



Регистрационное удостоверение
№ ФСР 2010/08413 от 26 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



191-7 07.08.2017

Набор реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями обмена веществ, методом полимеразной цепной реакции

Генетика Метаболизма

Формы комплектации:

Генетика Метаболизма Фолатов

Генетика Метаболизма Лактозы

Генетика Метаболизма Кальция

Информация о наборе

Назначение:

Набор реагентов Генетика Метаболизма предназначен для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями обмена веществ, что позволяет оценить степень генетической предрасположенности к развитию заболеваний, связанных с метаболическими расстройствами.

Набор выпускается в следующих формах комплектации:

- Комплект реагентов Генетика Метаболизма Фолатов, предназначенный для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями фолатного цикла;
- Комплект реагентов Генетика Метаболизма Лактозы, предназначенный для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями обмена лактозы;
- Комплект реагентов Генетика Метаболизма Кальция, предназначенный для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями обмена кальция, методом ПЦР в режиме реального времени.

Метод:

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

Материал для исследования:

Периферическая кровь.

Выделение ДНК:

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

Особенности набора:

Одновременная детекция – в одной пробирке определяются два аллельных варианта генетического полиморфизма.

Внутренний контроль (ВК) – позволяет оценить количество ДНК в амплификационной пробирке и исключить ошибки генотипирования.

Приборное обеспечение:

Амплификаторы детектирующие ДТлайт¹, ДТпрайм² или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»); версия программного обеспечения не ниже 7.3.5.57³.

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

Время проведения анализа (без учёта пробоподготовки):

от 2 часов.

Количество определений:

48

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/>

Состав набора

| Реактив | Количество | |
|--|------------|------------|
| Комплект Генетика Метаболизма Фолатов | | |
| Каталожный номер: R1-H908-N3/4 | | |
| • Смеси для амплификации: | | |
| 1. MTHFR: 677 C>T (Ala222Val) | 960 мкл | 1 пробирка |
| 2. MTHFR: 1298 A>C (Glu429Ala) | 960 мкл | 1 пробирка |
| 3. MTR: 2756 A>G (Asp919Gly) | 960 мкл | 1 пробирка |
| 4. MTRR: 66 A>G (Ile22Met) | 960 мкл | 1 пробирка |
| • ПЦР-буфер | 960 мкл | 2 пробирки |
| • Taq-AT-полимераза | 96 мкл | 1 пробирка |
| • Минеральное масло | 3,84 мл | 1 флакон |
| Комплект Генетика Метаболизма Лактозы | | |
| Каталожный номер: R1-H941-N3/4 | | |
| • Смеси для амплификации: | | |
| 1. MCM6: -13910 T>C | 960 мкл | 1 пробирка |
| • ПЦР-буфер | 480 мкл | 1 пробирка |
| • Taq-AT-полимераза | 24 мкл | 1 пробирка |
| • Минеральное масло | 960 мкл | 1 пробирка |
| Комплект Генетика Метаболизма Кальция | | |
| Каталожный номер: R1-H913-N3/4 | | |
| • Смеси для амплификации: | | |
| 1. VDR: 283 A>G (BsmI) | 960 мкл | 1 пробирка |
| • ПЦР-буфер | 480 мкл | 1 пробирка |
| • Taq-AT-полимераза | 24 мкл | 1 пробирка |
| • Минеральное масло | 960 мкл | 1 пробирка |

Каналы детекции аллельных вариантов и внутреннего контроля

| Название смеси для амплификации | Fam | Hex | Rox | Cy5 | Cy5.5 |
|--|-----|-----|-----|-----|-------|
| Комплект Генетика Метаболизма Фолатов | | | | | |
| MTHFR: 677 C>T (Ala222Val) | C | T | - | BK | - |
| MTHFR: 1298 A>C (Glu429Ala) | A | C | - | BK | - |
| MTR: 2756 A>G (Asp919Gly) | A | G | - | BK | - |
| MTRR: 66 A>G (Ile22Met) | A | G | - | BK | - |
| Комплект Генетика Метаболизма Лактозы | | | | | |
| MCM6: -13910 T>C | C | T | - | BK | - |
| Комплект Генетика Метаболизма Кальция | | | | | |
| VDR: 283 A>G (BsmI) | G | A | - | BK | - |

Проведение анализа

1 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

ВНИМАНИЕ! Количество анализируемой ДНК должно быть не менее 1,0 нг на амплификационную пробирку, что соответствует $Cp \leq 32,0$ на канале детекции BK (Cy5). При использовании меньшего количества ДНК ($Cp > 32,0$) производитель не гарантирует корректную работу набора.

- 1.1 Промаркируйте для каждого определяемого полиморфизма необходимое количество пробирок для амплификации объемом 0,2 мл (по одной для каждого исследуемого образца и отрицательного контрольного образца «К-») (таблица 1).
- 1.2 Встряхните пробирки со смесью для амплификации в течение 3–5 с и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вortexсе.
- 1.3 Внесите в промаркированные пробирки по 20 мкл соответствующей смеси для амплификации (для каждого полиморфизма отдельным наконечником).
- 1.4 Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и Taq-AT-полимеразой в течение 3–5 с и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вortexсе.

ВНИМАНИЕ! Taq-AT-полимеразу необходимо вынимать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

- 1.5 Приготовьте смесь ПЦР-буфера с Taq-AT-полимеразой. Смешайте в отдельной пробирке:
 - 10 × (N+1) мкл ПЦР-буфера;

Изучите полную инструкцию № 143-12 от 07.02.17 перед началом работы

- $0,5 \times (N+1)$ мкл Taq-AT-полимеразы, где N – количество промаркированных пробирок с учётом «К-» (таблица 1).

Таблица 1 - Пример маркировки пробирок и приготовления смеси ПЦР-буфера с Taq-AT-полимеразой для исследования 5 образцов

| Название комплекта | Количество промаркированных пробирок | Количество ПЦР-буфера и Taq-AT-полимеразы |
|------------------------------|---|---|
| Генетика Метаболизма Фолатов | 4 полиморфизма, 20 пробирок для исследуемых образцов и 4 пробирки для «К-», всего 24 пробирки. | Промаркированных пробирок – 24. Смесь ПЦР-буфера и Taq-AT-полимеразы для 25 (24+1) пробирок, т.е. 250 мкл ПЦР-буфера + 12,5 мкл Taq-AT-полимеразы. |
| Генетика Метаболизма Лактозы | один полиморфизм, 5 пробирок для исследуемых образцов и одна пробирка для «К-», всего 6 пробирок. | Промаркированных пробирок – 6. Смесь ПЦР-буфера и Taq-AT-полимеразы для 7 (6+1) пробирок, т.е. 70 мкл ПЦР-буфера + 3,5 мкл Taq-AT-полимеразы. |
| Генетика Метаболизма Кальция | | |

- 1.6 Встряхните пробирку в течение 3–5 с и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.
ВНИМАНИЕ! Смесь ПЦР-буфера с Taq-AT-полимеразой необходимо готовить непосредственно перед использованием.
- 1.7 Добавьте в каждую пробирку со смесью для амплификации по 10 мкл смеси ПЦР-буфера с Taq-AT-полимеразой.
ВНИМАНИЕ! После добавления смеси ПЦР-буфера с Taq-AT-полимеразой в пробирки со смесями для амплификации необходимо в течение двух часов выполнить пп. 1.8 – 1.13.
- 1.8 Добавьте в каждую пробирку по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки пробирок.
- 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.
- 1.10 Внесите по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК в соответствующие пробирки для исследуемых образцов. В пробирки, маркированные «К-», ДНК не вносится.
- 1.11 Внесите по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК, в пробирки, маркированные «К-».
- 1.12 Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 1.13 Установите все пробирки в блок детектирующего амплификатора.
- 1.14 Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите ini файл с соответствующим названием (Folates.ini, Lactose.ini, Calcium.ini). Далее и при последующих постановках добавьте в протокол соответствующие тесты или используйте многотестовый режим, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 1.13) и проведите ПЦР.

Примечание – Тип пробирки для отрицательных контрольных образцов следует указывать как «Образец».

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

В образцах, прошедших ПЦР и содержащих достаточное для корректного анализа количество ДНК, программа определяет генотип исследуемого образца. Для образцов с недостаточным для анализа количеством ДНК (менее 1,0 нг на пробирку, $Cp > 32,0$ на канале детекции ВК) программа определяет недостоверный результат (нд).

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Набор реагентов, за исключением Taq-AT-полимеразы, следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в холодильных камерах или в холодильниках в течение всего срока годности набора.

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 набора.

Taq-AT-полимеразу следует хранить при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в морозильных камерах в течение всего срока годности набора.

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

Срок годности набора – 6 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

Изучите полную инструкцию № 143-12 от 07.02.17 перед началом работы

По вопросам, касающимся качества набора реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями обмена веществ, методом полимеразной цепной реакции (Генетика Метаболизма), 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/

Приложение А (справочное)

Таблица А1 - Генотипы и температуры плавления аллельных вариантов (только для приборов ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96)

| Полиморфизм | Гомозигота Fam/Fam | | | Гомозигота Hex/Hex | | | Гетерозигота | | |
|--|--------------------|---------|---------|--------------------|---------|---------|--------------|---------|---------|
| | Генотип | Fam, °C | Hex, °C | Генотип | Fam, °C | Hex, °C | Генотип | Fam, °C | Hex, °C |
| Комплект Генетика Метаболизма Фолатов | | | | | | | | | |
| MTHFR: 677 C>T (Ala222Val) | CC | 56,3 | 46,0 | TT | 47,0 | 54,4 | CT | 54,8 | 54,3 |
| MTHFR: 1298 A>C (Glu429Ala) | AA | 55,9 | 48,5 | CC | 45,5 | 57,8 | AC | 55,2 | 56,7 |
| MTR: 2756 A>G (Asp919Gly) | AA | 54,1 | 46,3 | GG | 46,0 | 53,0 | AG | 54,1 | 52,2 |
| MTRR: 66 A>G (Ile22Met) | AA | 51,8 | 41,0 | GG | 47,2 | 52,8 | AG | 51,9 | 52,2 |
| Комплект Генетика Метаболизма Лактозы | | | | | | | | | |
| MCM6: -13910 T>C | CC | 56,7 | 47,0 | TT | 48,6 | 56,7 | CT | 56,4 | 55,6 |
| Комплект Генетика Метаболизма Кальция | | | | | | | | | |
| VDR: 283 A>G (BsmI) | GG | 53,5 | 41,8 | AA | 46,2 | 51,4 | AG | 53,3 | 51,1 |