



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

Регистрационное удостоверение  
№ ФСР 2008/03891 от 10 мая 2017 года

## Набор реагентов для типирования генов гистосовместимости человека (HLA) II класса методом амплификации ДНК

### HLA-ДНК-ТЕХ

#### Комплект реагентов для типирования гена DQA1

Каталожный номер: R1-H002-N3/5 (24 определения)

Фасовка: U (универсальная)

#### Информация о комплекте

##### Назначение:

Набор реагентов HLA-ДНК-ТЕХ предназначен для определения специфичностей главного комплекса тканевой совместимости человека на уровне генов методом полимеразной цепной реакции в биологическом материале человека (периферическая кровь) с использованием детектирующих амплификаторов.

Полученные результаты могут быть использованы для подбора гистосовместимого донора при трансплантации органов и тканей, для генетического прогнозирования иммуноопосредованных заболеваний и нарушений репродукции.

Комплект реагентов для типирования гена DQA1 предназначен для одновременного определения 8 аллелей (DQA1\*0201) и групп аллелей гена DQA1 (DQA1\*0101, \*0102, \*0103, \*0301, \*0401, \*0501, \*0601) главного комплекса тканевой совместимости человека.

Комплект 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, анализ кривых плавления.

##### Материал для исследования:

Периферическая кровь.

##### Выделение ДНК:

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

##### Особенности комплекта:

Дополнительный раунд плавления продуктов амплификации – используется для генотипирования некоторых специфичностей гена DQA1.

Одновременная детекция – в одной пробирке определяются несколько ДНК-мишеней.

Внутренний контрольный образец (ВК) – необходим для контроля прохождения полимеразной цепной реакции.

##### Приборное обеспечение:

Амплификаторы детектирующие ДТлайт<sup>1</sup>, ДТпрайм<sup>2</sup> или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»); версия программного обеспечения не ниже 7.5.5.23, рекомендуемая версия 7.7.5.44<sup>3</sup>.

##### Время проведения анализа (без учёта пробоподготовки):

от 2,5 часов.

##### Количество определений:

24

#### Состав комплекта

Реактив	Количество	
• Смесь для амплификации «DQA1-1»	480 мкл	1 пробирка
• Смесь для амплификации «DQA1-2»	480 мкл	1 пробирка
• Смесь для амплификации «DQA1-3»	480 мкл	1 пробирка
• Смесь для амплификации «DQA1-4»	480 мкл	1 пробирка
• Полимераза ТехноTaq MAX	48 мкл	1 пробирка
• ПЦР-буфер	500 мкл	2 пробирки
• Минеральное масло	1,0 мл	2 пробирки
• Положительный контрольный образец «K+ DQ FAM»	100 мкл	1 пробирка
• Положительный контрольный образец «K+ DQ HEX»	100 мкл	1 пробирка

<sup>1</sup> – только модели 4S1; 4S2; 5S1; 5S2; 6S1; 6S2.

<sup>2</sup> – только модели 4M1; 4M3; 4M6; 5M1; 5M3; 5M6; 6M1; 6M3; 6M6.

<sup>3</sup> – по мере обновления программного обеспечения рекомендуемая версия ПО может измениться. Последнюю рекомендуемую версию ПО можно скачать на сайте компании «ДНК-Технология»:

## Каналы детекции продуктов амплификации

Название смеси для амплификации	Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
DQA1-1	0301	0501	0201	BK	-
DQA1-2	-	-	0401, 0601	BK	-
DQA1-3	-	-	0101, 0102, 0103	BK	-
DQA1-4	-	-	0103, 0102, 0101	BK	-

## Проведение анализа

## 1. Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

1.1. Промаркируйте по 4 пробирки для амплификации объёмом 0,2 мл для каждого анализируемого образца, отрицательного контрольного образца (К-), положительного контрольного образца «К+ DQ FAM» и положительного контрольного образца «К+ DQ HEX».

Например, необходимо проанализировать 5 образцов. Нужно промаркировать 20 пробирок для исследуемых образцов и 12 пробирок для «К-», «К+ DQ FAM», «К+ DQ HEX». Общее количество пробирок – 32.

1.2. Встряхните пробирки со смесями для амплификации в течение 3–5 сек и центрифугируйте в течение 1–3 сек на микроцентрифуге/вортексе.

1.3. Внесите в промаркированные пробирки по 20 мкл соответствующей смеси для амплификации (соответственно маркировке в пробирку 1 внесите смесь DQA1-1, в пробирку 2 – смесь DQA1-2 и т.д.).

1.4. Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и полимеразой ТехноТаQ MAX в течение 3–5 сек и центрифугируйте в течение 1–3 сек на микроцентрифуге/вортексе.

**Внимание!** Полимеразу ТехноТаQ MAX необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

1.5. Приготовьте в отдельной пробирке смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаQ MAX:

- 10 x (N+1) мкл ПЦР-буфера;
- 0,5 x (N+1) мкл полимеразы ТехноТаQ MAX,

где N – количество промаркированных пробирок с учетом «К-», «К+ DQ FAM», «К+ DQ HEX».

Например, необходимо проанализировать 5 образцов, «К-», «К+ DQ FAM», «К+ DQ HEX». Промаркированных пробирок – 32. Нужно приготовить смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаQ MAX для 33 (32+1) пробирок, т.е. 330 мкл ПЦР-буфера + 16,5 мкл полимеразы ТехноТаQ MAX.

1.6. Встряхните пробирку со смесью ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаQ MAX в течение 3–5 сек и центрифугируйте в течение 1–3 сек на микроцентрифуге/вортексе.

**Внимание!** Смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаQ MAX необходимо готовить непосредственно перед использованием.

1.7. Добавьте в каждую пробирку со смесями для амплификации по 10 мкл смеси ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаQ MAX.

**Внимание!** После добавления смеси ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаQ MAX в пробирки со смесями для амплификации необходимо в течение двух часов выполнить 1.8 – 1.13.

1.8. Добавьте в каждую пробирку по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки пробирок.

**Внимание!** Количество анализируемой ДНК должно быть не менее 1,0 нг на амплификационную пробирку. При использовании меньшего количества ДНК производитель не гарантирует корректную работу набора. Для оценки количества выделенной ДНК рекомендуется использовать комплект реагентов для ПЦР-амплификации геномной ДНК человека в режиме реального времени (KBM) производства ООО «НПО ДНК-Технология».

При использовании комплекта реагентов HLA DQA1 совместно с комплектом HLA DRB1 можно учитывать результаты KBM, полученные при использовании комплекта HLA DRB1. Ср для KBM более 32 трактуется оператором как недостаточное для анализа количество ДНК.

1.9. Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. Препараты ДНК следует вносить наконечниками с фильтром.

Внесите по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК в соответствующие пробирки для исследуемых образцов (4 шт. для каждого образца). В пробирки «К-», «К+ DQ FAM», «К+ DQ HEX» ДНК не вносится.

1.10. Внесите по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК в пробирки, маркированные «К-». Внесите по 5,0 мкл положительного контрольного образца «К+ DQ FAM» в

## Изучите полную инструкцию № 204-6 от 12.05.17 перед началом работы

пробирки, маркированные «K+ DQ FAM». Внесите по 5,0 мкл положительного контрольного образца «K+ DQ HEX» в пробирки, маркированные «K+ DQ HEX».

- 1.11. Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге/вортексе в течение 1–3 сек.
- 1.12. Установите все пробирки в блок амплификатора детектирующего.
- 1.13. Запустите программное обеспечение RealTime\_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите файл «HLA.ini». При последующих постановках добавьте в протокол тест «DQA1», укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательных и положительных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 1.12.) и проведите ПЦР.

**Внимание!** Версия ini файла должна быть не ниже «HLA\_20131111.ini».

2. **Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводится автоматически программным обеспечением для амплификаторов детектирующих. Специфичности гена HLA DQA1 для каждого образца определяются программным обеспечением автоматически с учетом совокупности результатов по каждой пробирке для этого образца.

**Внимание!** В случае получения гомозиготного генотипа для достоверности рекомендуется повторить исследование из того же препарата ДНК.

### Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Комплект реагентов, за исключением полимеразы ТехноTaq MAX, следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в холодильных камерах или в холодильниках в течение всего срока годности комплекта.

**Примечание** – Смеси для амплификации следует хранить в защищённом от света месте в течение всего срока годности комплекта.

Полимеразу ТехноTaq MAX следует хранить при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в морозильных камерах в течение всего срока годности комплекта.

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

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

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов для типирования гена DQA1, следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, 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](mailto:hotline@dna-technology.ru), [www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru)

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»:

[http://www.dna-technology.ru/customer\\_support/](http://www.dna-technology.ru/customer_support/)

С полной инструкцией № 204-6 от 12.05.17 можно ознакомиться на интернет-сайте компании «ДНК-Технология», перейдя по ссылке: <http://www.dna-technology.ru/dnaproducts/reagents/med/> или обратитесь к представителю компании.

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 (звонок по России бесплатный)  
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный)  
E-mail: [hotline@dna-technology.ru](mailto:hotline@dna-technology.ru)