

УТВЕРЖДЕНА

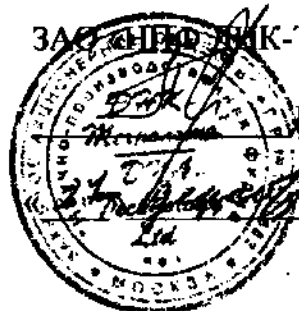
УТВЕРЖДАЮ

Приказом Росздравнадзора

Генеральный директор

от _____ 200__ г № _____

ЗАО «НПО ДНК-Технология»



Д.Ю.Трофимов

2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ

**к набору реагентов для определения генетических полиморфизмов,
ассоциированных с функциями иммунной системы, методом полимеразной
цепной реакции (ИммуноГенетика)**

1. НАЗНАЧЕНИЕ

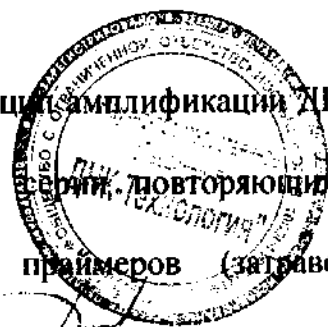
1.1 Набор реагентов ИммуноГенетика предназначен для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с функциями иммунной системы, методом ПЦР в режиме «реального времени» в препаратах ДНК человека, полученных из цельной периферической крови.

1.2 Набор реагентов может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1 Принцип действия набора.

В основе работы комплектов реагентов лежит принцип амплификации ДНК методом ПЦР. Процесс амплификации заключается в серии повторяющихся циклов температурной денатурации ДНК, отжига праймеров (затравок)



ГЕН. ДИРЕКТОР
ДМИТРОВСКИЙ В.Ю.

Количество тестов: 48.

Номера серий: № 1401R, № 1501R, № 1801R.

5. Описание набора реагентов:

Набор реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с функциями иммунной системы, методом полимеразной цепной реакции (ИммуноГенетика) предназначен для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с функциями иммунной системы, методом ПЦР в режиме «реального времени» в препаратах ДНК человека, полученных из цельной периферической крови.

Набор включает следующие комплекты:

а) Комплект реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с функциями цитокинов, методом ПЦР в режиме реального времени (ИммуноГенетика Цитокины), включающий:

- смеси для амплификации (30 наименований) – по 1 пробирке каждого наименования (по 960 мкл):

№ п/п	Наименование	№ п/п	Наименование
1	IFNG: 874 T>A	16	IL-12B: -1188 C>A
2	IL-1A: -889 C>T	17	IL-18: -137 G>C
3	IL-1B: 3953 C>T	18	IL-18: -607 C>A
4	IL-1R1: PstI1970	19	IL18: -656 A>C
5	IL-1RN: 11100 mspI	20	TGFb1: 869 T>C
6	IL-2: 166 G>T (Leu38Leu)	21	TNF: -238 G>A
7	IL-2: -330 G>T	22	TNF: -308 G>A
8	IL-4: -589 C>T	23	IL-1B: -511 C>T
9	IL-4: -1098 T>G	24	TGFb1: 915 C>G (Arg25Pro)
10	IL-4: -33 C>T	25	VEGFA: -634 G>C
11	IL-4R: 1902 A>G (Gln576Arg)	26	VEGFA: 936 C>T
12	IL-6: -174 G>C	27	VEGFA: -2578 A>C
13	IL-10: -1082 G>A	28	VEGFA: -1154 G>A
14	IL-10: -592 A>C	29	RANKL: 23932145C>T
15	IL-10: -819 C>T	30	RANKL: 24012593 C>T

- ПЦР-буфер – 30 пробирок (по 480 мкл);

- Taq-АТ-полимераза – 30 пробирок (по 24 мкл);

- минеральное масло – 30 пробирок (по 960 мкл).

б) Комплект положительных контрольных образцов (ПК Цитокины) – 90 пробирки (по 50 мкл) - по 3 вида положительного контрольного образца на каждый определяемый полиморфизм:

Полиморфизм	Название положительного контрольного образца		
	Гомозигота FAM/FAM	Гомозигота HEX/HEX	Гетерозигота
IFNG: 874 T>A	K+ TT	K+ AA	K+ TA
IL-1A: -889 C>T	K+ CC	K+ TT	K+ CT
IL-1B: 3953 C>T	K+ CC	K+ TT	K+ CT
IL-1R1: PstI1970	K+ CC	K+ TT	K+ CT
IL-1RN: 11100 mspI	K+ TT	K+ CC	K+ TC
IL-2: 166 G>T (Leu38Leu)	K+ GG	K+ TT	K+ GT
IL-2: -330 G>T	K+ GG	K+ TT	K+ GT
IL-4: -589 C>T	K+ CC	K+ TT	K+ CT
IL-4: -1098 T>G	K+ TT	K+ GG	K+ TG
IL-4: -33 C>T	K+ CC	K+ TT	K+ CT
IL-4R: 1902 A>G (Gln576Arg)	K+ AA	K+ GG	K+ AG
IL-6: -174 G>C	K+ GG	K+ CC	K+ GC
IL-10: -1082 G>A	K+ GG	K+ AA	K+ GA
IL-10: -592 A>C	K+ AA	K+ CC	K+ AC
IL-10: -819 C>T	K+ CC	K+ TT	K+ CT
IL-12B: -1188 C>A	K+ CC	K+ AA	K+ CA
IL-18: -137 G>C	K+ GG	K+ CC	K+ GC
IL-18: -607 C>A	K+ CC	K+ AA	K+ CA
IL-18: -656 A>C	K+ AA	K+ CC	K+ AC
TGFb1: 869 T>C	K+ TT	K+ CC	K+ TC
TNF: -238 G>A	K+ GG	K+ AA	K+ GA
TNF: -308 G>A	K+ GG	K+ AA	K+ GA
IL-1B: -511 C>T	K+ CC	K+ TT	K+ CT
TGFb1: 915 C>G (Arg25Pro)	K+ CC	K+ GG	K+ CG
VEGFA: -634 G>C	K+ GG	K+ CC	K+ GC

VEGFA: 936 C>T	K+ CC	K+ TT	K+ CT
VEGFA: -2578 A>C	K+ AA	K+ CC	K+ AC
VEGFA: -1154 G>A	K+ GG	K+ AA	K+ GA
RANKL: 23932145 C>T	K+ CC	K+ TT	K+ CT
RANKL: 24012593 C>T	K+ CC	K+ TT	K+ CT

6. Методика проведения медицинских испытаний

Материалом для исследования служили образцы периферической крови.

Было проведено исследование 122 образцов периферической крови, полученных от группы здоровых добровольцев (69 мужчин, 63 женщины). Исследование проводилось в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов.

Выделение ДНК из биологического материала проводили с использованием рекомендуемого фирмой-производителем комплекта реагентов ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА (производство ООО «НПО ДНК-Технология»).

Оборудование, используемое при проведении испытаний - детектирующий амплификатор «ДТ-322», рекомендованное производителем ООО «НПО ДНК-Технология».

Длительность выполнения анализа:

- выделение ДНК: 30 мин.
- реакция амплификации: 1 ч. 30 мин.
- анализ результатов : 10-15 мин.

Общее время анализа: 2 ч. 15 мин.

7. Общая оценка методики: методика средней сложности, требующая специальных навыков.

8. Результаты испытаний.

Частоты генотипов в исследованной группе:

Набор реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с функциями иммунной системы, методом полимеразной цепной реакции (ИммуноГенетика).	
ИммуноГенетика Цитокины	
Комплект реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с функциями цитокинов, методом ПЦР в режиме реального времени.	
Ген: полиморфизм	Частоты генотипов в исследованной группе
IFNG: 874 T>A	AA - 30,1 AT - 48,1 TT - 21,8
IL-1A: -889 C>T	CC - 51,1 TC - 39,9 TT - 9,0
IL-1B: 3953 C>T	CC - 63,2 TC - 29,3 TT - 7,5
IL-1R1: PstI1970	CC - 53,2 TC - 38,8 TT - 8,0
IL-1RN: 11100 mspI	GG - 50,5 GC - 37,1 CC - 12,4
IL-2: 166 G>T (Leu38Leu)	GG - 94,9 GT - 5,1 TT - 0
IL-2: -330 G>T	GG - 55,6 GT - 37,1 TT - 7,3
IL-4: -589 C>T	CC - 60,9 CT - 36,1 TT - 3,0
IL-4: -1098 T>G	GG - 80,2 GT - 16,1 TT - 3,7
IL-4: -33 C>T	CC - 65,9 CT - 31,6 TT - 2,5
IL-4R: 1902 A>G (Gln576Arg)	AA - 33,2 AG - 47,2 GG - 20,6
IL-6: -174 G>C	GG - 27,8 GC - 51,1 CC - 21,1
IL-10: -1082 G>A	GG - 21,1 GA - 52,6 AA - 26,3
IL-10: -592 A>C	CC - 63,1 CA - 33,1 AA - 3,8
IL-10: -819 C>T	CC - 63,9 CT - 32,3 TT - 3,8
IL-12B: -1188 C>A	CC - 30,9 CA - 55,7 AA - 13,4
IL-18: -137 G>C	GG - 52,6 GC - 39,1 CC - 8,3
IL-18: -607 C>A	CC - 33,8 CA - 48,1 AA - 18,1
IL18: -656 A>C	AA - 38,2 AC - 44,3 CC - 18,5
TGFb1: 869 T>C	TT - 64,9 TC - 31,2 CC - 3,9
TNF: -238 G>A	GG - 97,0 GA - 3,0 AA - 0
TNF: -308 G>A	GG - 74,4 GA - 25,6 AA - 0
IL-1B: -511 C>T	CC - 36,9 TC - 52,6 TT - 10,5
TGFb1: 915 C>G (Arg25Pro)	CC - 50,3 CG - 39,2 GG - 10,5

VEGFA: -634 G>C	GG - 91,9 GC - 7,2 CC - 0,9
VEGFA: 936 C>T	CC - 65,3 TC - 27,6 TT - 7,1
VEGFA: -2578 A>C	AA - 41,1 AC - 42,2 CC - 17,7
VEGFA: -1154 G>A	GG - 64,2 GA - 33,3 AA - 2,5
RANKL: 23932145C>T	CC - 58,6 CT - 35,3 TT - 6,1
RANKL: 24012593 C>T	CC - 61,2 CT - 36,5 TT - 2,3

Полученные частоты генотипов согласуются с литературными данными для европейской популяции. Воспроизводимость результатов испытана 3-х кратным повторением генотипирования 10 произвольно выбранных образцов на 3-х различных сериях набора реагентов. Воспроизводимость результатов равна 99%.

Генотип 20 произвольно выбранных образцов был подтвержден методом секвенирования.

9. Заключение по результатам медицинских испытаний:

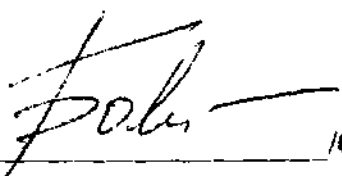
В результате проведенных испытаний установлено, что набор реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с функциями иммунной системы, методом полимеразной цепной реакции (ИммуноГенетика) производства ООО «НПО ДНК-Технология» может быть рекомендован к серийному производству и использованию в учреждениях здравоохранения с целью определения генетической предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям.

Ведущий научный сотрудник

Лаборатории анализа генома

Учреждения Российской Академии Наук

Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН

 /С.А. Боринская/

Пронумеровано и пронумеровано

6 (шесть тысяч)

Специалист по регистрации

Ребрикова О.В.

