



Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2017/5530 от 22 марта 2017 года

Служба клиентской поддержки:
8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья,
звонок платный)
E-mail: hotline@dna-technology.ru,
www.dna-technology.ru

Набор реагентов для выявления аллеля 27 локуса В главного комплекса гистосовместимости человека методом ПЦР в режиме реального времени HLA-B27

Фасовка: S (стандартная)

Каталожные номера:

R1-H004-23/4 (пробирки, 48 определений)

R1-H004-S3/4 (стрипы, 48 определений)

Информация о наборе

Назначение:

Набор реагентов HLA-B27 предназначен для выявления аллеля 27 локуса В главного комплекса гистосовместимости человека методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в биологическом материале человека (периферическая кровь) с использованием детектирующих амплификаторов.

Выявление HLA-B27 позволяет определить предрасположенность к развитию анкилозирующего спондилита (болезнь Бехтерева) и ревматоидного артрита.

Набор может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

Метод:

Полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени; качественный анализ.

Материал для исследования:

Периферическая кровь.

Выделение ДНК:

Рекомендуются комплекты реагентов для выделения ДНК ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА или ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА (ООО «НПО ДНК-Технология»).

Особенности комплекта:

Внутренний контроль B27 (BK B27) – необходим для оценки качества всех этапов исследования и интерпретации результатов. В качестве внутреннего контроля используется контроль взятия материала для системы HLA-B27.

Приборное обеспечение:

Амплификаторы детектирующие ДТлайт¹, ДТпрайм² или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»); версия программного обеспечения не ниже 7.5.5.23³.

ВНИМАНИЕ! Возможность использования других амплификаторов необходимо уточнить у представителя компании.

Время проведения анализа (без учёта пробоподготовки):

от 1,5 часов.

Количество определений:

48

Состав набора

| Реактив | Количество | |
|--|------------|--|
| • Смесь для амплификации, запечатанная парафином | 20 мкл | 48 пробирок или 6 стрипов по 8 пробирок |
| • Раствор Таq-полимеразы | 500 мкл | 1 пробирка |
| • Минеральное масло | 1,0 мл | 1 пробирка |
| • Положительный контрольный образец | 75 мкл | 1 пробирка |
| • Крышки для стрипов ⁴ | | 6 шт. |

¹ – только модели 4S1; 4S2; 5S1; 5S2; 6S1; 6S2.

² – только модели 4M1; 4M3; 4M6; 5M1; 5M3; 5M6; 6M1; 6M3; 6M6.

³ – производитель рекомендует своевременно обновлять программное обеспечение для детектирующих амплификаторов. Актуальную версию программного обеспечения можно скачать на сайте компании «ДНК-Технология»: <http://www.dna-technology.ru/po/>

⁴ – в случае использования стрипованных пробирок.

Каналы детекции продуктов амплификации

| Fam | Hex | Rox | Cy5 | Cy5.5 |
|---------|--------|-----|-----|-------|
| HLA-B27 | BK B27 | - | - | - |

Проведение анализа

1. Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

1.1. Промаркируйте по одной пробирке со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца (К-) и положительного контрольного образца (К+).

Например, необходимо проанализировать четыре образца. Нужно промаркировать четыре пробирки для исследуемых образцов, одну пробирку для «К-» и одну для «К+». Общее количество пробирок – шесть.

1.2. Встряхните пробирку с раствором Taq-полимеразы в течение 3–5 с и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.

1.3. Внесите в каждую пробирку, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Taq-полимеразы.

1.4. Внесите в каждую пробирку по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки пробирок.

1.5. Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышку только той пробирки, в которую будет вноситься данный образец, и закрывать ее перед внесением следующего. Препараты ДНК следует вносить наконечниками с фильтром.

Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК в соответствующие пробирки для исследуемых образцов. В пробирки «К-», «К+» ДНК не вносится.

1.6. Внесите, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК, в пробирку, маркированную «К-». Внесите, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл положительного контрольного образца в пробирку, маркированную «К+».

1.7. Центрифугируйте пробирки в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.

1.8. Установите все пробирки в блок детектирующего амплификатора. Рекомендуется располагать пробирки по центру термоблока.

1.9. Запустите программное обеспечение RealTime_PCR, выберите оператора, выберите режим «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите ini файл «HLA_B27.ini». Далее и при последующих постановках добавьте в протокол тест «HLA_B27», укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой (1.8.) и проведите ПЦР.

2. Регистрация и учёт результатов ПЦР проводится автоматически программным обеспечением для амплификаторов детектирующих.

3. Учёт и интерпретация результатов ПЦР

3.1. Для версии ПО 7.7 и ниже

Интерпретация результатов для каждого образца проводится с учётом значений C_p по каналу спецификации (канал Fam) и внутреннего контроля (канал Hex) в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 - Интерпретация результатов при использовании детектирующих амплификаторов ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96.

| Результат по каналу Fam C_p (Fam) | Результат по каналу Hex C_p (Hex) | $\Delta C_p = C_p$ (Fam) – C_p (Hex) | Интерпретация результата |
|--|--|--|-----------------------------|
| C_p указан | $C_p \leq 32,0^*$ | менее 8,0 | аллель HLA-B27 обнаружен |
| C_p указан | $C_p \leq 32,0$ | более 10,0 | аллель HLA-B27 не обнаружен |
| C_p не указан | $C_p \leq 32,0$ | не учитывается | |
| C_p указан | $C_p \leq 32,0$ | 8,0 – 10,0 | результат сомнительный |
| C_p указан/не указан | C_p не указан | не учитывается | результат недостоверный |
| | $C_p > 32,0$ | не учитывается | |

3.2. Для версии ПО 7.9 и выше

Учёт и интерпретация результатов реакции осуществляются автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с амплификатором детектирующим.

Наличие или отсутствие аллеля HLA-B27 для каждого образца вычисляется программным обеспечением автоматически с учетом результатов по каналам Fam и Hex для этого образца.

* - соответствует количеству анализируемой ДНК более 1,0 нг на амплификационную пробирку.

Изучите полную инструкцию № 196-9 от 11.08.17 перед началом работы

ВНИМАНИЕ! Версия ini файла должна быть не ниже «HLA_B27_#20170707.ini».

- 3.3 В случае получения сомнительного результата необходимо повторить проведение полимеразной цепной реакции для данного образца. При повторном получении такого же результата следует повторить пробоподготовку и проведение полимеразной цепной реакции для данного образца.

Примечание - Если ДНК получена при использовании комплекта реагентов для выделения ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА и значение $\Delta C_p = C_p (\text{Fam}) - C_p (\text{Hex})$ укладывается в пределы от 8,0 до 10,0 следует развести полученный препарат ДНК в 10 раз стерильной дистиллированной водой. При этом необходимо учесть, что показание «Ср Hex» изменится. В данном случае для образца достоверным необходимо считать только тот результат, для которого $C_p \text{ Hex} < 35,0$.

- 3.4 Недостоверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в препарате ДНК, полученном из клинического материала; неверным выполнением протокола анализа; несоблюдением температурного режима амплификации и др.

В случае получения недостоверного результата требуется либо повторное выделение ДНК и постановка ПЦР для данного образца, либо повторное взятие клинического материала у пациента (выполняется последовательно).

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Компоненты набора реагентов для ПЦР-амплификации ДНК следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора.

Примечание - Смеси для амплификации следует хранить в защищённом от света месте в течение всего срока годности набора.

Транспортирование набора осуществляют всеми видами крытого транспорта при температурах, соответствующих условиям хранения компонентов, входящих в состав набора.

Срок годности набора – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов для выявления аллеля 27 локуса В главного комплекса гистосовместимости человека методом ПЦР в режиме реального времени (HLA-B27), следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, корп.б,
тел./факс +7 (495) 640-17-71

Служба клиентской поддержки: 8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный)

E-mail: hotline@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»:
http://www.dna-technology.ru/customer_support/

С полной инструкцией № 196-9 от 11.08.17 можно ознакомиться на интернет-сайте компании «ДНК-Технология», по адресу: <http://www.dna-technology.ru/dnaproducts/reagents/med/> или обратитесь за полной инструкцией к представителю компании.

Изучите полную инструкцию № 196-9 от 11.08.17 перед началом работы

ДНК-Технология
117587, Москва, Варшавское ш., д.125ж, корп.6
Тел./факс +7 (495) 640-17-71
Служба клиентской поддержки:
8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный)
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный)
E-mail: hotline@dna-technology.ru