

Срок хранения образцов цельной крови в биобанке и выход выделенной из нее дезоксирибонуклеиновой кислоты при проведении генетических исследований

Скирко О. П.¹, Мешков А. Н.¹, Ефимова И. А.¹, Куценко В. А.^{1,2}, Киселёва А. В.¹, Покровская М. С.¹, Курилова О. В.¹, Сотникова Е. А.¹, Климушина М. В.¹, Драпкина О. М.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России. Москва; ²Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова. Москва, Россия

Цель. Изучить влияние срока хранения замороженных образцов цельной крови в биобанке на количество выделяемой из нее дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК).

Материал и методы. В исследование включили образцы цельной крови в пробирках с антикоагулянтом ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота в концентрации 1,8 мг/мл) от участников эпидемиологического исследования ЭССЕ-РФ-1 и ЭССЕ-РФ-2 (Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах Российской Федерации) и когортных исследований, проводимых в ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России. Образцы хранили в биобанке ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России в морозильных камерах при температуре от -22° С до -32° С. Срок хранения от взятия крови до выделения ДНК варьировался от нескольких недель до 11 лет. ДНК экстрагировали с помощью наборов QIAamp DNA Blood Mini Kit (250) и 96 Blood Kit (Qiagen, Германия). Статистический анализ проводили при помощи среды анализа данных R 3.6.1. Для анализа ассоциации времени хранения крови с логарифмом концентрации ДНК использовали модель линейной регрессии.

Результаты. В анализ вошли данные по концентрации ДНК 5405 образцов. Многофакторная регрессия показала, что срок хранения крови значимо ассоциирован с падением концентрации на 3,92% (3,16-4,68) за каждый год хранения ($p < 0,0001$). Для 509 проб концентрация ДНК измерялась дважды, сразу после выделения и через 4,5 года хранения ДНК при температуре -32° С. За время хра-

нения концентрация ДНК в пробах увеличилась в среднем на 2% ($p = 0,046$).

Заключение. Длительное хранение образцов цельной крови при температуре от -22° С до -32° С сопровождается снижением выхода ДНК при ее выделении. Длительное хранение выделенной ДНК при температуре -32° С не сопровождается снижением ее концентрации.

Ключевые слова: биобанкирование образцов цельной крови, экстракция ДНК, длительное хранение ДНК, концентрация ДНК, биобанк, генетические исследования.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 03/11-2020

Получена рецензия 10/11-2020

Принята к публикации 26/11-2020



Для цитирования: Скирко О. П., Мешков А. Н., Ефимова И. А., Куценко В. А., Киселёва А. В., Покровская М. С., Курилова О. В., Сотникова Е. А., Климушина М. В., Драпкина О. М. Срок хранения образцов цельной крови в биобанке и выход выделенной из нее дезоксирибонуклеиновой кислоты при проведении генетических исследований. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(6):2726. doi:10.15829/1728-8800-2020-2726

Shelf life of whole blood samples in a biobank and the yield of deoxyribonucleic acid during genetic testing

Skirko O. P.¹, Meshkov A. N.¹, Efimova I. A.¹, Kutsenko V. A.^{1,2}, Kiseleva A. V.¹, Pokrovskaya M. S.¹, Kurilova O. V.¹, Sotnikova E. A.¹, Klimushina M. V.¹, Drapkina O. M.¹

¹National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow; ²Lomonosov Moscow State University. Moscow, Russia

Aim. To study the effect of the shelf life of frozen whole blood samples in a biobank on the amount of released deoxyribonucleic acid (DNA).

Material and methods. The study included whole blood samples placed in tubes with the anticoagulant EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid at a concentration of 1,8 mg/ml) from participants in the epidemiological study ESSE-RF-1 and ESSE-RF-2 and cohort studies conducted at the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. The samples were stored in the

biobank of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine at temperature from -22° C to -32° C. The shelf life from blood collection to DNA extraction ranged from several weeks to 11 years. DNA was extracted using QIAamp DNA Blood Mini Kit (250) and 96 Blood Kit (Qiagen, Germany). Statistical analysis was performed using the R 3.6.1 software. To analyze the association of blood storage time with the logarithm of DNA concentration, a linear regression was used.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: ops_70@mail.ru

Тел.: +7 (965) 388-69-35

[Скирко О. П. — м.н.с. лаборатории молекулярной генетики, ORCID: 0000-0003-3755-0279; Мешков А. Н. — к.м.н., руководитель лаборатории, ORCID: 0000-0001-5989-6233; Ефимова И. А. — лаборант-исследователь лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0002-3081-8415; Куценко В. А. — м.н.с. лаборатории биостатистики отдела эпидемиологии хронических неинфекционных заболеваний, аспирант кафедры теории вероятностей механико-математического факультета, ORCID: 0000-0001-9844-3122; Киселева А. В. — к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной генетики, ORCID: 0000-0003-4765-8021; Покровская М. С. — к.б.н., руководитель лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0001-6985-7131; Курилова О. В. — м.н.с. лаборатории молекулярной генетики, ORCID: 0000-0003-3082-5161; Сотникова Е. А. — м.н.с. лаборатории молекулярной генетики, ORCID: 0000-0002-8395-4146; Климушина М. В. — с.н.с. отдела изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0002-7876-9325; Драпкина О. М. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, директор, ORCID: 0000-0002-4453-8430].

Results. The analysis included data on the DNA concentration of 5405 samples. Multivariate regression showed that the blood shelf life was significantly associated with a decrease in concentration by 3,92% (3,16-4,68) for each year of storage ($p < 0,0001$). For 509 samples, the DNA concentration was measured twice, immediately after isolation and after 4,5 years of DNA storage at -32°C . During storage, the concentration of DNA increased by an average of 2% ($p=0,046$).

Conclusion. Long-term storage of whole blood samples at temperature from -22°C to -32°C is associated with a decrease in the DNA yield. Long-term storage of the isolated DNA at a temperature of -32°C is not associated with a decrease in its concentration.

Key words: biobanking of whole blood samples, DNA extraction, long-term storage of DNA, DNA concentration, biobank, genetic research.

Relationships and Activities: none.

Skirko O.P.* ORCID: 0000-0003-3755-0279, Meshkov A.N. ORCID: 0000-0001-5989-6233, Efimova I.A. ORCID: 0000-0002-3081-8415,

Kutsenko V.A. ORCID: 0000-0001-9844-3122, Kiseleva A.V. ORCID: 0000-0003-4765-8021, Pokrovskaya M.S. ORCID: 0000-0001-6985-7131, Kurilova O.V. ORCID: 0000-0003-3082-5161, Sotnikova E.A. ORCID: 0000-0002-8395-4146, Klimushina M.V. ORCID: 0000-0002-7876-9325, Drapkina O.M. ORCID: 0000-0002-4453-8430.

*Corresponding author: ops_70@mail.ru

Received: 03/11-2020

Revision Received: 10/11-2020

Accepted: 26/11-2020

For citation: Skirko O.P., Meshkov A.N., Efimova I.A., Kutsenko V.A., Kiseleva A.V., Pokrovskaya M.S., Kurilova O.V., Sotnikova E.A., Klimushina M.V., Drapkina O.M. Shelf life of whole blood samples in a biobank and the yield of deoxyribonucleic acid during genetic testing. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(6):2726. (In Russ.) doi:10.15829/1728-8800-2020-2726

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ФГБУ "НМИЦ ТПМ" — Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины", ЭДТА — этилендиаминтетрауксовая кислота, ЭССЕ-РФ — Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах Российской Федерации, DBS — Dried Blood Spots (метод "сухой капли крови").

Введение

Современные исследования в области генетики комплексных заболеваний проводятся на больших выборках пациентов в десятки и даже сотни тысяч человек. При этом непосредственно генетические исследования зачастую проводятся через несколько лет после взятия биообразцов [1-4]. Эти исследования требуют анализа большого количества образцов дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) высокого качества [5]. Геномную ДНК можно выделить практически из всех биологических жидкостей и тканей организма. При этом цельная кровь является относительно легким и распространенным объектом получения большого количества ДНК высокого качества для проведения молекулярно-генетических исследований. Однако для различных генетических технологий необходимо разное количество ДНК (10-500 нг). Например, для полимеразной цепной реакции в режиме реального времени и секвенирования на основе технологии AmpliSeq достаточно 10 нг ДНК [6]. Для экзомного или геномного секвенирования на секвенаторах Illumina требуется до 100 нг ДНК [7], целый ряд других генетических технологий, таких как гено-типирование на микрочипах и 12K Flex OpenArray требует от 100 до 500 нг [8]. Длительное хранение цельной крови влияет на ее вязкость и гомогенность, что в свою очередь может влиять на количество выделяемой из нее ДНК, однако ранее полученные результаты противоречивы, и основаны на сравнительно небольших выборках [9-11]. В ряде работ было показано, что длительное хранение крови влияет на выход выделенной ДНК, но практически не влияет на ее функциональность [10-11].

В то же время, в крупном исследовании с использованием >2 тыс. образцов цельной крови, хранившейся при температуре -30°C до 19 лет исследователями не было обнаружено никакой корреляции между длительностью хранения и общим выходом ДНК [12].

Целью работы было изучение влияния длительных (до 11 лет) сроков хранения образцов цельной крови при температуре от -22°C до -32°C на количество выделяемой из нее ДНК на выборке из >5400 образцов крови.

Материал и методы

В исследование были отобраны образцы цельной крови, полученные от участников эпидемиологических исследований ЭССЕ-РФ-1 и ЭССЕ-РФ-2 (Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах Российской Федерации) и пациентов когортных исследований, проводимых в ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России [3, 13, 14]. До включения в исследование все пациенты дали информированное согласие на биобанкирование образцов крови и проведение генетических исследований. Все протоколы исследований были одобрены Независимым Этическим комитетом ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России. Образцы цельной крови собирали с 2008 по 2020гг в пробирки с этилендиаминтетрауксовой кислотой (ЭДТА) (1,8 мг/мл). При заборе крови вне ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России замороженные пробирки на -20°C с цельной кровью транспортировали в ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России в специальных контейнерах с сухим льдом. Затем образцы хранили в биобанке ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России в морозильных камерах при температуре от -22°C до -32°C , оснащенных системой температурного мониторинга. Срок хранения от взятия крови до выделения ДНК варьировался от нескольких недель

Таблица 1

Изменение концентрации ДНК при хранении

	0-2 года	3-8 лет	9-11 лет	p
Концентрация ДНК (нг/мкл) MED [Q25; Q75]	23,95 [16,96; 30,15]	18,40 [13,90; 23,77]	14,79 [12,18; 17,96]	p<0,0001
Концентрация ДНК (нг/мкл) $M_{\log} \pm SD_{\log}$	3,11 $\pm$ 0,47	2,89 $\pm$ 0,41	2,69 $\pm$ 0,35	p<0,0001

Примечание: MED — медиана; Q25, Q75 — нижний и верхний квартили; $M_{\log}$ — среднее значение логарифмированной величины; $SD_{\log}$ — стандартное отклонение логарифмированной величины.

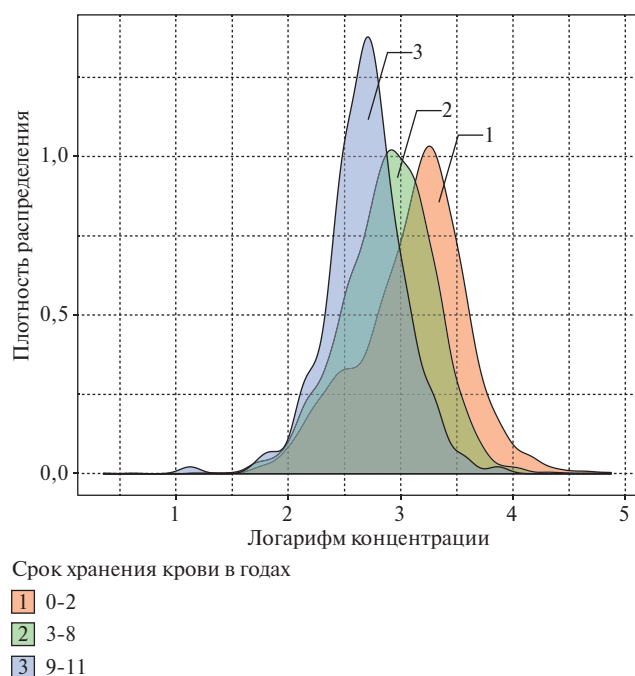


Рис. 1 Распределение концентрации ДНК в зависимости от срока хранения крови.

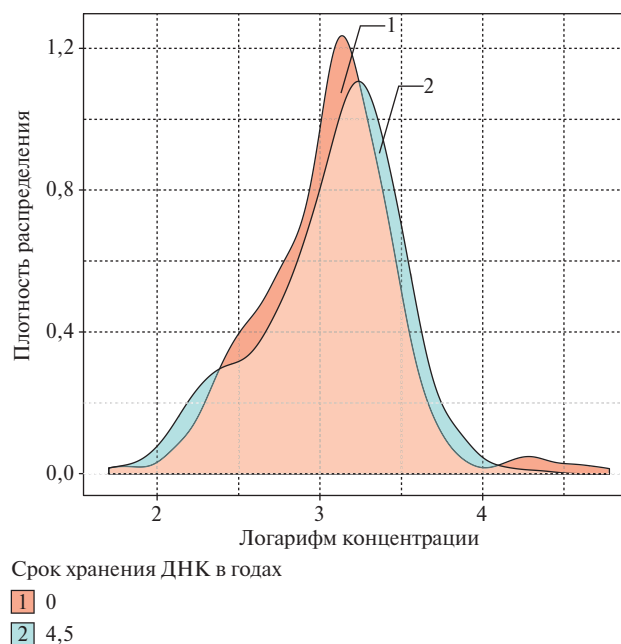


Рис. 2 Распределение концентрации ДНК в зависимости от срока хранения ДНК.

до 11 лет. Процедуру размораживания цельной крови для экстракции ДНК проводили при +4° С. Геномную ДНК выделили из 5405 образцов цельной крови. Экстракцию проводили с помощью наборов QIAamp DNA Blood Mini Kit (250) и 96 Blood Kit (Qiagen, Германия). Процедуру выделения проводили согласно протоколу производителя набора для экстракции ДНК [15]. Размороженную при +4° С и гомогенизированную на шейкере цельную кровь объемом 200 мкл лизировали при +56° С с добавлением 20 мкл протеиназы К (20 мг/мл) в 200 мкл буфера AL в течение 10 мин, в варианте набора QIAamp DNA 96 Blood Kit (Qiagen, Германия) плашки инкубировали до 10 мин при +70° С. Далее лизис-микс троекратно очищали в промывочных растворах (в этаноле, в AW1 и в AW2) с помощью центрифугирования на фильтрующих колонках QIAamp Mini Spin Columns. Затем элюировали ДНК буфером AE при +60° С в течение 2 мин, в варианте набора QIAamp DNA 96 Blood Kit (Qiagen, Германия) плашки с колонками инкубировали до 5 мин при +60° С. Пробирки и плашки с выделенной ДНК хранили при -32° С. Для длительного хранения ДНК использовали пробирки DNA LoBind (Eppendorf, Германия).

Количество ДНК оценивали методом спектрофотометрии с помощью спектрофотометров NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, США) и NanoPhotometr Pearl (Implen, Германия). Концентрацию ДНК (в 1 мкл буфера AE) измеряли непосредственно после экстракции. Для

ряда проб концентрацию ДНК измеряли дважды: после выделения и через 4,5 года хранения ДНК при температуре -32° С. Оценку функциональности геномной ДНК проводили с помощью методик таргетного и экзомного секвенирования нового поколения на приборах Nextseq 550 (Illumina, США) и Ion S5 (Thermo Fisher Scientific, США), а также генотипирования с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на приборах 7500 Fast RT PCRsystem (Thermo Fisher Scientific, США) и QuantStudio 12K Flex (Thermo Fisher Scientific, США).

Статистический анализ проводили при помощи среды анализа данных R 3.6.1. Для сравнения логарифма концентрации двух связанных выборок использовали парный t-тест Стьюдента; для несвязанных выборок использовали непарный t-тест Стьюдента. Для анализа ассоциации времени хранения крови с логарифмом концентрации ДНК использовали модель линейной регрессии с поправками на модель спектрофотометра Implen/NanoDrop и на метод выделения — плащечный/пробирочный. Уровень значимости (p) принимали равным 0,05.

Результаты

В анализ вошли данные по концентрации ДНК, выделенной из 5405 образцов. Все образцы были разделены на три группы в зависимости от срока

хранения: 0-2 года ($n=1376$), 3-8 лет ($n=3823$), 9-11 лет ($n=206$). Значения концентрации выделенной ДНК в каждой группе приведены в таблице 1 и на рисунке 1. Группы достоверно различались по концентрации ДНК, выделенной из крови. Максимальная концентрация была в группе хранения от 0 до 2 лет, минимальная концентрация в группе хранения от 9 до 11 лет. Результаты однофакторного и многофакторного регрессионного анализа показали, что время хранения крови значимо ассоциировано с падением концентрации ($p<0,0001$). В однофакторной модели концентрация падает на 4,91% (4,38-5,44) за каждый год. В многофакторной модели концентрация падает на 3,92% (3,16-4,68) за каждый год. При этом все выделенные пробы ДНК успешно прошли тест на функциональность при выполнении различных генетических исследований.

Для 509 проб измерение количества ДНК проводилось дважды: первое измерение ~ январь 2015г, второе — июль 2020г, т.е. срок между повторными измерениями составил 4,5 года. За время хранения концентрация ДНК в пробах не снизилась. Напротив, средняя концентрация 2020г оказалась на 2% выше, чем концентрация 2015г ($p=0,046$) (рисунок 2), что находится в рамках погрешности измерений.

Обсуждение

Метод долговременного хранения цельной крови для последующих генетических исследований (в отличие от клеток, биоптатов и других биобразцов) прост в реализации. Достаточно стабилизировать кровь в 4-миллилитровых пробирках с ЭДТА (1,8 мг/мл) и поместить в морозильную камеру на -22°C — -32°C в тех же пробирках, в которые проводился ее забор от пациентов. Система температурного мониторинга позволяет надежно хранить кровь в оптимальных заданных условиях. Недостатком хранения цельной крови для генетических исследований является значительный объем, занимаемый десятками тысяч пробирок на 4 мл и более. К недостаткам длительного хранения цельной крови следует отнести и снижение количества выделяемой из нее ДНК. В представленной работе показано достоверное снижение выхода ДНК на 3,92% ежегодно, что при хранении >12 лет может привести к снижению выхода ДНК на 50%.

Альтернативой хранению цельной крови может быть выделение ДНК сразу после взятия крови и дальнейшее длительное хранение ДНК при температуре -70°C , что является золотым стандартом для длительного хранения ДНК в промышленности [16]. Однако и такой подход не лишен недостатков: во-первых, для разных методов генетической диагностики могут требоваться разные технологии выделения ДНК; во-вторых, хранение при -70°C требует наличия другого типа более дорогостоящего

морозильного оборудования и специальных пробирок с низкой адсорбцией ДНК для хранения.

Имеются данные об эффективном хранении выделенной ДНК при температуре -20°C [5]. В настоящем исследовании 4,5-летнее наблюдение также не выявило достоверного снижения концентрации ДНК при повторном измерении после хранения на -32°C . Еще одним способом является хранение лейкоцитарного слоя (buffy coat) при -80°C , полученного из образцов цельной крови, и дальнейшее выделение ДНК при необходимости. К недостаткам этого подхода можно отнести сложность автоматического процессинга лейкоцитарного слоя из образцов крови и меньший выход ДНК при длительном хранении по сравнению с образцами цельной крови, что может быть связано с положительным влиянием плазмы на консервацию ДНК [17].

Следует упомянуть также форматы хранения крови и ДНК при комнатной температуре, что существенно удешевляет и упрощает процесс хранения: это хранение образцов крови методом “сухой капли крови” — DBS (Dried Blood Spots) [18]. Для примера, Датский Биобанк неонатального скрининга (DNSB) охватывает >99% всех рождений в Дании с 1982г, и содержит ~1,8 млн образцов DBS [19]. Выделенная ДНК из DBS может использоваться для секвенирования нового поколения [20]. По сравнению с хранением замороженных образцов крови ценность метода DBS заключается в упрощенной логистике для удаленного отбора проб, упрощенной транспортировке и хранении при комнатной температуре. К недостаткам этого метода можно отнести подверженность к загрязнению и контаминации, а также малый выход ДНК, что может быть критичным при проведении исследований. Медперсонал также подвержен риску воздействия потенциально инфекционных агентов до тех пор, пока кровь не будет высушена и помещена в безопасную упаковку [21].

Описаны методы хранения ДНК в сухом состоянии: на коммерческих пластинах Biomatrix DNASTable, в 96-луночных планшетах с добавлением стабилизаторов ДНК (трегалозы или поливинилового спирта) [22], и в герметичных миникапсулах DNAShell из нержавеющей стали [23]. Все вышеописанные методы позволяют сохранять нуклеиновые кислоты при температуре окружающей среды в течение длительного времени, а качество подходит для последующих молекулярно-генетических тестов. Но при длительном хранении сухой ДНК необходимо защищать образцы от воздействия влажности [19, 23].

Таким образом, единственно лучшего подхода для длительного хранения ДНК-содержащих биоматериалов не существует. В зависимости от целей и дизайна исследований, планируемых в будущем, следует выбирать оптимальные подходы и условия

хранения.

Заключение

В настоящем исследовании показано, что длительный срок хранения образцов цельной крови с ЭДТА при температуре от -22°C до -32°C достоверно снижает выход выделяемой из нее ДНК, напротив длительное хранение выделенной ДНК при

температуре -32°C достоверно не приводит к снижению ее концентрации.

Отношения и деятельность: авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

- Elliott P, Peakman TC. The UK Biobank sample handling and storage protocol for the collection, processing and archiving of human blood and urine. *International J Epidemiol*. 2008;37(2):234-44. doi:10.1093/ije/dym276.
- Gudbjartsson D, Helgason H, Gudjonsson S, et al. Large-scale whole-genome sequencing of the Icelandic population. *Nat Genet*. 2015;47:435-44. doi:10.1038/ng.3247.
- Kiseleva AV, Klimushina MV, Sotnikova EA, et al. A Data-Driven Approach to Carrier Screening for Common Recessive Diseases. *J Pers Med*. 2020;10(3):140. doi:10.3390/jpm10030140.
- Welsh S, Peakman T, Sheard S, et al. Comparison of DNA quantification methodology used in the DNA extraction protocol for the UK Biobank cohort. *BMC Genomics*. 2017;18(1):26. doi:10.1186/s12864-016-3391-x.
- Kim Y-T, Choi E-H, Son B-K, et al. Effects of Storage Buffer and Temperature on the Integrity of Human DNA. *Korean J Clin Lab Sci*. 2011;44(1):24-30. ISSN: 1738-3544.
- Ion AmpliSeq™ Library Preparation on the Ion Chef System. [Electronic resource]. http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/MAN0013432_Ion_AmpliSeq_Library_Prep_on_Ion_Chef_UG.pdf (data accessed 21.10.2020).
- Illumina TruSeq DNA Exome. [Electronic resource]. <https://www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/truseq-exome.html> (data accessed 21.10.2020).
- Broccanello C, Gerace L, Stevanato P. QuantStudio™ 12K Flex OpenArray System as a Tool for High-Throughput Genotyping and Gene Expression Analysis. *Methods Mol Biol*. 2020;2065:199-208. doi:10.1007/978-1-4939-9833-3_15.
- Polakova H, Kadasi L, Zelinkova M. The yield and quality of DNA extracted from blood samples stored under various conditions. *Bratisl Lek Listy*. 1989;90(11):844-7. (In Slovak.)
- Bulla A, Witt B, Ammerlaan W, et al. Blood DNA Yield but Not Integrity or Methylation Impacted After Long-Term Storage. *Biopreserv Biobank*. 2016;14(1):29-38. doi:10.1089/bio.2015.0045.
- Schröder C, Steimer W. gDNA extraction yield and methylation status of blood samples are affected by long-term storage conditions. *PLoS One*. 2018;13(2):e0192414. doi:10.1371/journal.pone.0192414.
- Chen WC, Kerr R, May A, et al. The Integrity and Yield of Genomic DNA Isolated from Whole Blood Following Long-Term Storage at -30°C . *Biopreserv Biobank*. 2018;16(2):106-13. doi:10.1089/bio.2017.0050.
- Meshkov AN, Ershova AI, Deev AD, et al. Distribution of lipid profile values in economically active men and women in Russian Federation: results of the ESSE-RF study for the years 2012-2014. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2017;16(4):62-7. (In Russ.) Мешков А.Н., Ершова А.И., Деев А.Д. и др. Распределение показателей липидного спектра у мужчин и женщин трудоспособного возраста в российской федерации: результаты исследования ЭССЕ-РФ за 2012-2014гг. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2017;16(4):62-7. doi:10.15829/1728-8800-2017-4-62-67.
- Yezhov MV, Bliznyuk SA, Tmoyan NA, et al. Register of patients with familial hypercholesterolemia and patients of very high cardiovascular risk with lipid-lowering therapy underperformance (RENESSANS). *Russian Journal of Cardiology*. 2019;(5):7-13. (In Russ.) Ежов М.В., Близняк С.А., Тмоян Н.А. и др. Регистр пациентов с семейной гиперхолестеринемией и пациентов очень высокого сердечно-сосудистого риска с недостаточной эффективностью проводимой гиполипидемической терапии (РЕНЕССАНС). Российский кардиологический журнал. 2019;(5):7-13. doi:10.15829/1560-4071-2019-5-7-13.
- QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook — Qiagen [Electronic resource]. <https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=62a200d6-faf4-469b-b50f-2b59cf738962&lang=en>. (data accessed 21.10.2020).
- Wang Y, Keith M, Leyme A, et al. Monitoring long-term DNA storage via absolute copy number quantification by ddPCR. *Analytical Biochemistry*. 2019;583:113363. doi:10.1016/j.ab.2019.113363.
- Gallego PF, Ortega-Pinazo J, Martinez B, et al. On the Use of Buffy or Whole Blood for Obtaining DNA of High Quality and Functionality: What Is the Best Option? *Biopreserv Biobank*. 2019;17(6):577-82. doi:10.1089/bio.2019.0024.
- Mark DL. Dried Blood Spots for Global Health Diagnostics and Surveillance: Opportunities and Challenges. *Am J Trop Med Hyg*. 2018;99(2):256-65. doi:10.4269/ajtmh.17-0889.
- Hollegaard MV, Grove J, Thorsen P, et al. High-throughput genotyping on archived dried blood spot samples. *Genetic testing and molecular biomarkers*. 2009;13(2):173-9. doi:10.1089/gtmb.2008.0073.
- Hendrix MM, Cuthbert CD, Cordovado SK. Assessing the Performance of Dried-Blood-Spot DNA Extraction Methods in Next Generation Sequencing. *International Journal of Neonatal Screening*. 2020;6(2):36. doi:10.3390/ijns6020036.
- McClendon-Weary B, Putnick DL, Robinson S, et al. Little to Give, Much to Gain-What Can You Do With a Dried Blood Spot? *Current Environmental Health Reports*. 2020;7:211-21. doi:10.1007/s40572-020-00289-y.
- Ivanova NV, Kuzmina ML. Protocols for dry DNA storage and shipment at room temperature. *Molecular Ecology Resources*. 2013;13:890-8. doi:10.1111/1755-0998.12134.
- Liu X, Li Q, Wang X, et al. Evaluation of DNA/RNAs for room temperature nucleic acids storage. *Biopreservation and biobanking*. 2015;13(1):49-55. doi:10.1089/bio.2014.0060.