

**Комплект реагентов для ПЦР-амплификации ДНК
вирусов папилломы человека (HPV)
высокого онкогенного риска**

(формат «Real-time»)

Инструкция распространяется на следующие комплекты для ПЦР-амплификации:

- Вирус папилломы человека типы 16, 31, 35 (HPV 16, 31, 35);
- Вирус папилломы человека типы 33, 52, 58 (HPV 33, 52, 58);
- Вирус папилломы человека типы 18, 39, 45, 59 (HPV 18, 39, 45, 59).

Состав (на 96 определений)

Реактив	Количество
• Смесь для амплификации, запечатанная парафином	20 мкл
• Раствор Таq-полимеразы	500 мкл
• Минеральное масло	1,0 мл
• Положительный контрольный образец («К+»)	150 мкл
	96 пробирок
	2 пробирки
	2 пробирки
	1 пробирка

Инструкция по применению

1. Подготовка и проведение ПЦР

- 1.1. Промаркируйте пробирки с запечатанной парафином смесью для амплификации (с учётом пробирок для отрицательного контрольного образца – «К-» и положительного контрольного образца – «К+»).
- 1.2. Добавьте в каждую пробирку, не повреждая слой парафина, по 10 мкл тщательно перемешанного раствора Таq-полимеразы.
- 1.3. Добавьте в каждую пробирку по 1 капле минерального масла. Закройте крышки пробирок.
- 1.4. Откройте крышку пробирки, в которую будет вноситься данный образец.
- 1.5. Добавьте, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл выделенного из образца препарата ДНК (кроме пробирок «К-», «К+»). В пробирку, маркированную «К-», добавьте 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего пробоподготовку, в пробирку, маркированную «К+», добавьте 5,0 мкл соответствующего положительного контрольного образца.
- 1.6. Закрыйте крышки пробирок после внесения каждого образца.
- 1.7. Центрифугируйте пробирки при 1000 об/мин в течение 1–3 сек.
- 1.8. Установите все пробирки в детектирующий амплификатор и проведите ПЦР в режиме, приведённом в таблицах 1–3, с учётом объёма реакционной смеси 35 мкл.

2. Детекция и учёт результатов ПЦР-амплификации ДНК

Детекция и учёт результатов осуществляется на приборах ДТ-322, ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология») или iCycler iQ, iCycler iQ5 (Bio-Rad) в соответствии с инструкциями к приборам.

ДНК-зонды, используемые для детекции продуктов амплификации специфического продукта и внутреннего контрольного образца, мечены флуоресцентными метками FAM и HEX, соответственно.

Условия хранения и эксплуатации

Комплект реагентов для ПЦР-амплификации ДНК следует хранить в тёмном месте при 2–8 °С в течение всего срока годности.

Примечание. Допускается хранение пробирок со смесью для амплификации, запечатанной парафином, в тёмном месте при 18–25 °С в течение всего срока годности.

Срок годности комплекта – 9 месяцев с даты изготовления.

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов для ПЦР-амплификации ДНК вирусов папилломы человека (HPV) высокого онкогенного риска, следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, к.6

Тел./факс +7 (495) 980-45-55

E-mail: help@dna-technology.ru

www.dna-technology.ru

Анкета для осуществления обратной связи находится на нашем сайте: <http://www.dna-technology.ru/support>

Таблица 1

Программа амплификации для детектирующих амплификаторов
ДТ-322, ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»)

№ блока	Температура, °С	мин	сек	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	1	00	1		Цикл
	94	1	30			
2	94	0	30	5	√	Цикл
	60	0	15			
3	94	0	10	45	√	Цикл
	60	0	15			
4	10	Хранение		Хранение

Таблица 2

Программа амплификации для детектирующего амплификатора iCycler iQ5 (Bio-Rad)
(при использовании Persistent Well Factor)

Cycle	Repeats	Step	Dwell Time	Setpoint, C°	PCR/Melt Data Acquisition
1	1	1	01:00	80,0	
		2	01:30	94,0	
2	5	1	00:30	94,0	
		2	00:15	60,0	Real Time
3	45	1	00:10	94,0	
		2	00:15	60,0	Real Time
4		10,0	storage

Таблица 3

Режим амплификации для детектирующего амплификатора
iCycler iQ (Bio-Rad Laboratories)

Cycle	Repeats	Step	Dwell Time	Setpoint, C°	PCR/Melt Data Acquisition
Программа для считывания динамических факторов лунок dynamicwf.tmo.					
1	1	1	01:00	80,0	
		2	01:30	94,0	
2	5	1	00:30	94,0	
		2	00:45	60,0	
3	2	1	00:30	80,0	Real Time
Программа амплификации					
4	45	1	00:10	94,0	
		2	00:45	60,0	Real Time
5		10,0	storage