



## Комплект реагентов для ПЦР-амплификации ДНК боррелии бургдорфери (*Borrelia burgdorferi*)

### Формат «Flash»

#### Информация о комплекте

**Назначение:**

Комплект реагентов предназначен для выявления ДНК боррелии бургдорфери (*Borrelia burgdorferi*) *in vitro* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

**Метод:**

Полимеразная цепная реакция с флуоресцентной детекцией результатов по конечной точке; качественный анализ.

**Материал для исследования:**

Плазма крови человека; иксодовые клещи.

**Выделение ДНК:**

Рекомендуется комплект реагентов для выделения ДНК ПРОБА-НК (ООО «НПО ДНК-Технология»).

**Особенности комплекта:**

Внутренний контрольный образец (ВК) – присутствует в каждой пробирке с амплификационной смесью, необходим для контроля прохождения полимеразной цепной реакции.

**Приборное обеспечение:**

Термостат программируемый для проведения ПЦР анализа четырехканальный «Терцик» (ООО «НПО ДНК-Технология»); Детектор флуоресцентный «Джин» (ООО «НПО ДНК-Технология»); версия программного обеспечения не ниже 3.3, рекомендуемая версия 4.4.0.10 или «Джин-4» (ООО «НПО ДНК-Технология»); версия программного обеспечения не ниже 4.4.0.8, рекомендуемая версия 4.4.0.10.

**Внимание!** Возможность использования приборов других производителей необходимо уточнить у представителя компании.

**Время проведения анализа (с учётом пробоподготовки):**

5 часов.

**Количество определений:**

50

#### Состав комплекта

Реактив	Количество	
• Смесью для амплификации, запечатанная парафином <sup>6</sup>	20 мкл	50 пробирок
• ПЦР-буфер (фон)	200 мкл	1 пробирка
• Раствор Таq-полимеразы	500 мкл	1 пробирка
• Минеральное масло	1,0 мл	1 пробирка
• Положительный контрольный образец	75 мкл	1 пробирка

### Проведение анализа

**1 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции**

**1.1** Промаркируйте по одной пробирке с запечатанной парафином смесью для амплификации для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца (К-), положительного контрольного образца (К+) и две нормировочные пробирки для контроля фона флуоресценции (ФОН).

Например, необходимо проанализировать два образца. Нужно промаркировать две пробирки для исследуемых образцов, одну пробирку для «К-», одну пробирку для «К+» и две пробирки «ФОН». Общее количество пробирок – шесть.

## Изучите полную инструкцию перед началом работы

Таблица 1 - Пример маркировки пробирок для проведения ПЦР

	Пробирка с запечатанной парафином смесью для амплификации
Образец 1	√
Образец 2	√
«К-»	√
«К+»	√
«ФОН-1»	√
«ФОН-2»	√

- 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 во все промаркированные пробирки (кроме пробирок «ФОН»), не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Таq-полимеразы. В пробирки, промаркированные «ФОН», добавьте по 10 мкл ПЦР-буфера.
- 1.4** Добавьте в каждую пробирку по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки пробирок.
- 1.5** Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышку только той пробирки, в которую будет вноситься данный образец, и закрывать ее перед внесением следующего. Препараты ДНК следует вносить наконечниками с фильтром.
- Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК в соответствующие пробирки для исследуемых образцов. В пробирки «К–», «К+» и «ФОН» ДНК не вносится.
- 1.6** Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК, в пробирки, маркированные «К–» и «ФОН». Внесите, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл положительного контрольного образца в пробирку, маркированную «К+».
- 1.7** Центрифугируйте пробирки при 1000 об/мин (или на микроцентрифуге/вортексе) в течение 1–3 сек.
- 1.8** Установите все пробирки в программируемый амплификатор или термостат для проведения ПЦР (ДНК-амплификатор) и проведите ПЦР с учётом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл (таблица 2).

Примечание:

- При использовании «Терцик» необходимо выбрать алгоритм регулирования «Точный».
- Готовые нормировочные пробирки «ФОН» допускается использовать многократно при каждой детекции результатов ПЦР с реакционными пробирками из той же серии комплекта реагентов для ПЦР-амплификации. Нормировочные пробирки следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более 1 месяца в защищённом от света месте. При проведении детекции пробирки должны иметь комнатную температуру (от 18 °С до 25 °С), поэтому за 1 час до проведения детекции их необходимо достать из холодильника.

Таблица 2 - Программа амплификации для амплификатора «Терцик»

№ п.п.	Для амплификаторов с активным регулированием			Количество циклов
	Температура, °С	Время		
		мин	сек	
1	94,0	1	30	1
2	94,0	0	5	5
	64,0	0	5	
	67,0	0	5	
3	94,0	0	1	40
	64,0	0	5	
	67,0	0	5	
4	10,0	...	...	Хранение

## Изучите полную инструкцию перед началом работы

### 2 Регистрация и учёт результатов ПЦР

Регистрация и учёт результатов ПЦР проводятся с помощью детектора флуоресцентного «Джин» или «Джин-4» согласно инструкции к прибору (пороговые значения для специфичного продукта составляют 1,75–2,10, для внутреннего контроля – 2,50) (таблица 3).

Примечание - Комплект реагентов предназначен для детекции результатов ПЦР методом флуоресцентной детекции по конечной точке. В качестве альтернативного способа учёта результатов возможно использование метода гель-электрофореза (см. таблицу 4 и инструкцию для проведения гель-электрофореза).

Таблица 3 - Интерпретация результатов ПЦР при детекции с помощью детектора флуоресцентного «Джин» или «Джин-4»

Результат выданный флуоресцентным детектором «Джин» или «Джин-4»	Интерпретация
<b>Анализируемые образцы</b>	
«+»	Обнаружена ДНК <i>Borrelia burgdorferi</i>
«-»	Не обнаружена ДНК <i>Borrelia burgdorferi</i>
«нд»	Недостовверный результат
<b>Положительный контрольный образец</b>	
«+»	Положительный результат
<b>Отрицательный контрольный образец</b>	
«-»	Отрицательный результат

Таблица 4 - Интерпретация результатов ПЦР при детекции с помощью гель-электрофореза

Специфический фрагмент (335 п.н.)	Внутренний контроль (560 п.н.)	Интерпретация
<b>Анализируемые образцы</b>		
+	Не учитывается	Обнаружена ДНК <i>Borrelia burgdorferi</i>
-	+	Не обнаружена ДНК <i>Borrelia burgdorferi</i>
-	-	Недостовверный результат
<b>Положительный контрольный образец</b>		
+	Не учитывается	Положительный результат
<b>Отрицательный контрольный образец</b>		
-	+	Отрицательный результат

### Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Комплект реагентов для ПЦР-амплификации следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте в течение всего срока годности.

Транспортирование комплекта осуществляют всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности комплекта.

Срок годности комплекта - 12 месяцев со дня приёма ОТК предприятия-изготовителя при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов для ПЦР-амплификации ДНК боррелии бургдорфери (*Borrelia burgdorferi*), 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, [www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru).

Служба клиентской поддержки: 8 (800) 200-75-15 (звонок по России бесплатный),  
E-mail: [hotline@dna-technology.ru](mailto:hotline@dna-technology.ru).

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»:  
[http://www.dna-technology.ru/customer\\_support/](http://www.dna-technology.ru/customer_support/)