

Регистрационное удостоверение МЗ СР РФ
№ ФСР 2010/08413

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

Генетика Метаболизма

**Комплект реагентов для определения генетических полиморфизмов,
ассоциированных с нарушениями фолатного цикла, методом ПЦР в режиме
реального времени**

Генетика Метаболизма Фолатов

**Комплект реагентов для определения генетических полиморфизмов,
ассоциированных с нарушениями обмена лактозы, методом ПЦР в режиме
реального времени**

Генетика Метаболизма Лактозы

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.

Метод:

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

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.

Приборное обеспечение:

Амплификаторы детектирующие (ООО «НПО ДНК-Технология») ДТ-322, ДТлайт¹, ДТпрайм² и ДТ-96; версия программного обеспечения не ниже 7.3.3.0, рекомендуемая версия 7.3.4.0.³

Внимание! Возможность использования других амплификаторов необходимо уточнить у представителя компании.

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 – 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/support/>

Состав набора

Реактив	Количество	
Комплект Генетика Метаболизма Фолатов		
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-АТ полимеразы	96 мкл	1 пробирка
• Минеральное масло	3,84 мл	1 флакон
Комплект Генетика Метаболизма Лактозы		
Смеси для амплификации:		
1. MCM6: -13910 T>C	960 мкл	1 пробирка
2. MCM6: -22018 T>C	960 мкл	1 пробирка
• ПЦР-буфер	480 мкл	2 пробирки
• Taq-АТ полимеразы	48 мкл	1 пробирка
• Минеральное масло	960 мкл	2 пробирки

Каналы детекции аллельных вариантов

Название смеси для амплификации	Fam	Hex	Rox	Cy5
Комплект Генетика Метаболизма Фолатов				
MTHFR: 677 C>T (Ala222Val)	C	T	-	-
MTHFR: 1298 A>C (Glu429Ala)	A	C	-	-
MTR: 2756 A>G (Asp919Gly)	A	G	-	-
MTRR: 66 A>G (Ile22Met)	A	G	-	-
Комплект Генетика Метаболизма Лактозы				
MCM6: -13910 T>C	C	T	-	-
MCM6: -22018 T>C	C	T	-	-

Инструкция по применению

1. **Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции**

Внимание! Количество анализируемой ДНК должно быть не менее 1,0 нг на амплификационную пробирку. При использовании меньшего количества ДНК производитель не гарантирует корректную работу комплекта. Для оценки количества выделенной ДНК рекомендуется использовать комплект реагентов для ПЦР-амплификации геномной ДНК человека в режиме реального времени (КВМ) (ООО «НПО ДНК-Технология»).

 - 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-»).
 - 1.2. Встряхните пробирки со смесью для амплификации в течение 3–5 сек и центрифугируйте в течение 1–3 сек на микроцентрифуге/вортексе.
 - 1.3. Добавьте в промаркированные пробирки по 20 мкл соответствующей смеси для амплификации (для каждого полиморфизма отдельным окончанием).
 - 1.4. Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и Taq-АТ полимеразой в течение 3–5 сек и центрифугируйте в течение 1–3 сек на микроцентрифуге/вортексе.

Внимание! Taq-АТ полимеразу необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

 - 1.5. Приготовьте смесь ПЦР-буфера с Taq-АТ полимеразой. Смешайте в отдельной пробирке:
 - 10 × (N+1) мкл ПЦР-буфера,
 - 0,5 × (N+1) мкл Taq-АТ полимеразы,
где N — количество промаркированных пробирок с учётом «К-» .

- 1.6. Встряхните пробирку в течение 3–5 сек и центрифугируйте в течение 1–3 сек на микроцентрифуге/вортексе.
- Внимание!** Смесь ПЦР-буфера и Taq-АТ полимеразы необходимо готовить непосредственно перед использованием, смесь должна быть использована в течение двух часов после приготовления.
- 1.7. Добавьте в каждую пробирку со смесью для амплификации по 10 мкл смеси ПЦР-буфера и Taq-АТ полимеразы.
- 1.8. Добавьте в каждую пробирку по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки пробирок.
- Примечание.** Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. Образцы следует вносить наконечниками с аэрозольным барьером.
- 1.9. Внесите в соответствующие пробирки для исследуемых образцов по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК.
- 1.10. Внесите в пробирки, маркированные «К-», по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК.
- 1.11. Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге/вортексе в течение 1–3 сек.
- 1.12. Установите все пробирки в блок амплификатора детектирующего.
- 1.13. Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первой постановке загрузите ini файл с соответствующим названием. При последующих постановках добавляйте 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. п. 1.12) и проведите ПЦР.
- Примечание.** Тип пробирки для отрицательных контрольных образцов следует указывать как «Образец».
- 2. Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводится автоматически программным обеспечением для амплификаторов детектирующих.

Условия хранения

Смеси для амплификации, ПЦР-буфер и минеральное масло следует хранить при температуре 2–8°C в течение всего срока годности.

Taq-АТ полимеразу следует хранить при температуре минус 20°C в течение всего срока годности.

Срок годности набора – 6 месяцев с даты изготовления.

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:

117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, к.6, 11 этаж

Тел./факс +7 (495) 980-45-55

E-mail: help@dna-technology.ru

www.dna-technology.ru

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»: <http://www.dna-technology.ru/support/>

Приложение

Таблица 1.

Генотипы и температуры плавления аллельных вариантов (только для приборов ДТ-322, 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 (Asp3919Gly)	AA	54,1	46,3	GG	46,8	52,3	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	57,5	44,9	TT	50,0	57,3	CT	57,2	55,8
MCM6: -22018 T>C	CC	61,5	47,4	TT	53,0	58,2	CT	60,7	57,5