



Регистрационное удостоверение
№ ФСР 2010/08412 от 22 ноября 2016 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

Комплект реагентов для ПЦР-амплификации геномной ДНК человека в режиме реального времени

КВМ

Каталожные номера:

R1-P805-23/9 (пробирки, 96 определений)
R1-P805-S3/9 (стрипы, 96 определений)

Информация о комплекте

Назначение:

Комплект реагентов КВМ предназначен для определения и приблизительной оценки количества геномной ДНК человека в биологическом материале.

Комплект рекомендуется использовать:

- для исключения ошибок преаналитического этапа при исследовании биологического материала, содержащего клетки эпителия человека (контроль взятия материала врачом-клиницистом (КВМ));
- для оценки количества геномной ДНК человека.

Метод:

Полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени.

Материал для исследования:

Соскобы из уретры, цервикального канала, с заднего свода влагалища, конъюнктивы глаза, задней стенки носоглотки и других слизистых, клеточный осадок мочи, кровь и др.

Выделение ДНК:

Рекомендуются комплекты реагентов для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА, ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС (ООО «НПО ДНК-Технология»).

Особенности набора:

Внутренний контрольный образец (ВК) – необходим для оценки прохождения полимеразной цепной реакции.

Приборное обеспечение:

Амплификаторы детектирующие ДТ-322, ДТглайт¹, ДТпрайм² или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»); версия программного обеспечения не ниже 7.3, рекомендуемая версия 7.7.5.44³ или амплификатор iCycler iQ5 (Bio-Rad Laboratories).

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

Время проведения анализа (без учёта пробоподготовки):

2 часа.

Количество определений:

96

Состав комплекта

Реактив	Количество	
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	20 мкл	96 пробирок или 12 стрипов по 8 пробирок
Раствор Таq-полимеразы	500 мкл	2 пробирки
Минеральное масло	1,0 мл	2 пробирки
Положительный контрольный образец	150 мкл	1 пробирка

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/po/>

Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
KBM	VK	-	-	-

Проведение анализа

1 Выделение ДНК

Выделение ДНК проводят в соответствии с инструкцией к используемому комплекту реагентов. Рекомендуемые комплекты для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала: ПРОБА-РАПИД, ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА, ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС.

О возможности использования других комплектов реагентов для выделения ДНК из биологического материала совместно с комплектом для ПЦР-амплификации можно узнать у представителя компании.

Внимание! Независимо от используемого комплекта для выделения ДНК одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо провести через все этапы пробоподготовки отрицательный контрольный образец (в его качестве можно использовать стерильный физиологический раствор или транспортную среду для биопроб в объёме согласно инструкции к комплекту реагентов для выделения ДНК).

2 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

2.1 Промаркируйте по одной пробирке со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца (К-) и положительного контрольного образца (К+).

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

2.2 Встряхните пробирку с раствором Таq-полимеразы в течение 3-5 сек и центрифугируйте в течение 1-3 сек в микроцентрифуге/вортексе.

2.3 Добавьте в каждую пробирку со смесью для амплификации, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Таq-полимеразы.

2.4 Добавьте в каждую пробирку по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки пробирок.

2.5 Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышку только той пробирки, в которую будет вноситься данный образец, и закрывать её перед внесением следующего. Образцы рекомендуется вносить наконечниками с фильтром.

Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК в соответствующие пробирки для исследуемых образцов.

2.6 Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК, в пробирку, маркованную «К-». Внесите, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл положительного контрольного образца в пробирку, маркованную «К+».

2.7 Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге/вортексе в течение 3-5 сек.

2.8 Установите все пробирки в блок детектирующего амплификатора.

2.9 Для приборов ДТ-322, ДТЛайт, ДТПрайм и ДТ-96:

Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР создайте и сохраните новый тест. Далее и при последующих постановках добавьте в протокол сохраненный тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательных и положительных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой (2.8) и проведите ПЦР (таблица 1).

2.10 Для прибора iQ5:

Включите прибор и блок питания оптической части прибора, оставьте для прогрева на 30 мин. Запустите программное обеспечение Bio-Rad iQ5. При первой постановке создайте и сохраните новый протокол. При последующих постановках выберите сохраненный протокол, настройте конфигурацию плашки (файл с данными о характеристике образцов и их расположении в плашке) и проведите ПЦР с учётом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл (таблица 2).

Изучите полную инструкцию № 156-5 от 30.01.17 перед началом работы

Таблица 1 - Программа амплификации для детектирующих амплификаторов ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96

№ блока	Температура, °C	мин	сек	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	30	1		цикл
	94	1	30			
2	94	0	30	5	√	цикл
	64	0	15			
3	94	0	10	45	√	цикл
	64	0	15			
4	94	0	5	1		цикл
5	10			хранение		хранение

Таблица 2 - Программа амплификации для детектирующего амплификатора iCycler iQ5 (при использовании Persistent Well Factor)

Cycle	Repeats	Step	Dwell Time	Setpoint, °C	PCR/Melt Data Acquisition
1	1	1	1:00	80,0	
2	5	2	1:30	94,0	
3	45	1	0:30	94,0	
4		2	0:45	64,0	Real-time
			...	10,0	storage

Внимание! При использовании других амплификаторов свяжитесь с представителем компании «ДНК-Технология» для уточнения программы амплификации.

3 Регистрация и учёт результатов ПЦР

Детекция и учёт результатов осуществляется на приборах ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96 или iCycler iQ5 в соответствии с инструкциями к приборам.

Интерпретация результатов проводится с учётом значений Ср по каналу специфики (канал Fam) и внутреннего контроля (канал Hex) в соответствии с таблицами 3 и 4.

Таблица 3 - Интерпретация результатов при использовании детектирующих амплификаторов ДТ-322, ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96

Результат по каналу Fam, Ср	Результат по каналу Hex, Ср	Интерпретация	Количество геномной ДНК на реакцию, нг
менее 23	не учитывается	ДНК человека в препарате ДНК присутствует в достаточном для анализа количестве	более 750
23 – 32	не учитывается		750-1,0
32-38	не учитывается	ДНК человека в препарате ДНК присутствует в достаточном для анализа количестве (за исключением генотипирования!)	1,0-0,01
более 38	27 – 32		менее 0,01
более 38	более 32	Возможно, в препарате ДНК присутствуют ингибиторы ПЦР	менее 0,01
не определяется	27 – 32	ДНК человека отсутствует или присутствует в следовых количествах	–
не определяется	или более 32	Результат недостоверный	–

Изучите полную инструкцию № 156-5 от 30.01.17 перед началом работы

Таблица 4 - Интерпретация результатов при использовании амплификатора iCycler iQ5

Результат по каналу Fam, Ср	Результат по каналу Hex, Ср	Интерпретация	Количество геномной ДНК на реакцию, нг
менее 18	не учитывается	ДНК человека в препарате ДНК присутствует в достаточном для анализа количестве	более 750
18-27	не учитывается		750-1,0
27-33	не учитывается	ДНК человека в препарате ДНК присутствует в достаточном для анализа количестве (за исключением генотипирования!)	1,0-0,01
более 33	22 – 27	ДНК человека присутствует в недостаточном для анализа количестве	менее 0,01
более 33	более 27	Возможно, в препарате ДНК присутствуют ингибиторы ПЦР	менее 0,01
не определяется	22 – 27	ДНК человека отсутствует или присутствует в следовых количествах	–
не определяется	не определяется или более 27	Результат недостоверный	–

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

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

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

П р и м е ч а н и е – Допускается транспортирование при температуре от 0 °С до 24 °С не более 72 часов.

Срок годности комплекта – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов ПЦР-амплификации геномной ДНК человека в режиме реального времени (КВМ), 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/

С полной инструкцией № 156-5 от 30.01.17 можно ознакомиться на интернет-сайте компании «ДНК-Технология», перейдя по ссылке: <http://www.dna-technology.ru/dnaproducts/reagents/med/> или обратитесь к представителю компании.