

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения делеций AZF
локуса методом ПЦР в режиме реального времени

Генетика наследственных заболеваний.
Делеции локуса AZF

Форма комплектации:

Генетика наследственных заболеваний. Делеции локуса AZF

Регистрационное удостоверение
№РЗН 2014/2078

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения делеций AZF локуса методом ПЦР в режиме реального времени

Генетика наследственных заболеваний. Делеции локуса AZF

1 НАЗНАЧЕНИЕ

- 1.1** Набор реагентов «Генетика наследственных заболеваний. Делеции локуса AZF» предназначен для определения делеций локуса AZF методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.
- 1.2** Набор может быть использован в клинично-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1 Принцип действия

Принцип метода ПЦР основан на использовании процесса амплификации ДНК, заключающегося в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который обеспечивается методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в реакционную смесь происходит только после плавления парафина, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

В реакционную смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых несёт флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфического продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции. Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) увеличивается пропорционально

количеству образовавшихся специфических ампликонов и измеряется на каждом цикле амплификации.

Исследование состоит из следующих этапов: выделение ДНК (пробоподготовка) и ПЦР-амплификация ДНК в режиме реального времени с использованием набора реагентов «Генетика наследственных заболеваний. Делеции локуса AZF».

Набор реагентов «Генетика наследственных заболеваний. Делеции локуса AZF» включает: смеси для амплификации, специфичные для маркеров Y-хромосомы, делеции которых являются причиной азооспермии или олигозооспермии (sY84, sY86, sY127, sY134, sY142, sY242, sY254, sY255, sY615, sY1125, sY1197, sY1206 и sY1291); смесь для амплификации ДНК гена половой принадлежности (SRY) и смесь для амплификации геномной ДНК человека, предназначенную для контроля взятия клинического материала (КВМ). КВМ используется для исключения ошибок преаналитического этапа. В случае недостаточного для анализа количества забранного материала требуется повторное взятие клинического материала.

В состав ДНК-зондов, используемых для детекции продуктов амплификации искомой ДНК, включены флуоресцентные метки Fam и Hex. В состав ДНК-зондов, используемых для детекции продуктов амплификации гена половой принадлежности (SRY), входит флуоресцентный краситель Fam, для контроля взятия материала – Hex (таблица 1).

Использование нескольких флуоресцентных красителей позволяет сократить количество пробирок, поскольку появляется возможность одновременно регистрировать результаты разных реакций амплификации, проходящих в одной пробирке.

В одну из пробирок (таблица 1) добавлен олигонуклеотид с флуоресцентной меткой Rox – «Маркер». Он используется прибором как маркер определения положения стрипованных пробирок (стрипов) в плашке. После прохождения амплификации программа сравнивает заданное оператором расположение пробирок с реальным положением маркера, и, если находит несовпадение, то предупреждает оператора об этом. Оператору следует либо расположить данные из каждой отдельной пробирки в соответствующем порядке вручную, либо повторить

исследование данного образца, правильно расположив пробирки в термоблоке.

Набор выпускается в следующих формах комплектации:

«Генетика наследственных заболеваний. Делеции локуса AZF» - предназначен для выявления микроделеций Y-хромосомы, ассоциированных с азооспермией, ДНК гена половой принадлежности (SRY) и геномной ДНК человека (в качестве контроля взятия биологического материала).

Таблица 1

Состав стрипов, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации

№ пробирки	Канал детекции			Цветовая маркировка буфера	Цвет парафина
	Fam	Hex	Rox		
1	sY134	sY242	-	Бесцветный	Белый
2	sY142	sY255	-		
3	sY615	sY254	-		
4	sY1125	sY84	-		
5	sY1197	sY86	Маркер		
6	sY1206	sY127	-		
7	sY1291	-	-		
8	SRY	KBM	-		

2.2 Набор рассчитан на проведение 24 определений, включая анализ неизвестных образцов, положительного контрольного образца и отрицательного контрольного образца.

2.3 Состав набора

Набор реагентов для определения делеций AZF локуса методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени «Генетика наследственных заболеваний. Делеции локуса AZF» включает:

- смесь для амплификации, запечатанную парафином – 24 стрипа по 8 пробирок (по 20 мкл в каждой);
- раствор Taq-полимеразы – 4 пробирки (по 480 мкл в каждой);
- минеральное масло – 4 пробирки (по 960 мкл в каждой);
- положительный контрольный образец («К+») – 1 пробирка (150 мкл).

2.4 Время проведения анализа – от 2,5 часов (с учётом пробоподготовки).

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

3.1 Специфичность

Список выявляемых набором маркеров представлен в таблице 1.

Для образцов биологического материала, содержащих выявляемые Y-специфичные маркеры, во время проведения амплификации амплификатор должен регистрировать экспоненциальный рост уровня флуоресценции в соответствующей пробирке по соответствующим каналам детекции.

Для образцов биологического материала, не содержащих выявляемые Y-специфичные маркеры, при проведении амплификации экспоненциальный рост уровня флуоресценции в соответствующей пробирке по соответствующим каналам детекции отсутствует.

3.2 Определение пола

Для образцов биологического материала, принадлежащих мужчине, амплификатор должен регистрировать экспоненциальный рост уровня флуоресценции в соответствующей пробирке (SRY).

Для образцов биологического материала, принадлежащих женщине, при проведении амплификации

экспоненциальный рост уровня флуоресценции в соответствующей пробирке (SRY) отсутствует.

3.3 Контроль взятия материала

Для образцов биологического материала, в которых присутствует геномная ДНК человека, детектирующий амплификатор должен регистрировать экспоненциальный рост уровня флуоресценции в соответствующей пробирке.

Для образцов биологического материала, в которых отсутствует геномная ДНК человека, при проведении амплификации экспоненциальный рост уровня флуоресценции в соответствующей пробирке отсутствует.

3.4 Чувствительность

Количество анализируемой ДНК должно быть не менее 1,0 нг на амплификационную пробирку. При использовании меньшего количества ДНК возможно получение недостоверного результата.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать Методическим указаниям МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для проведения исследования с использованием набора реагентов «Генетика наследственных заболеваний. Делеции локуса AZF» требуются следующие оборудование и материалы:

- амплификаторы детектирующие ДТлайт¹, ДТпрайм², ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»);
- микроцентрифуга/вортекс;
- холодильник бытовой;
- вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette с ЭДТА или цитратом натрия;

¹ – только модели 4S1, 4S2, 5S1, 5S2, 6S1, 6S2

² – только модели 4M1, 4M3, 4M6, 5M1, 5M3, 5M6, 6M1, 6M3, 6M6

- штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным объёмом, позволяющие отбирать объёмы жидкости 2–20 мкл, 20–200 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 20 мкл, 200 мкл;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- транспортная среда для биопроб (производство ООО «НПО ДНК-Технология»)
- комплект для выделения ДНК из биологического материала (рекомендуется ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА или ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА производства ООО «НПО ДНК-Технология»).

Программное обеспечение для детектирующих амплификаторов:

- версия ПО не ниже 7.3.4.0, рекомендуемая версия 7.6.5.12³;
- файл с параметрами анализа «AZF.ini».

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для исследования используют цельную периферическую кровь человека.

Взятие, предобработку и хранение материала проводят в соответствии с инструкцией к комплекту реагентов для выделения ДНК из биологического материала.

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/>

6.1 Взятие цельной периферической крови

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объемом 2,0 или 4,0 мл с добавленной в качестве антикоагулянта динатриевой солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия. Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо перевернуть пробирку 2–3 раза.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

6.2 Транспортировка и хранение исследуемого материала

Допускается хранение образцов при температуре от 2°C до 8 °C не более 24 часов. В случае невозможности доставки материала в лабораторию в течение суток допускается однократное замораживание материала. Допускается хранение замороженного материала при температуре минус 20 °C в течение 1 месяца.

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Выделение ДНК из биологического материала

Выделение ДНК проводят в соответствии с инструкцией к используемому комплекту реагентов. Рекомендуемые комплекты для выделения ДНК из биологического материала: ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА или ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА.

Комплект ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА рекомендуется использовать в случае, если предполагается длительное хранение выделенной ДНК (до 6 месяцев). ДНК, полученную с использованием комплекта ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА, следует хранить не более 1 месяца.

О возможности использования других комплектов реагентов для выделения ДНК из биологического материала совместно с набором реагентов для определения делеций AZF локуса методом ПЦР в режиме реального времени можно узнать у представителя компании «ДНК-Технология».

Независимо от используемого комплекта для выделения ДНК одновременно с выделением ДНК из периферической крови необходимо провести через все этапы пробоподготовки отрицательный контрольный образец (в

его качестве можно использовать физиологический раствор в объеме согласно инструкции к комплекту реагентов для выделения ДНК).

7.2 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

7.2.1 Промаркируйте по одному стрипу с запечатанной парафином смесью для амплификации для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца («К-») и положительного контрольного образца («К+»).

ПРИМЕЧАНИЕ. Один стрип рассчитан на исследование одного образца.

Например, необходимо проанализировать два образца. Нужно промаркировать два стрипа для исследуемых образцов, один для «К-» и один для «К+». Общее количество стрипов — четыре (таблица 2).

Таблица 2

Пример маркировки стрипов для проведения ПЦР

Образец 1	Пробирки 1 – 8
Образец 2	Пробирки 1 – 8
«К-»	Пробирки 1 – 8
«К+»	Пробирки 1 – 8

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

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

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

7.2.5 Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышку только того стрипа, в который будет вноситься данный образец, и закрывать её 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 (один стрип для каждого образца).

- 7.2.6 Внесите в каждую пробирку стрипа, маркированного «K-», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК (см. 6). Внесите в каждую пробирку стрипа, маркированного «K+», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл положительного контрольного образца.
- 7.2.7 Центрифугируйте стрипы на микроцентрифуге/вортексе в течение 1–3 сек.
- 7.2.8 Установите все стрипы в детектирующий амплификатор. Рекомендуется располагать пробирки по центру термоблока.
- 7.2.9 Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите файл «AZF.ini» (7.3). Далее и при последующих постановках добавьте в протокол тест «AZF» (7.4), укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (7.4.6) и проведите ПЦР.

При выборе теста «AZF» в окне «Запуск программы амплификации» должна отображаться программа, приведённая в таблице 3.

Таблица 3

Программа амплификации

№ блока	Температура, °C	мин	сек	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	Хранение		Хранение

ВНИМАНИЕ! При использовании других амплификаторов необходимо уточнить программу амплификации у представителя компании «ДНК-Технология».

7.3 Загрузка теста «AZF» для амплификаторов детектирующих при первой постановке на данном компьютере.

Версия ПО не ниже 7.3.4.0, рекомендуемая версия 7.6.5.12⁴.

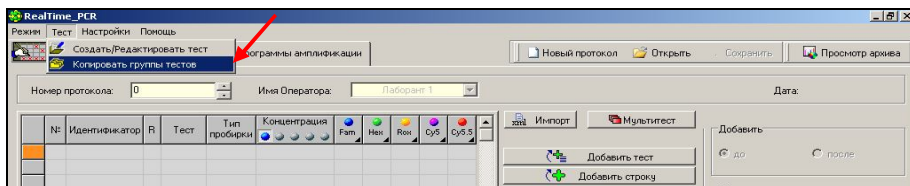
ПРИМЕЧАНИЕ. Для иллюстраций в настоящей инструкции использованы скриншоты версий 7.3.4.0, 7.3.5.25

Тест «AZF»(файл AZF.ini) для приборов ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96 предоставляется производителем набора. Его установку в программу RealTime_PCR необходимо производить в режиме «Работа с прибором» в следующем порядке:

7.3.1 Откройте программное обеспечение RealTime_PCR, выберите оператора, который будет работать с набором «Генетика наследственных заболеваний. Делеции локуса AZF», выберите режим «Работа с прибором».

При добавлении нового оператора необходимо создать или выбрать рабочую директорию для сохранения файла с результатами.

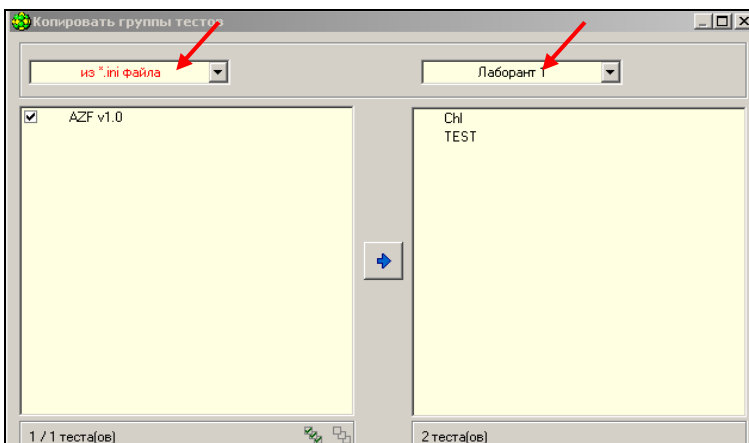
7.3.2 В меню «Тест» выберите закладку «Копировать группы тестов».




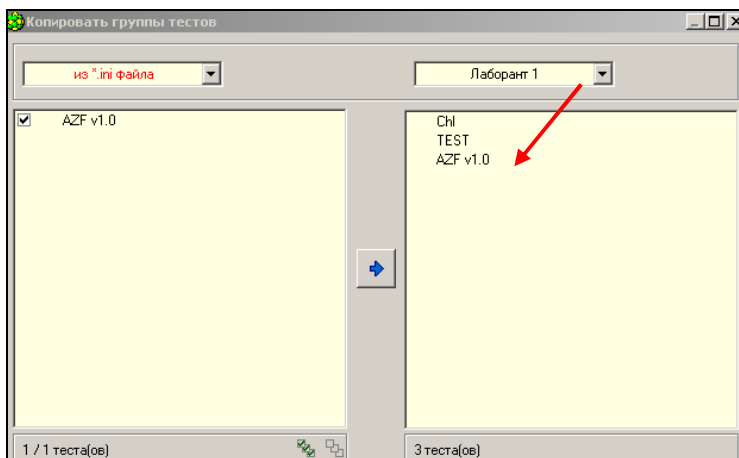
7.3.3 В левой половине окна «Копировать группы тестов» выберите строку «из *.ini файла», откройте ini файл «AZF».

7.3.4 В правой половине окна «Копировать группы тестов» выберите оператора, в директорию которого необходимо скопировать тест «AZF».

⁴ – 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/>



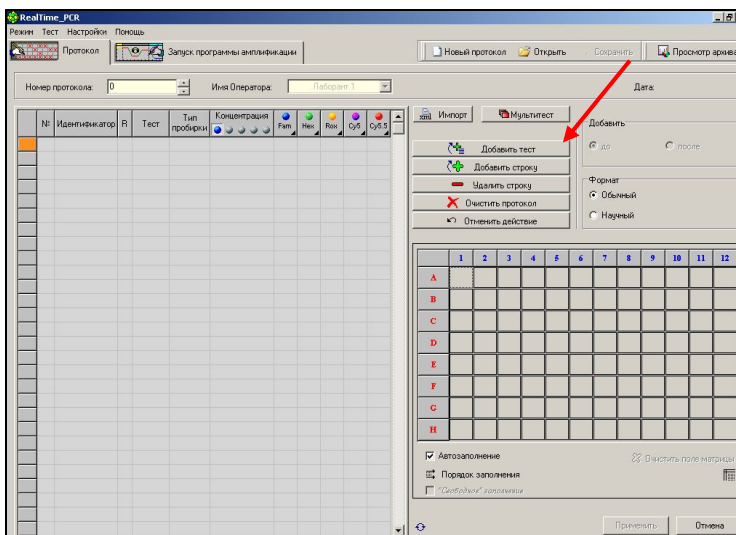
- 7.3.5 Выберите тест для копирования. Нажмите кнопку , после чего выбранный тест появится в правой половине окна.



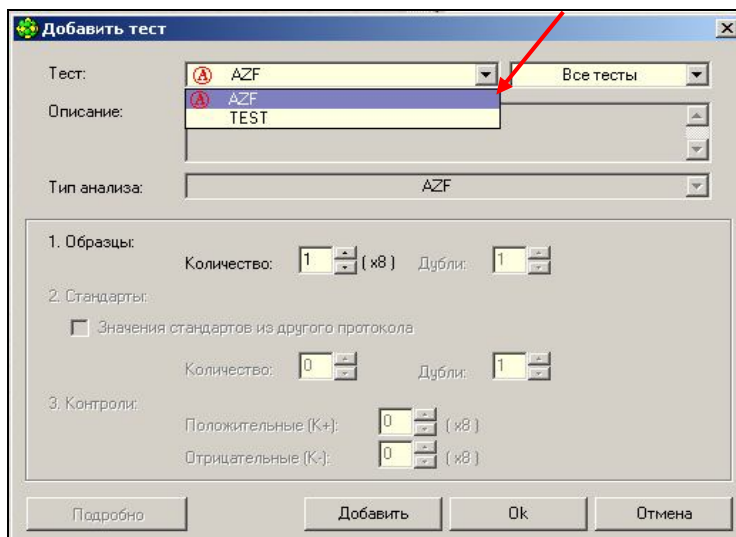
Теперь с тестом «AZF» может работать оператор, для которого был скопирован тест.

7.4 Ежедневная работа с тестом «AZF».

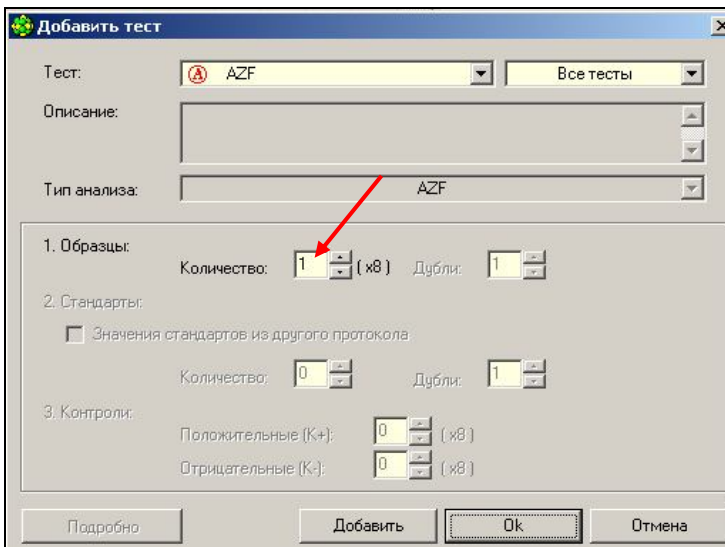
- 7.4.1 Откройте программное обеспечение RealTime_PCR, выберите оператора, для которого копировали тест (см. 7.3.4), выберите режим «Работа с прибором».
- 7.4.2 Нажмите кнопку «Добавить тест».



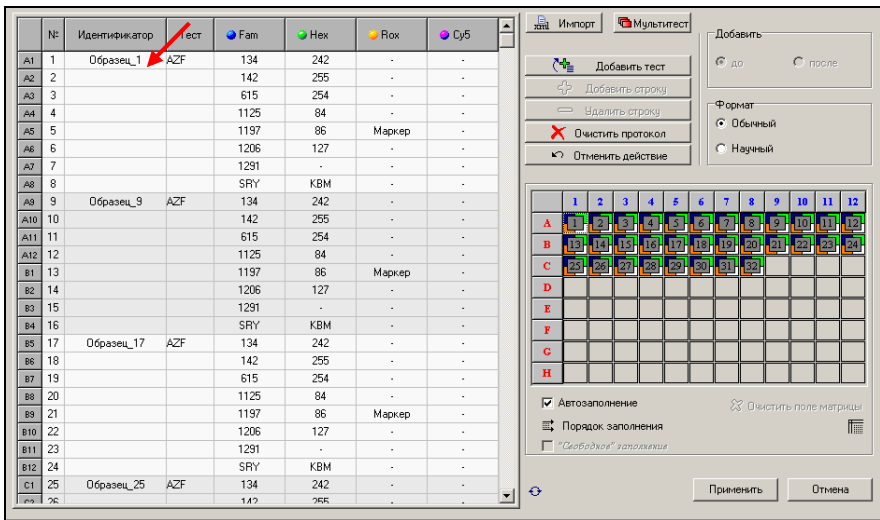
7.4.3 Выберите из списка тест «AZF».



7.4.4 Укажите количество исследуемых образцов (отрицательные и положительные контрольные образцы следует указывать как образцы), нажмите кнопку «Ок».

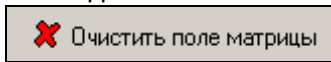


7.4.5 Укажите идентификаторы пробирок.



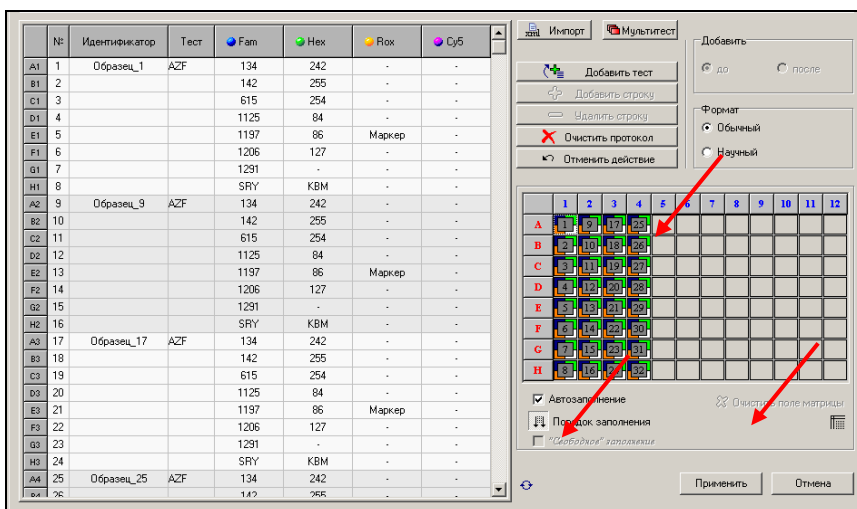
7.4.6 Отметьте расположение стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (при необходимости нажмите

кнопки «Очистить поле матрицы» -



и «Порядок заполнения» -

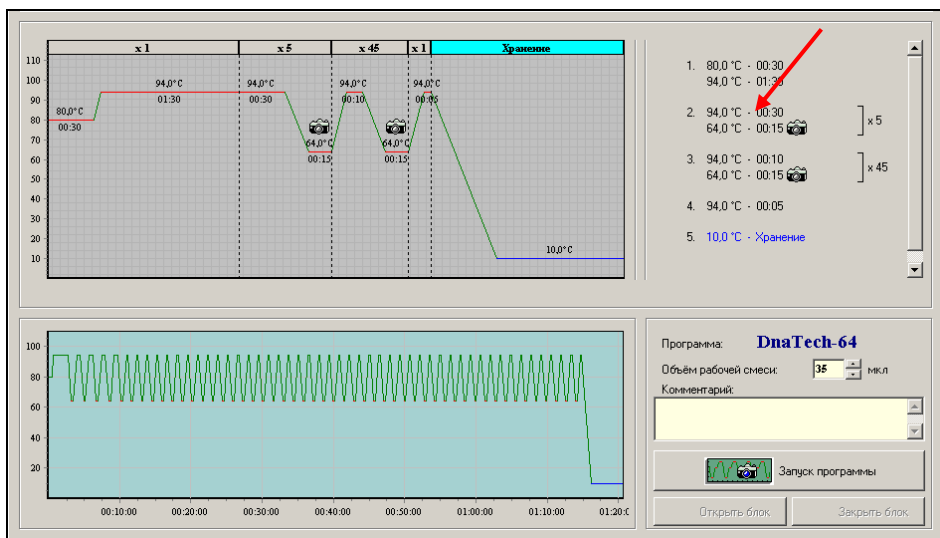




Если термоблок не заполнен полностью, рекомендуется устанавливать пробирки по центру термоблока.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C			1	2	3	4	5	6	7	8		
D			9	10	11	12	13	14	15	16		
E			17	18	19	20	21	22	23	24		
F			25	26	27	28	29	30	31	32		
G												
H												

7.4.7 Нажмите кнопку «Применить» в правом нижнем углу окна «Протокол». В окне «Запуск программы амплификации» будет отображена необходимая программа амплификации.



7.4.8 Нажмите кнопку «Запуск программы» в правом нижнем углу окна.

7.4.9 Укажите имя файла и директорию на компьютере для сохранения файла с результатами (по умолчанию будет предложено сохранить файл в рабочую директорию выбранного оператора, см. 7.3.1).

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации.




Детекция и учёт результатов осуществляются детектирующим амплификатором автоматически.

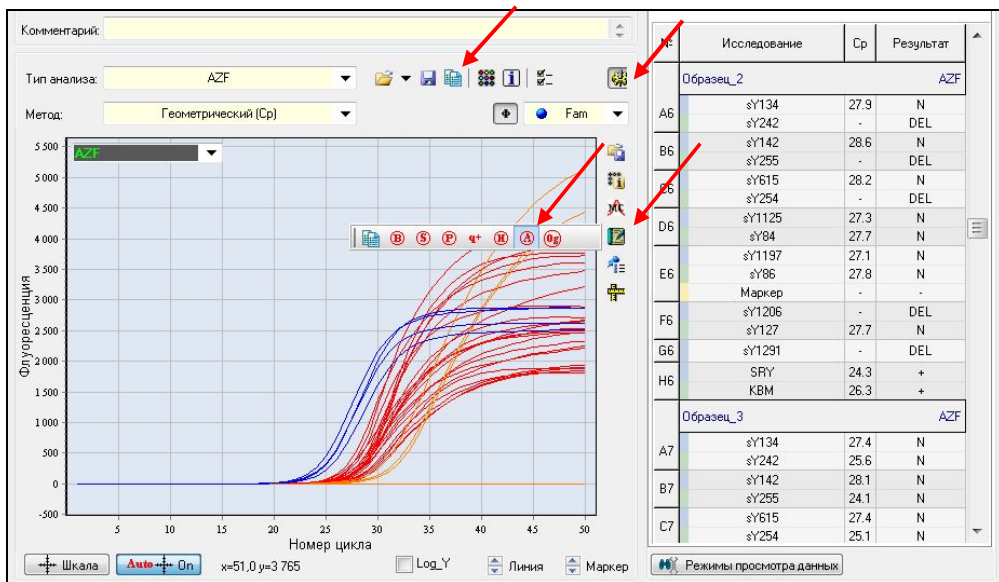
После окончания программы амплификации на экране появится соответствующее информационное сообщение и будет предложено перейти к анализу результатов (п. 4.6 части 1 («Работа с прибором») Руководства по эксплуатации для амплификаторов детектирующих). Анализ проводится программным обеспечением.

На графике будет отображена зависимость флуоресценции от номера цикла для каждой пробирки в термоблоке. В таблице справа будет показан идентификатор образца, название исследования, индикаторный цикл (Cp), результат по каждому исследованию (качественный анализ).

По результатам анализа можно сформировать и распечатать отчёт.

Для создания специализированного отчёта следует открыть

инструментальную панель (кнопка ), выбрать «Отчёты» (кнопка ) , выбрать «Специализированный отчёт по AZF» (кнопка ).



**Определение делеций AZF локуса методом ПЦР в режиме реального времени.
Генетика наследственных заболеваний.**

Дата 26 Июль 2013, 12:49:00
 Номер пробирки ...
 Ф.И.О. пациента ...
 Возраст ...
 Организация ...
 Врач ...
 Примечание ...



Информация о лаборатории

Идентификатор образца: Образец_2

№	Название маркера	Локус	Результат
1	sY86	AZFa	■ Норма
2	sY84	AZFa	■ Норма
3	sY615	AZFa	■ Норма
4	sY127	AZFb	■ Норма
5	sY134	AZFb	■ Норма
6	sY142	AZFb	■ Норма
7	sY1197	AZFb	■ Норма
8	sY254	AZFb, AZFc	■ Делеция
9	sY255	AZFb, AZFc	■ Делеция
10	sY1291	AZFb, AZFc	■ Делеция
11	sY1125	AZFb, AZFc	■ Норма
12	sY1206	AZFb, AZFc	■ Делеция
13	sY242	AZFc	■ Делеция

Заключение:

Исследование выполнил

Дата
Подпись

9 УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

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

9.2 После прохождения амплификации программное обеспечение сравнивает заданное оператором расположение пробирок с реальным положением маркера (флуоресцентной метки Rox), и, если находит несовпадение, то предупреждает оператора об этом. Оператору следует либо расположить данные из каждой отдельной пробирки в соответствующем порядке вручную, либо повторить исследование данного образца, правильно расположив пробирки в термоблоке.

9.3 В результатах анализа необходимо учитывать значения контроля взятия материала (КВМ). Значение КВМ по Ср больше 32,0 следует интерпретировать как недостаточное количество материала (см.3.2). В этом случае требуется повторное взятие клинического материала.

Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 4.

9.4 Для отрицательного и положительного контрольных образцов должны быть получены следующие результаты:

	Исследование	Ср	Результат
«К-»	sY134 - sY1291	Ср не указан	«Делеция»
	SRY		
	КВМ		
«К+»	sY134 - sY1291	Ср указан	«Норма»
	SRY		
	КВМ		

9.5 При получении положительных значений для отрицательного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

9.6 При получении отрицательных значений для положительного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

ВНИМАНИЕ! При получении сомнительного результата требуется повторное проведение амплификации для этого образца, при получении такого же результата снова - повторное взятие клинического материала у пациента.

Интерпретация результатов ПЦР

Результат (Ср)	Результат (Качественный)	Интерпретация результата
Выявление микроделеций sY134 - sY1291		
Ср ≤ 37,0	«N»	Отсутствие делеции
Ср > 37,0	«нд»	Сомнительный результат
Ср не указан	«Del»	Наличие делеции
Определение пола (SRY)		
Ср ≤ 37,0	«+»	Обнаружен ген половой принадлежности SRY
Ср > 37,0	«нд»	Сомнительный результат
Ср не указан	«-»	Не обнаружен ген половой принадлежности SRY

N — норма, Del — делеция

10 УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

- 10.1** Срок годности набора – 12 месяцев с даты изготовления.
- 10.2** Все компоненты набора реагентов следует хранить при температуре от 2°C до 8 °C в течение всего срока годности набора.
- 10.3** Транспортировку набора осуществляют всеми видами крытого транспорта при температуре от 2°C до 8 °C в течение всего срока годности набора.
- 10.4** Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.
- 10.5** Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.
- 10.6** Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении

условий транспортировки, хранения и эксплуатации,
установленных техническими условиями.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов для определения делеций AZF локуса методом ПЦР в режиме реального времени (Генетика наследственных заболеваний. Делеции локуса AZF), следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, корп.6, тел./факс +7 (495) 980-45-55, www.dna-technology.ru.

Служба клиентской поддержки: 8 800 200-75-15 (звонок по России бесплатный),

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

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

http://www.dna-technology.ru/customer_support/.

ДНК-Технология
117587, Москва, Варшавское ш., д.125ж, корп.6
Тел./факс +7 (495) 980-45-55
Служба клиентской поддержки:
8 (800) 200-75-15 (звонок по России бесплатный)
E-mail: hotline@dna-technology.ru