



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



108 - 18 2018-08-07

Комплекты реагентов для ПЦР-амплификации ДНК для флуоресцентной детекции по конечной точке (формат «FLASH»)

Информация о комплектах

Назначение:

Комплекты реагентов предназначены для выявления ДНК микроорганизмов в биологическом материале человека методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующей детекцией по конечной точке.

Метод:

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

Выделение ДНК:

Рекомендуются комплекты реагентов для выделения ДНК ПРОБА-НК, ПРОБА-ГС и ПРОБА-РАПИД (ООО «НПО ДНК-Технология»). Для некоторых видов биоматериала требуется предварительная обработка (см. соответствующие инструкции к комплектам реагентов для выделения ДНК и полную инструкцию по применению комплектов реагентов для ПЦР-амплификации ДНК).

ВНИМАНИЕ! При выделении ДНК из биопатов, мокроты, бронхоальвеолярного лаважа, мекония, желудочного сока, фекалий следует использовать только комплекты реагентов ПРОБА-НК и ПРОБА-ГС. Не рекомендуется использовать комплект реагентов ПРОБА-РАПИД при выделении ДНК из соскобов из уrogenитального тракта у мужчин. При выделении ДНК из плазмы крови и иксодовых клещей следует использовать только комплект реагентов ПРОБА-НК.

Особенности комплектов:

Внутренний контрольный образец (ВК) – 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 (без учета пробоподготовки):

от 1,5 часов.

Количество определений:

50/100

Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5
Специфический продукт	ВК	-	-

Состав комплектов:

Реактив	Количество	
	на 50 определений	на 100 определений
• Смесь для амплификации, запечатанная парафином ¹	20 мкл	50 пробирок
• Раствор Таq-полимеразы	500 мкл	1 пробирка
• ПЦР-буфер (фон)	200 мкл	1 пробирка
• Минеральное масло	1,0 мл	1 пробирка
• Положительный контрольный образец	75 мкл	1 пробирка
		20 мкл
		100 пробирок
		500 мкл
		2 пробирки
		200 мкл
		1 пробирка
		1,0 мл
		2 пробирки
		150 мкл
		1 пробирка

¹ – комплекты реагентов для ПЦР-амплификации (формат «FLASH») в зависимости от наименования выпускаются в пробирках 0,5 и 0,2 мл.

Материал для исследования

Выявляемый микроорганизм	№ РУ	Вид биологического материала
Боррелия бургдорфери (<i>Borrelia burgdorferi</i>)	ФСР 2008/03505	Плазма крови человека, иксодовые клещи
Вирус варицелла зостер (VZV)	РЗН 2013/1258	Соскобы из поражений кожи и слизистых
Вирус герпеса человека тип 6 (HHV6)	ФСР 2010/06932	Лимфоциты периферической крови, ликвор, слюна, моча и др.
Вирус герпеса человека тип 8 (HHV8)	ФСР 2010/06933	Лимфоциты периферической крови, сперма, секрет предстательной железы, биоптаты и др.
Вирус папилломы тип 16 (HPV16)	ФСР 2008/03845	Соскобы эпителиальных клеток из цервикального канала, прямой кишки, ротоглотки, уретры, биоптаты
Вирус папилломы тип 18 (HPV18)		
Вирус Эпштейна-Барр (EBV)	ФСР 2010/06934	Слюна, моча, соскобы из уретры, цервикального канала, заднего свода влагалища, моноклеарная фракция клеток периферической крови
Листерия моноцитогенес (<i>Listeria monocytogenes</i>)	ФСР 2010/06931	Ликвор, соскобы со слизистых, околоплодные воды, меконий, биоптаты
Микобактерия туберкулеза – микобактерия бовис комплекс (<i>M.tuberculosis – M. bovis</i>)	ФСР 2008/03849	Мокрота, бронхоальвеолярный лаваж, хирургический материал (содержимое туберкуломы)
Токсоплазма гондии (<i>Toxoplasma gondii</i>)	ФСР 2008/03944	Ликвор, биоптаты и др.
Уреаплазма парвум (<i>Ureaplasma parvum</i>)	ФСР 2009/04072	Соскобы из уретры, цервикального канала, заднего свода влагалища
Уреаплазма уреалитикум (Т-960) и уреаплазма парвум (<i>Ureaplasma urealyticum+Ureaplasma parvum</i>)		
Уреаплазма уреалитикум(Т-960) (<i>Ureaplasma urealyticum</i>)		

Проведение анализа

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-), положительного контрольного образца (К+) и две нормировочные пробирки для контроля фона флуоресценции (ФОН).
- 1.2 Встряхните пробирку с раствором Таq-полимеразы в течение 3–5 с и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 1.3 Добавьте в каждую пробирку (за исключением пробирок «ФОН»), не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Таq-полимеразы. В пробирки, маркированные «ФОН», добавьте по 10 мкл ПЦР-буфера (фон).
- 1.4 Добавьте в каждую пробирку по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки пробирок.
- 1.5 Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их 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, 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего все этапы пробоподготовки, 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 на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 с.
- 1.8 Установите все пробирки в амплификатор или термостат программируемый и проведите ПЦР с учётом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл (Таблицы 1, 2). Соответствие программ амплификации комплектам реагентов приведено в таблице 3.

П р и м е ч а н и е - 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 ДНК. Готовые нормировочные пробирки «ФОН» необходимо хранить в защищённом от света месте при температуре от 2 °С до 8 °С не более одного месяца. При проведении детекции пробирки должны иметь комнатную температуру (от 18 °С до 25 °С), для чего за один час до проведения детекции их необходимо достать из холодильника.

Изучите полную инструкцию перед началом работы

Таблица 1 - Режим амплификации 1

№ п.п.	Для амплификаторов с активным регулированием			Для амплификаторов без активного регулирования			Количество циклов
	Температура, °C	Время		Температура, °C	Время		
		мин	с		мин	с	
1	94,0	1	00	94,0	1	00	1
2	94,0	0	5	94,0	0	50	5
	64,0	0	5	64,0	0	50	
	67,0	0	5	67,0	0	50	
3	94,0	0	1	94,0	0	50	40
	64,0	0	5	64,0	0	50	
	67,0	0	5	67,0	0	50	
4	10,0	10,0	Хранение

Таблица 2 - Режим амплификации 2

№ п.п.	Для амплификаторов с активным регулированием			Для амплификаторов без активного регулирования			Количество циклов
	Температура, °C	Время		Температура, °C	Время		
		мин	с		мин	с	
1	94,0	1	00	94,0	1	00	1
2	94,0	0	5	94,0	0	50	5
	67,0	0	15	67,0	0	50	
3	94,0	0	1	94,0	0	50	40
	67,0	0	15	67,0	0	50	
4	10,0	10,0	Хранение

Таблица 3 - Режимы амплификации

Выявляемый микроорганизм	Режим амплификации
Боррелия бургдорфери (<i>Borrelia burgdorferi</i>)	1
Вирус варицелла зостер (VZV)	
Вирус герпеса человека тип 6 (HHV6)	
Вирус герпеса человека тип 8 (HHV8)	
Вирус Эпштейна-Барр (EBV)	
Листерия моноцитогенес (<i>Listeria monocytogenes</i>) ²	
Токсоплазма гондии (<i>Toxoplasma gondii</i>)	
Уреаплазма парвум (<i>Ureaplasma parvum</i>)	
Уреаплазма уреалитикум (Т-960) (<i>Ureaplasma urealyticum</i>)	2
Вирус папилломы тип 16 (HPV16)	
Вирус папилломы тип 18 (HPV18)	
Микобактерия туберкулеза – микобактерия бовис комплекс (<i>M. tuberculosis – M. bovis</i>)	
Уреаплазма уреалитикум (Т-960) и уреаплазма парвум (<i>Ureaplasma urealyticum + Ureaplasma parvum</i>)	

2 Регистрация и учёт результатов ПЦР

Детекция и учёт результатов ПЦР-амплификации ДНК проводятся с помощью ПЦР-детектора «Джин» или «Джин-4» согласно инструкции к прибору (пороговые значения для специфического продукта составляют 1,75–2,10, для внутреннего контроля – 2,50).

² – продукты амплификации специфичной ДНК (*Listeria monocytogenes*) не детектируются в стандартных 1,5% агарозных гелях.

Изучите полную инструкцию перед началом работы

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Комплекты следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности.

Примечание - Пробирки со смесью для амплификации, запечатанной парафином, следует хранить в защищённом от света месте при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности.

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

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

По вопросам, касающимся качества комплектов реагентов для ПЦР-амплификации ДНК для флуоресцентной детекции по конечной точке, 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/