

ДНК-КАРТЫ КАК ПРОСТОЙ И НАДЕЖНЫЙ СПОСОБ СБОРА И ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ ДНК-СОДЕРЖАЩЕГО БИОМАТЕРИАЛА ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

А. В. Перчик, М. Н. Обирин, М. С. Макеева, И. И. Першуткина,
В.Н. Большаков.

Группа Компаний «Алкор Био», Санкт-Петербург, Россия.

Постоянный рост числа молекулярно-генетических исследований в клинической диагностике требует простых, надежных и экономичных способов сбора, транспортировки и длительного хранения биоматериалов с ДНК пациентов. Использование бумажных носителей (ДНК-карт) полностью отвечает данным требованиям, т.к. они не требуют много места и дорогостоящего холодильного оборудования для транспортировки и длительного хранения.

За рубежом ДНК-карты широко используются не только в научно-исследовательской работе, но и для успешного сбора и длительного хранения биоматериала для клинико-диагностических и судебно-медицинских исследований с помощью молекулярно-генетических методов. Например, было показано, что после хранения образцов цельной крови человека на ДНК-карте при комнатной температуре в течении 25 лет возможно выделение достаточного количества качественной ДНК для амплификации и последующего анализа нуклеотидных полиморфизмов (Sjoholm et al., 2017). В других исследованиях было показано, что образцы крови человека на ДНК-карте после 15 лет хранения можно успешно использовать для идентификации личности методом анализа коротких tandemных повторов (Корниенко и др., 2014; Rahikainen et al., 2016). Благодаря таким свойствам, ДНК-карты используются для создания биобанков, например, больных

фенилкетонурией в Швеции (Hannelius et al., 2005) или новорожденных в Дании (Nordfalk, Ekstrom, 2019).

Группой компаний «Алкор Био» разработаны и успешно производятся отечественные продукты «ДНК-карта» и «ДНК-архив». Карты изготовлены из высококачественной фильтровальной бумаги, которая пропитана специально разработанным лизирующим буфером. Данный буфер разрушает клетки, денатурирует белки и защищает высвобожденную ДНК от действия нуклеаз. В процессе нанесения и высушивания образца высвобожденная ДНК закрепляется и стабилизируется на бумаге. Специальные добавки ингибируют рост бактерий и грибов в процессе хранения.

В качестве образцов могут быть использованы любые жидкие или полужидкие биоматериалы, такие как:

- венозная и капиллярная кровь;
- слюна;
- слизистые отделения, собранные зондом-тампоном;
- соскобы клеток, собранные зондом-тампоном или цитощёткой;
- культуры клеток.

Для сбора образца требуется просто нанести биологический материал в специально обозначенную зону «ДНК-карты». После нанесения образец высушивается в течение 1 часа, после чего он готов к использованию или хранению. Образцы могут храниться при комнатной температуре +18...+25°C в защищённом от избыточной влажности и прямых солнечных лучей месте.

«ДНК-карта» имеет поля для нанесения необходимой информации о биоматериале и индивидуальный штрих-код, что облегчает автоматизацию учёта и хранения. Каждая «ДНК-карта» упакована в индивидуальный бумажный конверт и пластиковый пакет. Каждая карта подвергается специальной обработке для удаления чужеродной ДНК, что предотвращает возможную контаминацию нанесенного биоматериала.

ДНК образца, хранящаяся на карте, может быть выделена с помощью различных наборов для выделения ДНК из сухих пятен. Количество выделенной ДНК оптимизируется путём подбора необходимого количества фрагментов карты. Например, при использовании набора для выделения ДНК «Экстра-ДНК-Био» («Компания Алкор Био») из 3-х фрагментов диаметром 1,25 мм пятна крови человека после 4-х лет хранения «ДНК-карты» можно выделить около 15 нг ДНК. Полученная ДНК по своему качеству пригодна для проведения ПЦР в реальном времени с использованием флуоресцентного гидролизного зонда (рис.1).

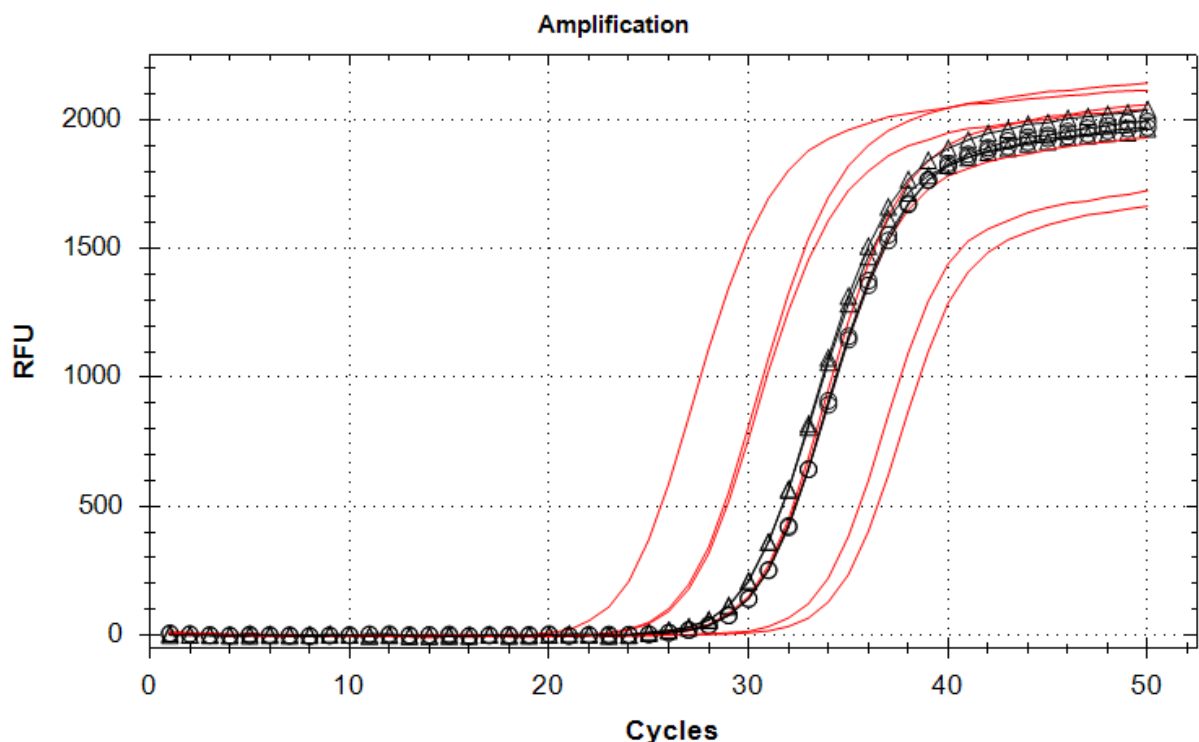
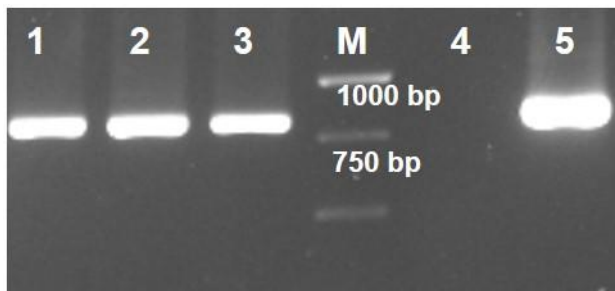


Рисунок 1. Детекция гена ALB человека методом ПЦР в реальном времени с помощью специфического флуоресцентного гидролизного зонда. RFU – флуоресценция, Cycles – циклы ПЦР. Сплошные линии – матрица коммерческой контрольной ДНК человека в четырёх разведениях (50 нг, 5 нг, 0,5 нг и 0,05 нг в реакции, в двух повторях). Линии с треугольниками – матрица ДНК, выделенная из пятна крови человека после хранения в течении 3-х лет (0,5 нг в реакции, в двух повторях). Линии с кружками - матрица ДНК, выделенная из пятна крови человека после хранения в течении 4-х лет (0,75 нг в реакции, в двух повторях).

Также, возможно поместить небольшой фрагмент карты прямо в пробирку с ПЦР смесью для проведения так называемой «прямой амплификации», где элюированная с карты ДНК служит матрицей для реакции. Для этого рекомендуется использовать полимеразы, устойчивые к различным ингибиторам. В наших исследованиях, при использовании «F-полимеразы» («Компания Алкор Био»), из фрагмента диаметром 1,25 мм пятна крови человека после 4-лет хранения «ДНК-карты» возможно амплифицировать фрагмент ДНК длиной 800 п. о. (рис.2).



*Рисунок 2. «Прямая амплификация» фрагмента 800 п.о. гена ALB человека. М – маркер длины ДНК; 1-3 – фрагменты карты с пятном крови человека после 4-лет хранения, 4 – фрагмент карты не содержащий биоматериал (отрицательный контроль); 5 – 2 мкл цельной крови человека, добавленной в реакцию амплификации (положительный контроль).
Разделение электрофорезом в 1% агарозном геле.*

Таким образом, «ДНК-карта» производства Группы компаний «Алкор Био» не уступает по своим качествам зарубежным образцам и отвечает всем требованиям по удобству и простоте сбора, транспортировки и длительного хранения ДНК-содержащего биоматериала. В настоящее время «ДНК-карта» успешно используется лабораториями судмедэкспертизы МВД России и ФСИН Казахстана для сбора и хранения образцов биоматериалов для анализа выделенной ДНК, а также рядом учреждений ветеринарного и сельскохозяйственного профиля. Благодаря своим свойствам «ДНК-карта» имеет все перспективы найти более широкое применение в медико-



ООО «Компания Алкор Био»
Россия, 192148, г. Санкт-Петербург
Железнодорожный пр.д. 40, Лит. А

Тел.: +7 (812) 677-87-79
Тел./факс: +7 (812) 677-47-28
E-mail: info@alkorbio.ru
www.alkorbio.ru

генетических центрах и других учреждениях медицинского профиля для сбора и хранения клинических образцов (например, создание биобанков) с целью последующего молекулярно-генетического анализа.