



Регистрационное удостоверение
№ ФСР 2008/03891 от 10 мая 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 DRB1

Каталожный номер: R1-H001-S3/5 (24 определения)

Фасовка: S (стандартная)

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 DRB1 предназначен для одновременного определения 13 групп аллелей гена DRB1 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.

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:

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

Внутренний контрольный образец DRB1 (БК DRB1) в пробирках 1,3 – 8 стрипа А и пробирках 1 – 7 стрипа Б - позволяет программно обеспечению прибора произвести оценку результатов ПЦР в каждой пробирке;

Внутренний контрольный образец в пробирке 2 стрипа А (БК) – необходим для контроля внесения ДНК.

Внутренний контрольный образец в пробирке 8 стрипа Б (БК) - необходим для контроля прохождения полимеразной цепной реакции.

Контроль взятия материала (КВМ) – позволяет определить, достаточно ли полученного количества ДНК для анализа.

Маркер – используется прибором для определения положения стрипованных пробирок (стрипов) в палаше.

Приборное обеспечение:

Амплификаторы детектирующие ДТлайт¹, ДТпрайм² или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»); версия программного обеспечения не ниже 7.5.5.23, рекомендуемая версия 7.7.5.44³.

Время проведения анализа (без учета пробоподготовки):

от 2,5 часов.

Количество определений:

24

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

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

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

Состав комплекта:

| Реактив | Количество | |
|---|------------|-------------------------|
| • Смеси для амплификации, запечатанные парафином, стрип А | 20 мкл | 24 стрипа по 8 пробирок |
| • Смеси для амплификации, запечатанные парафином, стрип Б | 20 мкл | 24 стрипа по 8 пробирок |
| • Раствор Таq-полимеразы | 4,0 мл | 1 пробирка |
| • Минеральное масло | 8,0 мл | 1 флакон |
| • Положительный контрольный образец «К+» DRB1 | 160 мкл | 2 пробирки |
| Принадлежности: | | |
| • Крышки для стрипов | | 48 шт. |

Состав стрипов, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации

| № пробирки в стрипе | Каналы детекции продуктов амплификации | | | | | Цветовая маркировка смеси для амплификации | Цвет парафина |
|---------------------|--|---------|--------|-----|-------|--|---------------|
| | Fam | Hex | Rox | Cy5 | Cy5.5 | | |
| Стрип А | | | | | | | |
| 1 | 01 | BK DRB1 | - | - | - | Голубая | Белый |
| 2 | 03 | BK | - | - | - | | |
| 3 | 04 | BK DRB1 | - | - | - | Бесцветная | |
| 4 | 08 | | Маркер | - | - | | |
| 5 | 09 | | - | - | - | | |
| 6 | 11 | | - | - | - | | |
| 7 | 12 | | - | - | - | | |
| 8 | 13a | | - | - | - | | |
| Стрип Б | | | | | | | |
| 1 | 13b | BK DRB1 | - | - | - | Голубая | Голубой |
| 2 | 14-1 | | - | - | - | | |
| 3 | 14-2 | | - | - | - | Бесцветная | |
| 4 | 15 | | - | - | - | | |
| 5 | 16 | | - | - | - | | |
| 6 | 07 | | - | - | - | | |
| 7 | 10 | | - | - | - | | |
| 8 | KBM | BK | Маркер | - | - | | |

Проведение анализа

1 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

1.1 Промаркируйте по одному стрипу А и стрипу Б со смесями для амплификации для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца (К-), положительного контрольного образца (К+).

Например, необходимо проанализировать 4 образца. Нужно промаркировать четыре стрипа А и четыре стрипа Б для исследуемых образцов; один стрип А и один стрип Б для «К-»; один стрип А и один стрип Б для «К+». Общее количество стрипов – 12.

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

1.3 Добавьте в каждую пробирку стрипов, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Таq-полимеразы.

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

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

Внесите в каждую пробирку стрипов для исследуемых образцов, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК.

1.6 Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего все этапы пробоподготовки, в пробирки стрипов, маркированных «К-». Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл положительного контрольного образца во все пробирки стрипов, маркированных «К+».

1.7 Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге/вортексе в течение 1–3 сек.

1.8 Установите все пробирки в блок амплификатора детектирующего.

1.9 Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦП загрузите файл «HLA.ini». При последующих постановках добавьте в протокол тест «DRB1», укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и

Изучите полную инструкцию № 209-2 от 12.05.17 перед началом работы

положительного контрольного образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см.1.8) и проведите ПЦР.

Внимание! Версия ini файла должна быть не ниже «HLA__20131111.ini», версия теста «DRB1» должна быть не ниже 2.1.

- 2** **Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводится автоматически программным обеспечением для амплификаторов детектирующих. Специфичности гена HLA DRB1 для каждого образца вычисляются программным обеспечением автоматически с учетом результатов по каждой пробирке для этого образца. При этом у исследуемых образцов может определяться как одна специфичность, так и сочетания специфичностей.

Внимание!

1. В случае получения гомозиготного генотипа, для достоверности рекомендуется повторить исследование из того же препарата ДНК.
2. Ср для KBM должен быть $\leq 32,0$. В случае если Ср KBM более 32,0, недостоверные или сомнительные результаты генотипирования трактуются оператором как недостаточное для анализа количество ДНК.

Если у исследуемого образца определяются специфичности в пробирке 2 стрипа А (*03) и в пробирке 3 стрипа Б (*14-2), а Ср KBM ≤ 29 , то будет получен сомнительный результат генотипирования. В этом случае образец необходимо развести в 10 раз и повторно провести ПЦР для этого образца. Для разведения можно использовать элюирующий буфер из комплекта реагентов для выделения ДНК (при использовании для выделения ДНК комплекта ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА допускается разведение образца отрицательным контрольным образцом, прошедшим пробоподготовку).

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Комплект реагентов 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 при температуре от 2 °С до 8 °С в холодильных камерах или в холодильниках 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 DRB1, 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, 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 № 209-2 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.

Изучите полную инструкцию № 209-2 от 12.05.17 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