



135-21 2025-01-22

Комплекты реагентов для ПЦР-амплификации ДНК с детекцией в режиме реального времени (формат «Real-time»)

Информация о комплектах реагентов

Назначение:

Комплекты реагентов предназначены для выявления ДНК микроорганизмов в биологическом материале человека методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Метод:

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

Выделение ДНК:

Рекомендуются комплекты реагентов для выделения НК ПРОБА-НК, ПРОБА-ГС, ПРОБА-РАПИД (ООО «ДНК-Технология ТС»). Для некоторых видов биоматериала требуется предварительная обработка (см. соответствующие инструкции к комплектам реагентов для выделения НК).

ВНИМАНИЕ! При выделении ДНК из биоптатов, мокроты, бронхоальвеолярного лаважа следует использовать только комплекты реагентов ПРОБА-НК и ПРОБА-ГС. Не рекомендуется использовать комплект реагентов ПРОБА-РАПИД при выделении ДНК из соскобов из урогенитального тракта у мужчин.

Особенности комплектов:

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

Специализированное оборудование:

Амплификаторы детектирующие «ДТпрайм»¹, «ДТлайт»² (ООО «НПО ДНК-Технология») или амплификаторы iCycler iQ и iQ5 (Bio-Rad Laboratories).

ВНИМАНИЕ! Возможность использования других амплификаторов необходимо уточнить у представителя компании «ДНК-Технология».

Время проведения анализа (без учёта пробоподготовки):

от 1,5 часов.

Количество определений:

48/96 (включая анализ неизвестных образцов, положительных контрольных образцов и отрицательных контрольных образцов).

Т а б л и ц а 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
Специфический продукт	BK	-	-	-

Состав комплектов реагентов:

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок		Номинальный объём компонента	
		на 48 определений	на 96 определений	на 48 определений	на 96 определений
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразным белым слоем	48 пробирок или 6 стрипов по 8 пробирок	96 пробирок или 12 стрипов по 8 пробирок	по 20 мкл	
Раствор Таq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	2 пробирки	по 500 мкл	
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	1 пробирка	2 пробирки	по 1,0 мл	
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка		75 мкл	150 мкл
Крышки для стрипов ³		6 шт.	12 шт.		

¹ - только модели 4M1; 4M3; 4M6; 5M1; 5M3; 5M6; 6M1; 6M3; 6M6

² - только модели 4S1; 4S2; 5S1; 5S2; 6S1; 6S2

³ - входят в состав набора реагентов при расфасовке смеси для амплификации в стрипы

Характеристики комплектов реагентов

REF	Выявляемый микроорганизм	№ РУ	Вид биологического материала
R1-P206-23/4 (пробирки) R1-P206-S3/4 (стрипы)	Вирус варицелла зостер (VZV)	РЗН 2013/1258	Соскобы из поражений кожи и слизистых
R1-P202-23/9 (пробирки) R1-P202-S3/9 (стрипы)	Вирус герпеса человека тип 6 (HNВ6)	ФСР 2010/06932	Лимфоциты периферической крови, ликвор, слюна, моча и др.
R1-P203-23/9 (пробирки) R1-P203-S3/9 (стрипы)	Вирус герпеса человека тип 8 (HNВ8)	ФСР 2010/06933	Лимфоциты периферической крови, эякулят, секрет предстательной железы, биоптаты и др.
R1-P205-23/9 (пробирки) R1-P205-S3/9 (стрипы)	Вирус Эпштейна-Барр (EBV)	ФСР 2010/06934	Слюна, моча, соскобы из уретры, цервикального канала, заднего свода влагалища, моноклеарная фракция клеток периферической крови
R1-P404-23/4 (пробирки) R1-P404-S3/4 (стрипы)	Микобактерия туберкулеза – микобактерия бовис комплекс (<i>M.tuberculosis</i> – <i>M. bovis</i>)	ФСР 2008/03849	Мокрота, бронхоальвеолярный лаваж, хирургический материал (содержимое туберкуломы)
R1-P001-23/9 (пробирки) R1-P001-S3/9 (стрипы)	Токсоплазма гондии (<i>Toxoplasma gondii</i>)	ФСР 2008/03944	Ликвор, биоптаты и др.

Проведение анализа

1 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

ВНИМАНИЕ!

1. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!

2. При использовании комплектов реагентов для выполнения в варианте исполнения «Фасовка S, стрипы», строго соблюдать completeness стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки из других комплектов реагентов.

- 1.1** Промаркируйте по одной пробирке/стрипованной пробирке со смесью для амплификации, запечатанной парафином для каждого неизвестного образца, для отрицательного контрольного образца (К-) и для положительного контрольного образца (К+).
- 1.2** Встряхните пробирку с раствором Таq-полимеразы на микроцентрифуге-вортке в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке в течение 1-3 с.
- 1.3** Добавьте в каждую пробирку, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Таq-полимеразы.
- 1.4** Добавьте в каждую пробирку по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Неплотно прикройте пробирку/стрипы крышками.
- 1.5** Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке в течение 1-3 с.

ВНИМАНИЕ!

1. Перед внесением в пробирки с реакционной смесью для препарата ДНК и отрицательного контрольного образца необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата ДНК, приведенные в инструкции по применению комплекта реагентов для выделения НК.

2. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-НК, ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-ГС (только в случае, если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки) встряхните пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке в течение 1-3 с.

3. Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. В случае использования стрипов следует закрывать крышку стрипа после внесения в него образцов перед началом работы со следующим. Закрывайте пробирку/стрипы плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

- 1.6** Внесите в соответствующие промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В пробирки «К-», «К+» ДНК не вносится.
- 1.7** Внесите в пробирку, промаркированную «К-», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего все этапы пробоподготовки. Внесите в пробирку, промаркированную «К+», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл положительного контрольного образца.
- 1.8** Центрифугируйте все пробирки/стрипы на микроцентрифуге-вортке в течение 1-3 с.
- 1.9** Установите все пробирки/стрипы в блок детектирующего амплификатора.

1.10 Для приборов «ДТлайт», «ДТпрайм»:
Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР добавьте файл с параметрами теста¹. Далее и при последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок/стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 2.

Т а б л и ц а 2 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80,0	0	30	1		Цикл
	94,0	1	30			
2	94,0	0	30	5		Цикл
	64,0	0	15		√	
3	94,0	0	10	45		Цикл
	64,0	0	15		√	
4	94,0	0	5	1		Цикл
5	10,0 ²	...	...	Хранение		Хранение

Для приборов iQ, iQ5:
Включите прибор и блок питания оптической части прибора, оставьте для прогрева на 30 минут. Запустите программное обеспечение iCycler (или Bio-Rad iQ5). При первой постановке создайте и сохраните новый протокол. При последующих постановках выберите сохраненный протокол, настройте конфигурацию плашки (файл с данными о характеристике образцов и их расположении в плашке) и проведите ПЦР с учётом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл (таблицы 3, 4).

Т а б л и ц а 3 – Режим амплификации для детектирующего амплификатора iCycler iQ5 (при использовании Persistent Well Factor)

Cycle	Repeats	Step	Dwell Time	Setpoint, °C	PCR/Melt Data Acquisition
1	1				
		1	1 min	80,0	
		2	1 min 30 sec	94,0	
2	5				
		1	30 sec	94,0	
		2	45 sec	64,0	
3	45				
		1	10 sec	94,0	
		2	45 sec	64,0	Real Time
4		...	...	10,0	storage

Т а б л и ц а 4 – Режим амплификации для детектирующего амплификатора iCycler iQ

Cycle	Repeats	Step	Dwell Time	Setpoint, °C	PCR/Melt Data Acquisition
Программа для считывания динамических факторов лунок dynamicwf.tmo					
1	1				
		1	1 min	80,0	
		2	1 min 30 sec	94,0	
2	5				
		1	30 sec	94,0	
		2	45 sec	64,0	
3	2				
		1	30 sec	80,0	Real Time
Программа амплификации					
4	45				
		1	10 sec	94,0	
		2	45 sec	64,0	Real Time
5		...	...	10,0	storage

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

¹ - инструкции по добавлению готовых файлов с параметрами теста находятся на сайте в разделе «Поддержка»
² - допускается хранение при температуре 25 °C

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Транспортирование комплектов реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри контейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав комплектов реагентов.

Допускается транспортирование в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри контейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

Компоненты комплектов реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности. Смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте в течение всего срока годности комплектов реагентов.

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

По вопросам, касающимся качества комплектов реагентов для ПЦР-амплификации ДНК с детекцией в режиме реального времени, следует обращаться в службу клиентской поддержки.

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

Символы, используемые при маркировке комплектов реагентов

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Номер по каталогу		Код партии (серии)
	Температурный диапазон		Дата изготовления		Нестерильно
	Использовать до		Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Не допускать воздействия солнечного света		Изготовитель		