 об/мин) в течение 1 мин и осторожно перенесите надосадочную жидкость в новую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки).**

7. **Добавьте 150 мкл этилового спирта (96–100 %). Закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 15 с.**

Для обеспечения эффективного связывания на этапе 9 необходимо тщательно перемешать образец с этиловым спиртом, получив однородный раствор.

8. **Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**

9. **Осторожно перенесите весь лизат, полученный на этапе 8, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края.**

10. **Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.**

Если лизат не полностью прошел через мембрану при центрифугировании, выполните центрифугирование повторно с более высокой скоростью, пока колонка QIAamp MinElute не опустошится.

11. **Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 600 мкл буфера AW1, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.**

12. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл буфера AW2, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.

Не следует допускать соприкосновения колонки QIAamp MinElute с фильтратом. Некоторые центрифужные роторы могут вибрировать при снижении скорости, в результате чего фильтрат, содержащий этиловый спирт, соприкасается с колонкой QIAamp MinElute. При извлечении колонки QIAamp MinElute и пробирки для сбора образцов из ротора соблюдайте осторожность во избежание соприкосновения фильтрата с колонкой QIAamp MinElute.

13. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл этилового спирта (96–100 %), не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.
14. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 3 мин для полного высушивания мембраны.

Этот этап необходим, поскольку перенос этилового спирта в элюат может помешать на некоторых последующих этапах работы.

15. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки) и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр. Осторожно откройте крышку колонки QIAamp MinElute и инкубируйте колонку при комнатной температуре (15–25°C) в течение 10 мин или при 56°C в течение 3 мин.
16. Нанесите 20–50 мкл буфера ATE или дистиллированной воды по центру мембраны.

**Важно!** Убедитесь, что буфер ATE или дистиллированная вода доведены до комнатной температуры. Нанесите буфер ATE или дистиллированную воду по центру мембраны, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК.

Колонки QIAamp MinElute обеспечивают гибкость в выборе элюирующего объема. Подберите объем в соответствии с нуждами последующих этапов работы. Элюирование небольшими объемами ведет к значительному увеличению конечной концентрации ДНК в элюате, однако влечет за собой уменьшение общего выхода ДНК. Следует помнить о том, что объем элюата будет на величину до 5 мкл меньше объема элюирующего раствора, нанесенного на колонку.

17. Закройте крышку и инкубируйте содержимое при комнатной температуре в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.

Инкубирование колонки QIAamp MinElute с буфером ATE или водой в течение 5 мин при комнатной температуре перед центрифугированием обычно позволяет увеличить выход ДНК.

# Протокол: Выделение общей ДНК из образцов, взятых при расследовании случаев изнасилования

Данный протокол предусмотрен для выделения общей (геномной и митохондриальной) ДНК из текстильных материалов и мазков, содержащих смесь эпителиальных клеток и клеток спермы.

## Важные замечания перед началом работы

- Выполняйте все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15–25°C).
- Требуется дополнительный буфер ATL (см. информацию для заказа на стр. 55).

## Необходимые действия перед началом процедуры

- Доведите буфер ATE или дистиллированную воду для элюирования до комнатной температуры (15–25°C).
- Задайте на термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом температуру 56°C для использования на этапах 3, 10 и (дополнительном) этапе 23, а еще на одном термомиксере или орбитальном инкубаторе с подогревом — температуру 70°C для использования на этапе 13. При отсутствии термомиксеров или орбитальных инкубаторов с подогревом можно использовать термостаты или водяные бани.
- Если буфер AL или буфер ATL содержит осадок, растворите осадок нагреванием до 70°C при осторожном помешивании.
- Убедитесь, что буферы AW1 и AW2 приготовлены в соответствии с инструкциями на стр. 11.
- Приготовьте исходный 1 М водный раствор ДТТ (дитиотреитола). Храните аликвоты этого раствора при температуре –20°C, размораживая непосредственно перед использованием.
- Дополнительно: при обработке очень небольших количеств исходного материала добавляйте в буфер AL РНК-носитель, растворенную в буфере ATE, согласно инструкциям на стр. 12.

## Порядок работы

- 1. Поместите мазок или фрагмент текстильного материала ( $\leq 0,5 \text{ см}^2$ ) в микроцентрифужную пробирку 2 мл (не входит в комплект поставки).**

Отделите мазок на ватном тампоне или мазок DACRON от стержня вручную или с помощью ножниц.
- 2. Добавьте к образцу 20 мкл протеиназы К и 500 мкл буфера ATL. Закройте крышку и перемешивайте содержимое пульсационным способом в течение 10 с.**
- 3. Поместите пробирку 2 мл в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 56°C при встряхивании (900 об/мин) не менее 1 ч.**

Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 10 мин для улучшения лизиса.
- 4. Кратковременно центрифугируйте пробирку 2 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.**

**5. Удалите из пробирки твердый материал.**

**Примечание.** В мазке или на фрагменте текстильного материала остается до 200 мкл лизата. Чтобы собрать этот оставшийся лизат, поместите тампон с мазком или фрагмент текстильного материала в центрифужную колонку QIAshredder (не входит в комплект поставки), поместите центрифужную колонку QIAshredder с твердым материалом в пробирку 2 мл, в которой находится лизат, и центрифугируйте на полной скорости (20000 x g; 14000 об/мин) в течение 2 мин. Удалите и утилизируйте центрифужную колонку QIAshredder с твердым материалом.

**6. Центрифугируйте пробирку в течение 5 мин на полной скорости. Осторожно перенесите всю надосадочную жидкость за исключением 30 мкл в новую пробирку, не потревожив осадок.**

**Примечание.** Для выделения ДНК из эпителиальных клеток перенесите 300 мкл надосадочной жидкости в микроцентрифужную пробирку 2 мл и перейдите к этапу 12.

**7. Ресуспендируйте осадок в 500 мкл буфера ATL. Закройте крышку и перемешивайте содержимое пробирки пульсационным способом в течение 10 с. Центрифугируйте пробирку в течение 5 мин на полной скорости. Осторожно аспирируйте и удалите в отходы всю надосадочную жидкость за исключением 30 мкл, на потревожив осадок.**

**8. Повторите этап 7 не менее трех раз.**

**Примечание.** Количество необходимых повторов процедуры выделения ядер сперматозоидов определяется соотношением количеств эпителиальных клеток и клеток спермы.

**9. Добавьте к осадку 280 мкл буфера ATL, 10 мкл протеиназы К и 10 мкл 1 М раствора ДТТ. Закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.**

**10. Поместите пробирку 2 мл в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 56°C при встряхивании (900 об/мин) не менее 1 часа.**

Если используется термоблок или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 10 мин для улучшения лизиса.

**11. Кратковременно центрифугируйте пробирку для удаления капель с внутренней стороны крышки.**

**12. Добавьте 300 мкл буфера AL, закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.**

Для обеспечения эффективного лизиса необходимо тщательно перемешать образец с буфером AL, получив однородный раствор.

При добавлении буфера AL в буфер ATL возможно образование белого осадка. Этот осадок не мешает выполнению процедуры QIAamp и растворяется во время инкубирования на этапе 13.

**Примечание.** Если требуется РНК-носитель (см. стр. 10), добавьте 1 мкг растворенной РНК-носителя в 300 мкл буфера AL. Следует учитывать, что РНК-носитель не растворяется в буфере AL. Ее необходимо сначала растворять в буфере АТЕ, а затем вносить в буфер AL.

**13. Поместите пробирку в термомиксер или орбитальный инкубатор с подогревом и инкубируйте при 70°C при встряхивании (900 об/мин) в течение 10 мин.**

Если используется термостат или водяная баня, перемешивайте содержимое пробирки вихревым способом в течение 10 с один раз в 3 мин для улучшения лизиса.



14. Центрифугируйте пробирку при 20000 x g (14000 об/мин) в течение 1 мин и осторожно перенесите надсадочную жидкость в новую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки).
15. Добавьте 150 мкл этилового спирта (96–100 %). Закройте крышку и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 15 с.  
Для обеспечения эффективного связывания на этапе 17 необходимо тщательно перемешать образец с этиловым спиртом, получив однородный раствор.
16. Кратковременно центрифугируйте пробирку 1,5 мл для удаления капель с внутренней стороны крышки.
17. Осторожно перенесите весь лизат, полученный на этапе 16, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края.
18. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.  
Если лизат не полностью прошел через мембрану при центрифугировании, выполните центрифугирование повторно с более высокой скоростью, пока колонка QIAamp MinElute не опустошится.
19. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 500 мкл буфера AW1, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.
20. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл буфера AW2, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.  
Не следует допускать соприкосновения колонки QIAamp MinElute с фильтратом. Некоторые центрифужные роторы могут вибрировать при снижении скорости, в результате чего фильтрат, содержащий этиловый спирт, соприкасается с колонкой QIAamp MinElute. При извлечении колонки QIAamp MinElute и пробирки для сбора образцов из ротора соблюдайте осторожность во избежание соприкосновения фильтрата с колонкой QIAamp MinElute.
21. Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 700 мкл этилового спирта (96–100 %), не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат.
22. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 3 мин для полного высушивания мембраны.  
Этот этап необходим, поскольку перенос этилового спирта в элюат может помешать на некоторых последующих этапах работы.
23. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки) и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтрат. Осторожно откройте крышку колонки QIAamp MinElute и инкубируйте колонку при комнатной температуре (15–25°C) в течение 10 мин или при 56°C в течение 3 мин.

- 24. Нанесите 20–50 мкл буфера АТЕ или дистиллированной воды по центру мембраны.**

**Важно!** Убедитесь, что буфер АТЕ или дистиллированная вода доведены до комнатной температуры. Нанесите буфер АТЕ или дистиллированную воду по центру мембраны, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК.

Колонки QIAamp MinElute обеспечивают гибкость в выборе элюирующего объема. Подберите объем в соответствии с нуждами последующих этапов работы. Элюирование небольшими объемами ведет к значительному увеличению конечной концентрации ДНК в элюате, однако влечет за собой уменьшение общего выхода ДНК. Следует помнить о том, что объем элюата будет на величину до 5 мкл меньше объема элюирующего раствора, нанесенного на колонку.

- 25. Закройте крышку и инкубируйте содержимое при комнатной температуре в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.**

Инкубирование колонки QIAamp MinElute с буфером АТЕ или водой в течение 5 мин при комнатной температуре перед центрифугированием обычно позволяет увеличить выход ДНК.

# Руководство по поиску и устранению неполадок

Данное руководство по устранению неполадок может быть полезным в решении любых проблем, которые могут возникнуть. Подробнее см. на странице «Frequently Asked Questions» (Часто задаваемые вопросы) сайта нашего центра технической поддержки: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Научные специалисты технической службы QIAGEN всегда готовы ответить на любые ваши вопросы, касающиеся как информации, содержащейся в настоящем руководстве, в том числе о протоколах, так и методик обработки образцов и проведения анализа (контактную информацию см. на последней странице обложки или на веб-сайте [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Комментарии и рекомендации

---

### ДНК присутствует в элюате в малом количестве либо отсутствует.

- |  |  |
|--|--|
| a) РНК-носитель не была добавлена в буфер AL                         | Растворите РНК-носитель в буфере АТЕ и перемешайте с буфером AL, как описано на стр. 12. Повторите процедуру выделения нуклеиновых кислот по протоколу с новыми образцами.   |
| b) Образцы подвергались заморозке и оттаиванию более одного раза     | Не допускайте повторного замораживания и оттаивания образцов. По возможности всегда используйте свежие образцы или образцы, размороженные только один раз.   |
| c) Образцы слишком долго находились комнатной температуре            | ДНК в образцах может разлагаться в случаях длительного хранения при комнатной температуре (15–25°C). По возможности всегда используйте свежие образцы или храните образцы при температуре 2–8°C (невсыохшая кровь) или –20°C (образцы тканей). Высохшие пятна крови, пятна и мазки можно хранить при комнатной температуре в темноте. Это не ведет к значительному разложению ДНК. |
| d) Недостаточный лизис образцов в буфере AL                          | Протеиназа К хранилась при слишком высоких температурах в течение длительного времени. Повторите процедуру с новыми образцами и свежей протеиназой К.  |
| e) Смесь буфера AL–РНК-носителя плохо перемешана                     | Перемешайте буфер AL с РНК-носителем, осторожно перевернув пробирку не менее 10 раз.   |
| f) Вместо 96–100 % этилового спирта использовался его слабый раствор | Повторите процедуру выделения с новыми образцами и 96–100% этиловым спиртом. Не используйте денатурированный спирт. Он содержит посторонние вещества, такие как метиловый спирт или метилэтилкетон.  |

- g) Буфер AW1 или AW2  
приготовлен неправильно
- Убедитесь, что концентраты буфера AW1 и буфера AW2 разведены надлежащим объемом 96–100 % этилового спирта. Повторите процедуру выделения с новыми образцами (при их наличии).
- h) Уровень pH воды, использованной  
для элюирования, был слишком низким
- ДНК плохо растворяется в кислых растворах. Убедитесь, что уровень pH воды, используемой для элюирования, >7,0.

**ДНК плохо поддается анализу на последующих этапах проведения ферментных реакций.**

- a) ДНК присутствует в элюате в малом  
количестве либо отсутствует
- См. возможные причины в разделе «ДНК присутствует в элюате в малом количестве либо отсутствует» (стр. 51). По возможности увеличьте количество элюата, вводимого в реакционную смесь.
- b) РНК-носитель присутствует в элюате  
в слишком большом или слишком  
малом количестве
- Определите максимальное количество РНК-носителя, подходящее для проводимой реакции амплификации. Скорректируйте концентрацию раствора РНК-носителя, вносимого в буфер AL, соответствующим образом.
- c) Снижение чувствительности
- Определите максимальный объем элюата, подходящий для проводимой реакции амплификации. Уменьшите или увеличьте объем элюата, вносимый в реакционную смесь при амплификации, соответственно. Элюирующий объем можно скорректировать пропорционально.
- d) Поведение выделенной ДНК на отмывочных  
буферах последующих этапах анализа  
меняется разведенных  
времени.отмывочных буферов
- Возможно отделение солевых компонентов и этанола в AW1 и AW2, если буферы по мере старения не использовались в течение длительного времени. Всегда тщательно перемешивайте буферы перед каждой процедурой выделения.

**Общие принципы обращения**

- a) Засорение мембраны  
QIAamp MinElute
- Неполнота лизиса в результате засорения колонки мембраны. Увеличьте время лизирования для обеспечения полного лизиса образца.
- b) Изменение элюирующих объемов
- Произведена обработка образцов разных типов.

# Приложение А: Работа с ДНК

## Общие принципы обращения

При работе с образцами малого размера следует всегда использовать надлежащий микробиологический метод асептики. Через руки и частицы пыли могут переноситься бактерии и плесень, и именно они чаще всего являются источниками загрязнения. При работе с реактивами и образцами всегда надевайте латексные или виниловые перчатки во избежание занесения загрязнений с поверхности кожи или пыльного лабораторного оборудования. Меняйте перчатки с надлежащей частотой и держите пробирки закрытыми.

## Одноразовое оборудование из пластика

На всех этапах процедуры выделения рекомендуется использовать стерильные одноразовые полипропиленовые пробирки. Такие пробирки обычно свободны от ДНКаз.

# Приложение В: Очистка ДНК

Данный протокол предусмотрен для очистки ДНК. Используйте этот протокол для восстановления пригодности ДНК для ПЦР или увеличения концентрации ДНК.

## Важное замечание перед началом работы

- Выполняйте все этапы центрифугирования при комнатной температуре (15–25°C).

## Необходимые действия перед началом процедуры

- Доведите образцы до комнатной температуры (15–25°C).
- Доведите буфер АТЕ или дистиллированную воду для элюирования до комнатной температуры.
- Убедитесь, что буферы AW1 и AW2 приготовлены в соответствии с инструкциями на стр. 11.

## Порядок работы

**В1.** Внесите до 100 мкл раствора ДНК (содержащего до 10 мкг ДНК) в микроцентрифужную пробирку 1,5 мкл (не входит в комплект поставки).

Если объем образца ДНК составляет менее 100 мкл, доведите его до конечного объема 100 мкл путем добавления деионизированной воды.

**В2.** Добавьте 10 мкл буфера AW1.

**В3.** Добавьте 250 мкл буфера AW2 и перемешивайте смесь пульсационным способом в течение 10 с.

- B4.** Перенесите весь образец, полученный на этапе 3, в колонку QIAamp MinElute (в пробирке для сбора образцов 2 мл), не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.
- B5.** Осторожно откройте колонку QIAamp MinElute и внесите в нее 500 мкл буфера AW2, не замочив края. Закройте крышку и центрифугируйте содержимое при 6000 x g (8000 об/мин) в течение 1 мин. Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую пробирку для сбора образцов 2 мл и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр.

Не следует допускать соприкосновения колонки QIAamp MinElute с фильтратом. Некоторые центрифужные роторы могут вибрировать при снижении скорости, в результате чего фильтр, содержащий этиловый спирт, соприкасается с колонкой QIAamp MinElute. При извлечении колонки QIAamp MinElute и пробирки для сбора образцов из ротора соблюдайте осторожность во избежание соприкосновения фильтра с колонкой QIAamp MinElute.

- B6.** Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 3 мин для полного высушивания мембраны.

Этот этап необходим, поскольку перенос этилового спирта в элюат может помешать на некоторых последующих этапах работы.

- B7.** Поместите колонку QIAamp MinElute в чистую микроцентрифужную пробирку 1,5 мл (не входит в комплект поставки) и утилизируйте пробирку для сбора образцов, в которой находится фильтр. Осторожно откройте крышку колонки QIAamp MinElute и нанесите 20–100 мкл буфера АТЕ или дистиллированной воды по центру мембраны.

**Важно!** Убедитесь, что буфер АТЕ или дистиллированная вода доведены до комнатной температуры (15–25°C). При использовании малых элюирующих объемов (<50 мкл) наносите буфер АТЕ или дистиллированную воду по центру мембраны, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК.

Колонки QIAamp MinElute обеспечивают гибкость в выборе элюирующего объема. Подберите объем в соответствии с нуждами последующих этапов работы. Элюирование небольшими объемами ведет к значительному увеличению конечной концентрации ДНК в элюате, однако влечет за собой уменьшение общего выхода ДНК. Следует помнить о том, что объем элюата будет на величину до 5 мкл меньше объема элюирующего раствора, нанесенного на колонку.

- B8.** Закройте крышку и инкубируйте содержимое при комнатной температуре в течение 1 мин. Центрифугируйте на полной скорости (20000 x g, 14000 об/мин) в течение 1 мин.

Инкубирование колонки QIAamp MinElute с буфером АТЕ или водой в течение 5 мин при комнатной температуре перед центрифугированием обычно позволяет увеличить выход ДНК.

# Информация для заказа

Продукция	Комплектация	№ по каталогу
QIAamp DNA Investigator Kit (50)	Для 50 препаратов ДНК: 50 колонок QIAamp MinElute, протеиназа K, РНК-носитель, буферы, пробирки для сбора образцов (2 мл)	56504
<b>Рабочая станция QIAcube — для полностью автоматизированного приготовления образцов с использованием наборов центрифужных колонок QIAGEN</b>		
QIAcube (110 V) <sup>††</sup>	Роботизированная рабочая станция для автоматизированного выделения нуклеиновых кислот или белков с использованием наборов центрифужных колонок QIAGEN, гарантия 1 год на детали и изготовление <sup>§</sup>	9001292*
QIAcube (230 V) <sup>†</sup>		9001293 <sup>†</sup>
<b>Принадлежности</b>		
Buffer ATL (200 ml)	Буфер для лизирования тканей 200 мл	19076
Buffer AL (216 ml)	Буфер для лизирования тканей 216 мл	19075
Buffer AW1 (concentrate, 242 ml)	Концентрат отмывочного буфера 242 мл (1)	19081
Buffer AW2 (concentrate, 324 ml)	Концентрат отмывочного буфера 324 мл (2)	19072
QIAGEN Proteinase K (2 ml) <sup>§</sup>	2 мл (>600 миллиединиц Ансона/мл, раствор)	19131
QIAshredder (50) <sup>†</sup>	50 одноразовых гомогенизаторов для использования при работе с мини-препаратами нуклеиновых кислот, с колпачками	79654
Collection Tubes (2 ml)	1000 пробирок для сбора образцов (2 мл)	19201
TissueLyser II	Шариковый гомогенизатор, 100-120/220-240 В, 50/60 Гц; необходим набор адаптеров TissueLyser 2 x 24 или набор адаптеров TissueLyser 2 x 96 (заказывается отдельно)	85300
Grinding Jar Set, S. Steel (2 x 10 ml)	2 сосуда для размолва (10 мл), 2 размольных шарика из нержавеющей стали (20 мм)	69985

\* США и Канада.

<sup>†</sup> Япония.

<sup>††</sup> Остальные страны

<sup>§</sup> Возможно заключение договоров о комплексном сервисном обслуживании, обращайтесь к представителю компании.

<sup>††</sup> Имеются наборы большего объема, обращайтесь к представителю компании.

# Информация для заказа

Продукция	Комплектация	№ по каталогу
<b>Сопутствующие продукты</b>		
<b>Набор EZ1® DNA Investigator—, обеспечивающий удобство и автоматизацию выделения ДНК из широкого спектра образцов, используемых в судебной медицине, а также для идентификации личности</b>		
EZ1 DNA Investigator Kit (48)	Для 48 препаратов (для рабочих станций EZ1): картриджи с реактивами, одноразовые держатели наконечника, одноразовые наконечники с фильтром, пробирки для сбора образцов, пробирки для элюирования, буферы и реактивы, в комплект входит РНК-носитель.	952034
EZ1 DNA Investigator Card	Запрограммированная карта для протоколов EZ1 DNA Investigator	9016387
<b>Набор MagAttract® DNA Mini M48 — для автоматизированного выделения ДНК из широкого спектра человеческих образцов, используемых в судебной медицине</b>		
MagAttract DNA Mini M48 (192)	Для 192 препаратов ДНК — для рабочей станции BioRobot M48: суспензия B MagAttract, буферы, протеиназа K	953336
App. Package, M48, Forensics	Программный пакет протоколов для судебной медицины, версия 2.1, для рабочей станции BioRobot M48	9016150
<b>Набор QIAamp 96 DNA Swab BioRobot — для автоматизированного высокопроизводительного выделения ДНК из мазков с использованием универсальной системы BioRobot</b>		
QIAamp 96 DNA Swab BioRobot Kit (12)	Для 12 x 96 препаратов ДНК: 12 пластин QIAamp 96, буферы, протеиназа K QIAGEN, листы пленки AirPore, рулон пленки, S-блоки, штативы с микропробирками для сбора образцов (1,2 мл), колпачки	965842
<b>Набор QIAamp DNA Stool Mini — для выделения до 30 мкг геномной, бактериальной, вирусной ДНК и ДНК паразитов из фекалий</b>		
QIAamp DNA Stool Mini Kit (50)*	Для 50 препаратов ДНК: 50 центрифужных колонок QIAamp Mini, протеиназа K QIAGEN, таблетки InhibitEX®, буферы, пробирки для сбора образцов (2 мл)	51504

\* Возможность полной автоматизации с помощью рабочей станции QIAcube. См. протоколы на веб-сайте по адресу: [www.qiagen.com/MyQIAcube](http://www.qiagen.com/MyQIAcube).



# Информация для заказа

Продукция	Комплектация	№ по каталогу
<b>Набор QIAamp DNA Blood Mini — для выделения ДНК из крови и других биологических жидкостей</b>		
QIAamp DNA Blood Mini Kit (50)**	Для 50 мини-препаратов ДНК: 50 центрифужных колонок QIAamp Mini, протеаза QIAGEN, реактивы, буферы, пробирки для сбора образцов (2 мл)	51104
<b>Набор QIAamp DNA Mini — для выделения ДНК</b>		
QIAamp DNA Mini Kit (50)**	Для 50 препаратов ДНК: 50 центрифужных колонок QIAamp Mini, протеиназа K, реактивы, буферы, пробирки для сбора образцов (2 мл)	51304
<b>Набор QIAamp DNA Micro — для выделения геномной и митохондриальной ДНК из образцов малого объема</b>		
QIAamp DNA Micro Kit (50)*	Для 50 препаратов ДНК: 50 колонок QIAamp MinElute, протеиназа K, РНК-носитель, буферы, пробирки для сбора образцов (2 мл)	56304
<b>Набор QIAamp DNA FFPE Tissue — для выделения ДНК из фиксированных в формалине и залитых в парафин образцов тканей</b>		
QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (50)	Для 50 препаратов ДНК: 50 колонок QIAamp MinElute, протеиназа K, буферы, пробирки для сбора образцов (2 мл)	56404

Свежую информацию о лицензиях, а также заявления об отказе об ответственности применительно к конкретным продуктам см. в соответствующем руководстве к набору QIAGEN или руководстве пользователя. С руководствами к наборам QIAGEN и руководствами пользователя можно ознакомиться на веб-сайте по адресу [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Их также можно заказать через техническую службу QIAGEN или регионального дистрибьютора.

\* Возможность полной автоматизации с помощью рабочей станции QIAcube. См. протоколы на веб-сайте по адресу: [www.qiagen.com/MyQIAcube](http://www.qiagen.com/MyQIAcube).

† Имеются наборы большего объема, обращайтесь к представителю компании.

## Примечания

## Товарные знаки:

QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, BioRobot®, EZ1®, InhibitEX®, MagAttract®, MinElute® (группа компаний QIAGEN); DACRON® (корпорация INVISTA North America S.A.R.L.); FTA®, Whatman® (Whatman International Ltd.).

## Ограниченное лицензионное соглашение для набора QIAamp DNA Investigator

Использование настоящего изделия означает согласие покупателя или пользователя изделия со следующими условиями:

1. Изделие можно использовать исключительно в соответствии с протоколами, прилагаемыми к изделию, и настоящим руководством, причем только с компонентами, которые входят в состав набора. Компания QIAGEN не предоставляет лицензии в рамках своей интеллектуальной собственности на использование или объединение компонентов в составе настоящего набора с какими-либо компонентами, не входящими в настоящий набор, за исключением случаев, описанных в протоколах, предоставляемых вместе с продуктом, в настоящем руководстве, а также в дополнительных протоколах, доступных по адресу: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Некоторые из таких дополнительных протоколов предоставлены пользователями продукции компании QIAGEN для пользователей продукции компании QIAGEN. Такие протоколы не были всесторонне проверены или оптимизированы компанией QIAGEN. Компания QIAGEN не гарантирует их правильность, а также не гарантирует того, что они не нарушают прав третьих лиц.
2. Кроме официально заявленных лицензий, компания QIAGEN не предоставляет никаких гарантий того, что данный набор и/или его использование не нарушают прав третьих лиц.
3. Данный набор и его компоненты лицензированы для однократного использования и не подлежат повторному использованию, восстановлению или перепродаже.
4. Компания QIAGEN прямо отказывается от всех прочих лицензий, заявленных или подразумеваемых, кроме тех, о которых заявлено официально.
5. Покупатель и пользователь данного набора соглашаются не совершать и не допускать совершения другими лицами каких-либо действий, которые могут привести к любым действиям, запрещенным выше, или способствовать им. Компания QIAGEN может требовать исполнения запретов, предусмотренных настоящим ограниченным лицензионным соглашением, в судебном порядке в любом суде и получать возмещение всех понесенных ею следственных и судебных издержек, включая стоимость юридических услуг, по любому иску, направленному на исполнение настоящего ограниченного лицензионного соглашения или любого из своих прав на интеллектуальную собственность, связанных с набором и/или его компонентами.

Текущие условия лицензии см. на веб-сайте по адресу: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2007–2012 гг. QIAGEN. Все права защищены.

**www.qiagen.com**

**Australia** = techservice-au@qiagen.com

**Austria** = techservice-at@qiagen.com

**Belgium** = techservice-bnl@qiagen.com

**Brazil** = suportetecnico.brasil@qiagen.com

**Canada** = techservice-ca@qiagen.com

**China** = techservice-cn@qiagen.com

**Denmark** = techservice-nordic@qiagen.com

**Finland** = techservice-nordic@qiagen.com

**France** = techservice-fr@qiagen.com

**Germany** = techservice-de@qiagen.com

**Hong Kong** = techservice-hk@qiagen.com

**India** = techservice-india@qiagen.com

**Ireland** = techservice-uk@qiagen.com

**Italy** = techservice-it@qiagen.com

**Japan** = techservice-jp@qiagen.com

**Korea (South)** = techservice-kr@qiagen.com

**Luxembourg** = techservice-bnl@qiagen.com

**Mexico** = techservice-mx@qiagen.com

**The Netherlands** = techservice-bnl@qiagen.com

**Norway** = techservice-nordic@qiagen.com

**Singapore** = techservice-sg@qiagen.com

**Sweden** = techservice-nordic@qiagen.com

**Switzerland** = techservice-ch@qiagen.com

**UK** = techservice-uk@qiagen.com

**USA** = techservice-us@qiagen.com

