

## Комплект реагентов для выявления аллеля 27 локуса В главного комплекса гистосовместимости человека (HLA B27) методом ПЦР в режиме реального времени

### Информация о комплекте

#### Назначение:

Комплект реагентов HLA B27 предназначен для выявления аллеля 27 локуса В главного комплекса гистосовместимости человека (HLA В\*27). Положительный результат будет получен в случае наличия аллеля HLA B27 как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии.

Выявление HLA B27 позволяет определить предрасположенность к развитию таких аутоиммунных заболеваний, как ревматоидный артрит и анкилозирующий спондилит (болезнь Бехтерева).

#### Метод:

Полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени; 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 комплекта:

Внутренний контроль B27 (BK B27) – необходим для оценки качества всех этапов исследования и интерпретации результатов. В качестве внутреннего контроля используется контроль взятия материала для системы HLA B27.

#### Приборное обеспечение:

Амплификаторы детектирующие (ООО «НПО ДНК-Технология») ДТ-322, ДТлайт<sup>1</sup>, ДТпрайм<sup>2</sup> и ДТ-96; версия программного обеспечения не ниже 7.3.4.0.<sup>3</sup>

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

#### Количество определений:

48

### Состав набора

Реактив	Количество
• Смесь для амплификации, запечатанная парафином	20 мкл 48 пробирок или 6 стрипов по 8 пробирок
• Раствор Taq-полимеразы	480 мкл 1 пробирка
• Минеральное масло	960 мкл 1 пробирка
• Положительный контрольный образец («К+»)	150 мкл 1 пробирка

#### Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5
HLA B27	BK B27	-	-

<sup>1</sup> – только модели 4S1; 4S2; 5S1; 5S2; 6S1; 6S2.

<sup>2</sup> – только модели 4M1; 4M3; 4M6; 5M1; 5M3; 5M6; 6M1; 6M3; 6M6.

<sup>3</sup> – последнюю рекомендуемую версию ПО можно скачать на сайте компании «ДНК-Технология»:  
<http://www.dna-technology.ru/support/>

## Инструкция по применению

### 1. Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

- 1.1. Промаркируйте по одной пробирке со смесью для амплификации для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца («К-») и положительного контрольного образца («К+»).
- 1.2. Встряхните пробирку с раствором Taq-полимеразы в течение 3–5 сек на микроцентрифуге/вортексе и центрифугируйте в течение 1–3 сек.
- 1.3. Добавьте в каждую пробирку, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Taq-полимеразы.
- 1.4. Добавьте в каждую пробирку по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки пробирок.

**Примечание.** 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 аэрозольным барьером.

- 1.5. Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК в соответствующие пробирки для исследуемых образцов.
- 1.6. Внесите, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК, в пробирку, маркированную «К-». Внесите, не повреждая слой парафина, 5,0 мкл положительного контрольного образца в пробирку, маркированную «К+».
- 1.7. Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге/вортексе в течение 1–3 сек.
- 1.8. Установите все пробирки в блок амплификатора детектирующего.
- 1.9. Запустите программное обеспечение RealTime\_PCR в режиме «Работа с прибором». При первой постановке загрузите файл «HLA\_B27.ini». При последующих постановках добавьте в протокол тест «HLA\_B27», укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. п. 1.8.) и проведите ПЦР.

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

### 3. Учёт и интерпретация результатов ПЦР

Интерпретация результатов проводится с учётом значений  $C_p$  по каналу спецификации (канал Fam) и внутреннего контроля (канал Hex) в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1.

Интерпретация результатов при использовании амплификаторов детектирующих  
ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96.

Результат по каналу Fam (Fam $C_p$ )	Результат по каналу Hex (Hex $C_p$ )	$\Delta C_p$ ((Fam $C_p$ ) минус (Hex $C_p$ ))	Интерпретация результата
$C_p$ указан	$C_p$ указан	Менее 4,5	Аллель HLA B27 обнаружен
$C_p$ указан	$C_p$ указан	Более 7,0	Аллель HLA B27 не обнаружен
$C_p$ не указан	$C_p$ указан	Не учитывается	
$C_p$ указан	$C_p$ указан	4,5 – 7,0	Результат недостоверный
$C_p$ указан/не указан	$C_p$ не указан	Не учитывается	
	$C_p \geq 33,0$	Не учитывается	

В случае получения недостоверного результата требуется либо повторное выделение ДНК и постановка ПЦР, либо повторное взятие клинического материала (выполняется последовательно).

### Условия хранения и эксплуатации

Комплект следует хранить при температуре 2–8°C в течение всего срока годности.

Срок годности комплекта – 6 месяцев с даты изготовления.

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов для выявления аллеля 27 локуса В главного комплекса гистосовместимости человека (HLA B27) методом ПЦР в режиме реального времени, 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](mailto:help@dna-technology.ru), [www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru)

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

<http://www.dna-technology.ru/support/>