



Регистрационное удостоверение
№ ФСР 2008/03891 от 27 сентября 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 типирования генов гистосовместимости человека (HLA) II класса методом амплификации ДНК HLA-ДНК-ТЕХ

Комплект реагентов для типирования гена DQB1

Каталожный номер: R1-H003-N3/5

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 DQB1 предназначен для одновременного определения 12 групп аллелей гена DQB1 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 DQB1.

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

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

Приборное обеспечение:

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

Время проведения анализа (без учёта пробоподготовки):

от 2,5 часов.

Количество определений:

24

Состав комплекта:

Реактив	Количество	
• Смесь для амплификации «DQB1-1»	480 мкл	1 пробирка
• Смесь для амплификации «DQB1-2»	480 мкл	1 пробирка
• Смесь для амплификации «DQB1-3»	480 мкл	1 пробирка
• Смесь для амплификации «DQB1-4»	480 мкл	1 пробирка
• Смесь для амплификации «DQB1-5»	480 мкл	1 пробирка
• Смесь для амплификации «DQB1-6»	480 мкл	1 пробирка
• Полимераза ТехноTaq MAX	72 мкл	1 пробирка
• ПЦР-буфер	1,44 мл	1 пробирка
• Минеральное масло	2,88 мл	1 пробирка
• Положительный контрольный образец «K+ DQ FAM»	100 мкл	1 пробирка
• Положительный контрольный образец «K+ DQ HEX»	100 мкл	1 пробирка

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/>

Изучите полную инструкцию № 206-6 от 05.10.17 перед началом работы

Каналы детекции продуктов амплификации

Название смеси для амплификации	Каналы детекции аллельных вариантов и внутреннего контроля				
	Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
DQB1-1	03	0401/0402	02	BK	-
DQB1-2	05	0601	0602-8	BK	-
DQB1-3	-	-	0302 или 0303	BK	-
DQB1-4	-	-	0301 или 0304	BK	-
DQB1-5	0305 или 0401/0402	-	-	BK	-
DQB1-6	0501	0503	0502/0504	BK	-

Проведение анализа

1 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

1.1 Промаркируйте по шесть пробирок 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 пять образцов. Нужно промаркировать 30 пробирок для исследуемых образцов и 18 пробирок для «К-», «К+ DQ FAM», «К+ DQ HEX». Общее количество пробирок – 48.

1.2 Встряхните пробирки со смесями для амплификации в течение 3–5 с и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вortexе.

1.3 Внесите в промаркированные пробирки по 20 мкл соответствующей смеси для амплификации (соответственно маркировке в пробирку 1 внесите смесь DQB1-1, в пробирку 2 – смесь DQB1-2 и т.д.).

1.4 Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и полимеразой ТехноТaq MAX в течение 3–5 с и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вortexе.

ВНИМАНИЕ! Полимеразу ТехноТaq MAX необходимо вынимать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

1.5 Приготовьте смесь ПЦР-буфера с полимеразой ТехноТaq MAX. Смешайте в отдельной пробирке:

- 10 x (N+1) мкл ПЦР-буфера;
 - 0,5 x (N+1) мкл полимеразы ТехноТaq MAX,
- где N – количество промаркированных пробирок с учетом «К-», «К+ DQ FAM», «К+ DQ HEX».

Например, необходимо проанализировать пять образцов, «К-», «К+ DQ FAM» и «К+ DQ HEX». Промаркированных пробирок – 48. Нужно приготовить смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq MAX для 49 (48+1) пробирок, т.е. 490 мкл ПЦР-буфера + 24,5 мкл полимеразы ТехноТaq MAX.

1.6 Встряхните пробирку со смесью ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq MAX в течение 3–5 с и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вortexе.

ВНИМАНИЕ! Смесью ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТaq MAX необходимо готовить непосредственно перед использованием.

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

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

1.8 Добавьте в каждую пробирку по одной 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 DQB1 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 (6 шт. для каждого образца). В пробирки «К-», «К+ DQ FAM», «К+ DQ HEX» ДНК не вносится.

Изучите полную инструкцию № 206-6 от 05.10.17 перед началом работы

- 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 «K+ DQ FAM» в 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 с.
- 1.12 Установите все пробирки в блок детектирующего амплификатора.
- 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 «DQB1», укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательных и положительных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой (1.12) и проведите ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Версия ini файла должна быть не ниже «HLA_20131111.ini», версия теста «DQB1» должна быть не ниже 1.8.

- 2 **Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводится автоматически программным обеспечением для амплификаторов детектирующих. Специфичности гена HLA DQB1 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, входящих 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 DQB1, следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, к.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, 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 № 206-6 от 05.10.17 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 № 206-6 от 05.10.17 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