

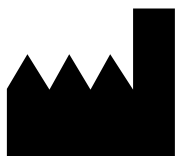
# ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов

## АмплиСенс<sup>®</sup> Плант-контроль-FL

Только для исследовательских и иных немедицинских целей

**АмплиСенс<sup>®</sup>**



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии  
Роспотребнадзора,  
Российская Федерация, 111123,  
город Москва, улица Новогиреевская, дом 3А



Только для исследовательских и  
иных немедицинских целей

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|   |    |
|---|----|
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....  | 3  |
| НАЗНАЧЕНИЕ .....  | 3  |
| ПРИНЦИП МЕТОДА .....  | 3  |
| ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ.....   | 5  |
| АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....   | 5  |
| МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ .....   | 6  |
| СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ .....  | 7  |
| ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ.....  | 8  |
| ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА....                                 | 9  |
| ФОРМА 1 («ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F) .....   | 10 |
| СОСТАВ.....   | 10 |
| ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ.....  | 11 |
| ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ.....   | 11 |
| АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ» .....                                     | 11 |
| А. Подготовка проб для амплификации .....   | 11 |
| Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени» », анализ результатов ..... | 12 |
| В. Интерпретация результатов.....   | 13 |
| СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ.....  | 15 |
| ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ .....  | 15 |
| СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ.....   | 16 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ 1.....   | 17 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ 2.....   | 20 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ 3.....   | 24 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ 4.....   | 27 |

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

|  |  |
|--|--|
| ВКО-G  | - экзогенный внутренний контрольный образец  |
| ГМ   | - генетически модифицированный   |
| ДНК  | - дезоксирибонуклеиновая кислота   |
| ВКО  | - внутренний контрольный образец   |
| К+   | - положительный контроль ПЦР   |
| К-   | - отрицательный контроль ПЦР   |
| ОК   | - отрицательный контроль экстракции  |
| ОКО  | - отрицательный контрольный образец  |
| ПЦР  | - полимеразная цепная реакция  |
| УДГ  | - урацил-ДНК-гликозилаза   |
| ФБУН ЦНИИ<br>Эпидемиологии<br>Роспотребнадзора | - Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии»<br>Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека |
| ЭК   | - эндогенный контроль  |
| FRT  | - флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»   |

## НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов **АмплиСенс® Плант-контроль-FL** не является медицинским изделием. Набор реагентов предназначен для контроля качества препаратов ДНК, полученных при проведении исследований на наличие генетически-модифицированных организмов (ГМО) растительного происхождения в продуктах питания, сырье и кормах для животных, с помощью выявления ДНК экзогенного внутреннего контроля (рекомбинантного препарата ВКО-G) методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов в режиме «реального времени».

## ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип тестирования основывается на экстракции ДНК из образцов материала, исследуемого на наличие генетически-модифицированных организмов (ГМО) растительного происхождения, совместно с экзогенным внутренним контрольным образцом (ВКО-G) и амплификации участка ДНК ВКО-G с гибридизационно-флуоресцентной детекцией.

Амплификация участка ДНК проводится при помощи специфичных к этому участку праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотиды, комплементарные

участкам амплифицируемых ДНК-мишеней, что позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала с помощью амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

Набор реагентов содержит систему защиты от контаминации ампликонами за счет применения фермента урацил-ДНК-гликозилазы (УДГ) и дезоксиуридинтрифосфата.

Результаты амплификации регистрируются по следующим каналам флуоресцентной детекции (см. табл. 1):

Таблица 1

| Канал для флуорофора | JOE       |
|----------------------|-----------|
| ДНК-мишень           | ДНК ВКО-G |

Тестирование препарата ДНК набором АмплиСенс® Плант-контроль-FL позволяет оценить качество проведения процесса экстракции ДНК и выявить причину неудовлетворительных результатов амплификации эндогенных внутренних контролей (ЭК) на этапе скрининга ГМО.

Возможны две схемы проведения контроля качества препаратов ДНК:

- параллельно этапу скрининга ГМО,
- после этапа скрининга ГМО.

При проведении контроля качества параллельно скринингу ГМО экзогенный внутренний контрольный образец (ВКО-G) добавляется в образцы на этапе первичной экстракции ДНК, после чего в двух параллельных ПЦР-тестированиях на разных приборах проводятся скрининг ГМО и контроль качества препаратов ДНК. Данный вариант использования набора реагентов АмплиСенс® Плант-контроль-FL рекомендуется для образцов, в которых заведомо предполагается наличие большого количества ингибиторов ПЦР, а также для образцов продуктов с низким содержанием растительных компонентов в рецептуре (лецитин, БАДы, соусы, жировая продукция и др.).

Контроль качества препаратов ДНК после этапа скрининга ГМО проводится при получении на этапе скрининга неудовлетворительных результатов амплификации эндогенных контролей (ЭК). Для таких образцов необходимо провести повторную экстракцию ДНК с добавлением ВКО-G (на этапе первичного скрининга ВКО-G не добавляется), после чего

провести ПЦР-тестирование для контроля качества препаратов ДНК.

Обнаружение ДНК ВКО-G свидетельствует о качестве экстракции ДНК, приемлемом для анализа ГМО в образце методом ПЦР, то есть об эффективной очистке препарата ДНК от примесей. Результаты скрининга ГМО в таких образцах валидны, при условии получения корректных результатов по всем контрольным реакциям.

Если в образце не обнаружена растительная ДНК, а ДНК ВКО-G обнаружена, то следует считать, что образец изначально содержит недостаточное количество ДНК растительного происхождения для определения его методом ПЦР (например, вследствие деградации или удаления ДНК в процессе производства продукта питания). Анализ наличия ГМО в таких образцах методом ПЦР невозможен.

## ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ

### Форма 1: «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F

Форма 1 предназначена для проведения реакции амплификации ДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Для проведения полного ПЦР-исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции ДНК, рекомендованные Изготовителем.

Форма 1 рассчитана на проведение 55 реакций амплификации, включая контроли.

## АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитические характеристики оценивались с использованием комплекта для экстракции «ДНК-сорб-С-М», комплекта для амплификации и детекции «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F и рекомбинантных препаратов ДНК.

|   |   |
|---|---|
| <b>Аналитическая специфичность</b>              | Набор реагентов обнаруживает ДНК ВКО-G. Аналитическая специфичность набора реагентов доказана при исследовании ДНК растений и животных. |
| <b>Предел детекции, Limit of detection, LOD</b> | 10 <sup>3</sup> копий ДНК/мл  |

Набор реагентов разработан в соответствии с требованиями ISO 21569:2005, ISO 21571:2005 (ГОСТ Р ИСО 21571-2014), ISO 24276:2006 (ГОСТ Р 53214-2008).

## МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования продуктов, содержащих растительные компоненты или растительное сырье, с соблюдением требований методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» и ГОСТ Р 53214-2008 «Продукты пищевые. Методы анализа для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Общие требования и определения».

Набор реагентов предназначен для одноразового применения для проведения ПЦР-исследования указанного количества проб (см. раздел «Состав»).

Набор реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять набор реагентов строго по назначению.

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Температура в помещении лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75%.
- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне Экстракции, продолжать в Зоне Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реактивы в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.
- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром<sup>1</sup>.
- Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.
- Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
- Не использовать набор реагентов, если не соблюдались

---

<sup>1</sup> Для удаления надосадочной жидкости с помощью вакуумного отсасывателя используются одноразовые наконечники без фильтра.

- условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
- Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.
  - Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.
  - Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Вреден при проглатывании. При контакте немедленно промыть пораженное место водой, при необходимости обратиться за медицинской помощью.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности набор реагентов безопасен.

При соблюдении условий транспортировки, эксплуатации и хранения риски взрыва и возгорания отсутствуют.

Сведения о безопасности набора реагентов доступны по запросу.

## **СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ**

Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковку<sup>2</sup>, биологический материал, а также материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

**ВНИМАНИЕ!** При удалении отходов после амплификации (пробирок, содержащих продукты ПЦР) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого,

---

<sup>2</sup> Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

## **ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ**

### **Экстракция ДНК из исследуемых образцов**

1. Комплект реагентов для экстракции ДНК – «ДНК-сорб-С-М» или другие, рекомендованные Изготовителем.
2. Дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к комплекту реагентов для экстракции ДНК.

### **Аmplификация с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации**

3. Одноразовые полипропиленовые пробирки:
  - а) завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные) для приготовления реакционной смеси;
  - б) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с выпуклой ли плоской оптически прозрачной крышкой или пробирки объемом 0,2 мл в стрипах по 8 шт. с прозрачными крышками (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные) – при использовании прибора планшетного типа;
  - в) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные) или пробирки для ПЦР к Rotor-Gene объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками (например, QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия, или аналогичные) – при использовании прибора роторного типа.
4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 и до 200 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
5. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл (в соответствии с используемыми комплектами реагентов) (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
6. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) (например, «БАВ-ПЦР-«Ламинар-С.», ЗАО «Ламинарные



- системы», Россия, или аналогичный).
7. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия, или аналогичный).
  8. Автоматические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
  9. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (например, Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США) и другие рекомендованные Изготовителем).
  10. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
  11. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки.
  12. Емкость для сброса наконечников.

## **ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА**

Рекомендации по взятию, транспортированию и хранению исследуемого материала, а также подготовке исследуемого материала к экстракции представлены в инструкциях к наборам реагентов для скрининга (например, «АмплиСенс ГМ кукуруза-FL», «АмплиСенс ГМ соя-FL», «АмплиСенс ГМ Плант-1-FL» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

## ФОРМА 1 («ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F) СОСТАВ

**«ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F** – комплект реагентов для амплификации ДНК ВКО-G с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» – **включает:**

| Реагент                     | Описание  | Объем, мл | Кол-во     |
|-----------------------------|---|-----------|------------|
| ПЦР-смесь-FL Плант-контроль | Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета | 0,6       | 1 пробирка |
| ПЦР-буфер-С                 | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,3       | 1 пробирка |
| Полимераза (TaqF)           | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,03      | 1 пробирка |
| К+ STI-88                   | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,2       | 1 пробирка |
| К-                          | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,2       | 1 пробирка |
| ВКО-G                       | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 0,6       | 1 пробирка |
| ОКО                         | Прозрачная бесцветная жидкость                              | 1,2       | 1 пробирка |

Комплект реагентов рассчитан на проведение 55 реакций амплификации, включая контроли.

Реагенты комплекта упакованы отдельно в соответствии с температурой хранения (см. раздел «Хранение»). Комплект реагентов состоит из 2-х частей: 1) температура хранения от 2 до 8 °С; 2) температура хранения от минус 24 до минус 16 °С.

## ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- Экстракция ДНК из исследуемых образцов.
- Проведение амплификации с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».
- Анализ и интерпретация результатов.

## ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Для экстракции ДНК используется набор реагентов «ДНК-сорб-С-М». Порядок работы с комплектом реагентов «ДНК-сорб-С-М» смотрите в инструкции к используемому комплекту для экстракции.

Объемы реагентов и образцов при экстракции с помощью комплекта реагентов «ДНК-сорб-С-М»:

Экстракция ДНК из каждого исследуемого образца и контролей проводится в присутствии внутреннего контрольного образца – **ВКО-Г**.

Объем ВКО – **10 мкл** в каждую пробирку.

Объем исследуемого образца для продуктов жидкой консистенции, суспензии – **100 мкл**, для гомогенатов – **30-100 мг** (что соответствует объему 30-50 мкл в градуированной пробирке емкостью 1,5 мл).

Каждый исследуемый образец рекомендуется тестировать в двух повторах.

В пробирку отрицательного контроля экстракции (ОК) внести **100 мкл ОКО**.

Объем элюции – **50 мкл**.

## АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

### А. Подготовка проб для амплификации

Выбор пробирок для проведения ПЦР зависит от используемого амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

Для внесения в пробирки реагентов, проб ДНК и контрольных образцов используются одноразовые наконечники с фильтрами.

Общий объем реакции – **25 мкл**, объем пробы ДНК – **10 мкл**.

1. Разморозить необходимое количество пробирок с ПЦР-

**смесью-FL Планта-контроль**, перемешать на вортексе и сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.

2. Для проведения N реакций смешать в отдельной пробирке **ПЦР-смесь-FL Планта-контроль**, **ПЦР-буфер-С** и полимеразу (**TaqF**) из расчета на каждую реакцию:

- **10 мкл ПЦР-смеси-FL Планта-контроль**;
- **5 мкл ПЦР-буфера-С**;
- **0,5 мкл полимеразы (TaqF)**.

3. Перемешать **смесь** на вортексе, осадить кратковременным центрифугированием и внести по **15 мкл** в пробирки на 0,2 мл.

4. Используя наконечник с фильтром, в подготовленные пробирки добавить по **10 мкл ДНК** исследуемых образцов.

**ВНИМАНИЕ!** При добавлении проб ДНК, экстрагированной с помощью комплектов реагентов для проведения экстракции методом сорбции на силикагеле, необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь.

5. Поставить контрольные реакции:

- а) **отрицательный контроль ПЦР (К–)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл К–**.
- б) **положительный контроль ПЦР (К+)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл К+ STI-88**.
- в) **отрицательный контроль экстракции (ОК)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл** пробы, экстрагированной из ОКО.

### **Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени» », анализ результатов**

Порядок работы с помощью приборов **Rotor-Gene 3000**, **Rotor-Gene 6000** (Corbett Research, Австралия) и **Rotor-Gene Q** (QIAGEN, Германия) смотрите в **Приложении 1**.

Порядок работы с помощью приборов **iCycler iQ5** и **iCycler iQ** (Bio-Rad, США) смотрите в **Приложении 2**.

Порядок работы с помощью прибора **«ДТ-96»** (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) смотрите в **Приложении 3**.

Порядок работы с помощью прибора **«АНК-16»/«АНК-32»** (ЗАО «Синтол», Россия) смотрите в **Приложении 4**.

## В. Интерпретация результатов

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала, свидетельствующего о накоплении продукта амплификации, по одному каналу:

Таблица 2

|                      |           |
|----------------------|-----------|
| Канал для флуорофора | JOE       |
| Продукт амплификации | ДНК ВКО-G |

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции S-образной (сигмообразной) формы с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла  $C_t$  в соответствующей графе в таблице результатов.

Принцип интерпретации результатов следующий:

Таблица 3

### Интерпретация результатов анализа исследуемых образцов

| Значение порогового цикла по каналу для флуорофора ( $C_t$ ) |                            |                            |                            | Результат                         |
|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------------|
| JOE  |                            |                            |                            |                                   |
| Rotor-Gene 3000/6000, Rotor-Gene Q                           | iCycler iQ, iQ5            | «ДТ-96»                    | «АНК-16», «АНК-32»         |                                   |
| отсутствует или $C_t > 32$                                   | отсутствует или $C_t > 35$ | отсутствует или $C_t > 35$ | отсутствует или $C_t > 32$ | ДНК ВКО-G<br><b>НЕ обнаружена</b> |
| $C_t \leq 32$  | $C_t \leq 35$              | $C_t \leq 35$              | $C_t \leq 32$              | ДНК ВКО-G <b>обнаружена</b>       |

Отрицательный результат амплификации ДНК ВКО-G может быть обусловлен недостаточно качественным проведением операций при экстракции ДНК, а также недостаточной очисткой препарата ДНК, полученного после этапа экстракции, от примесных веществ-ингибиторов (полисахариды, липиды, протеины, фенолы, соли). Влияние ингибиторов может быть устранено путем разбавления экстрагированного препарата ДНК в 5 раз, используя в качестве разбавителя  $K^-$ .

Для разбавления отобрать 10 мкл выделенного препарата ДНК в чистую пробирку и добавить 40 мкл  $K^-$ , полученный раствор используется далее для повторного проведения ПЦР с помощью набора реагентов АмплиСенс® Плант-контроль-FL. Если данная процедура не оказала заметного влияния на устранение ингибирования, а также, если на этапе экстракции

были допущены ошибки, следует повторить экстракцию с добавлением ВКО-G с последующим тестированием с помощью набора реагентов АмплиСенс® Плант-контроль-FL.

Препарат ДНК, полученный путем разведения или повторной экстракции, в котором обнаружена ДНК ВКО-G при тестировании с помощью набора реагентов АмплиСенс® Плант-контроль-FL, может быть использован для последующего проведения всех этапов анализа ГМО.

**Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для контролей этапов экстракции и амплификации ДНК в соответствии с табл. 4.**

Таблица 4

**Результаты для контролей различных этапов ПЦР-исследования**

| Контроль | Контролируемый этап ПЦР-исследования | Значение порогового цикла по каналу для флуорофора (Ct) |                 |             |                    |
|----------|--------------------------------------|---|-----------------|-------------|--------------------|
|          |                                      | JOE   |                 |             |                    |
|          |                                      | Rotor-Gene 3000/6000, Rotor-Gene Q                      | iCycler iQ, iQ5 | «ДТ-96»     | «АНК-16», «АНК-32» |
| OK       | Экстракция ДНК                       | Ct < 30   | Ct < 33         | Ct < 33     | Ct < 30            |
| K-       | ПЦР                                  | отсутствует   | отсутствует     | отсутствует | отсутствует        |
| K+       | ПЦР                                  | Ct < 30   | Ct < 33         | Ct < 33     | Ct < 30            |

**Возможные ошибки:**

1. Для положительного контроля ПЦР (K+) значение порогового цикла (Ct) по каналу для флуорофора JOE отсутствует или превышает граничное значение. Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов, в которых не обнаружена специфическая ДНК.
2. Для отрицательного контроля ПЦР (K-) по каналу для флуорофора JOE определено значение порогового цикла (Ct). Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить амплификацию и детекцию для всех образцов, в которых обнаружена специфическая ДНК.

## **СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ**

**Срок годности.** 15 мес. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов, если в инструкции не указано иное.

**Транспортирование.** Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств.

### **Хранение.**

Форма 1. «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F хранить при температуре от 2 до 8 °С, кроме ПЦР-смеси-FL Плант-контроль, ПЦР-буфера-С и полимеразы (TaqF). ПЦР-смесь-FL Плант-контроль, ПЦР-буфер-С и полимеразу (TaqF) хранить при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь-FL Плант-контроль хранить в защищенном от света месте.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

## **ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ**

Изготовитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик набора реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора реагентов направлять по адресу 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А, e-mail: obtk@pcr.ru<sup>3</sup>.

---

<sup>3</sup> Отзывы и предложения о продукции «АмплиСенс» вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: [www.amplisens.ru](http://www.amplisens.ru).

## СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ

**REF**

Номер по каталогу



Осторожно!  
Обратитесь к инструкции по применению Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов

**LOT**

Код партии



**RUO**

Только для исследовательских и иных немедицинских целей



Использовать до

**VER**

Дата изменения



Обратитесь к инструкции по применению



Температурный диапазон



Не допускать воздействия солнечного света



Изготовитель



Дата изготовления



## ПРИЛОЖЕНИЕ 1

### ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ И АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ С ПОМОЩЬЮ ПРИБОРОВ Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия) и Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия)

Для работы с прибором Rotor-Gene 3000 следует использовать программу Rotor-Gene версии 6, с прибором Rotor-Gene 6000 и Rotor-Gene Q – программу Rotor-Gene 6000 версии 1.7 (build 67) или выше.

Далее по тексту термины, соответствующие разным версиям приборов и программного обеспечения, указаны в следующем порядке: для прибора Rotor-Gene 3000 / для англоязычной версии программы Rotor-Gene 6000/Q / для русскоязычной версии программы Rotor-Gene 6000/Q.

#### Проведение амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала

1. Включить прибор, запустить программу Rotor-Gene.
2. Поместить подготовленные для проведения ПЦР пробирки в ротор амплификатора, начиная с ячейки номер 1 (ячейки ротора пронумерованы, эти номера используются в дальнейшем для программирования положения проб в амплификаторе), установить ротор в прибор, закрыть крышку.

**ВНИМАНИЕ!** Лунка 1 обязательно должна быть заполнена какой-либо исследуемой пробиркой (*не пустой*).

3. Запрограммировать прибор согласно инструкции изготовителя прибора.
4. Нажать кнопку **New/Новый** в основном меню программы. Для создания шаблона в открывшемся окне **New Run/Новый тест** следует выбрать вкладку **Advanced/Детальный мастер**.
5. Во вкладке выбрать шаблон запуска эксперимента **TwoStep/Hidrolysis Probes/Двухшаговый цикл**. Нажать кнопку **New/Новый**.
6. В открывшемся окне выбрать ротор на 36 лунок **36-Well Rotor/36-луночный ротор** (или на **72 лунки 72-Well Rotor/72-луночный ротор**) и поставить галочку напротив

- позиции **No Domed 0,2ml Tubes / Locking Ring Attached/Кольцо закреплено**. Нажать кнопку **Next/Далее**.
7. В открывшемся окне задать оператора и выбрать объем реакционной смеси: **Reaction volume/Объем реакции – 25 мкл**. Установить галочку напротив позиции **15 µl oil layer volume/15 µL с добав. воска**. Нажать кнопку **Next/Далее**.
8. В окне **New Run Wizard/Мастер Нового Теста** необходимо задать температурный профиль эксперимента. Для этого нажать кнопку **Edit profile/Редактор профиля** и задать программу амплификации:

| Цикл                  | Температура, °C | Время  | Измерение флуоресценции | Количество циклов |
|-----------------------|-----------------|--------|-------------------------|-------------------|
| Hold/Удерж. темп-ры   | 95              | 15 мин | –                       | 1                 |
| Cycling1/Циклирование | 95              | 10 с   | –                       | 40                |
|                       | 59              | 60 с   | JOE/Yellow              |                   |

9. Нажать дважды кнопку **OK/Да**.
10. В окне **New Run Wizard/Мастер Нового Теста** нажать кнопку **Calibrate/Gain Optimisation.../Опт.уровня сигн**. В открывшемся окне **Auto Gain Calibration Setup/Автоматизация уровня сигнала** нажать кнопку **Calibrate Acquiring/Optimise Acquiring/Опт. Детек-мых**, пометить галочкой бокс в строке **Perform Calibration Before 1<sup>st</sup> Acquisition/Perform Optimisation Before 1<sup>st</sup> Acquisition/Выполнить оптимизацию при 1-м шаге детекции**. Для всех красителей нужно указать в графе **Min Reading/Миним. Сигнал** значение **5**, а в графе **Max Reading/Максим. Сигнал** значение **10**. В графе **Tube position/Позиция Пробирки** указан номер пробирки, по которой будет автоматически выбран параметр **gain/усиление сигнала**, по умолчанию это 1-я пробирка в роторе. Поэтому в 1-ой позиции в роторе должна ставиться пробирка с реакционной смесью. Закрыть окно **Auto Gain Calibration Setup/Автоматизация уровня сигнала**, нажав кнопку **Close/Заккрыть**.
11. Нажать кнопку **Next/Далее**, запустить амплификацию кнопкой **Start run/Старт**.

12. Дать название эксперимента и сохранить его на диске (в этом файле будут автоматически сохранены результаты данного эксперимента).

В процессе работы амплификатора или по окончании его работы необходимо запрограммировать положение пробирок в роторе. Для этого надо использовать кнопку **Edit samples/Правка образцов** (в нижней правой части основного окна). Все исследуемые образцы и контроли обозначить как **Unknown/Образец**.

## Анализ результатов

### Анализ результатов амплификации (канал JOE/Yellow):

1. Нажать в меню кнопку **Analysis/Анализ**, выбрать режим анализа **Quantitation/Количественный**, нажать кнопку **Cycling A. JOE/Cycling A. Yellow, Show/Показать**.
2. Выбрать линейную шкалу графического изображения результатов, нажав кнопку **Linear scale/Линейная шкала**, в нижней части окна справа (если эта шкала активна по умолчанию, вместо кнопки **Linear scale/Линейная шкала** видна кнопка **Log scale/Лог.шкала**).
3. Отменить автоматический выбор уровня пороговой линии **Threshold/Порог**.
4. В меню основного окна **Quantitation analysis/Количественный анализ** должна быть активирована кнопка **Dynamic tube/Динамич.фон** и **Slope Correct/Коррек. уклона**.
5. В меню **CT Calculation/Вычисление СТ** (в правой части окна) выставить уровень пороговой линии **Threshold/Порог = 0.1**.
6. Выбрать параметр **More settings/Outlier Removal/Устранение выбросов** и установите значение порога отрицательных проб (**NTC threshold/Порог Фона – ПФ (NTC)**) равным **10 %**.
7. В таблице результатов (окно **Quant. Results/Количественные Результаты**) появятся значения **Ct**.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2

### ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ И АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ С ПОМОЩЬЮ ПРИБОРОВ iCycler iQ и iCycler iQ5 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США)

#### Проведение амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала

1. Включить прибор и блок питания оптической части прибора. Проводить измерения не менее, чем через 30 мин после включения оптической части прибора.
2. Открыть программу iCycler.
3. Задать схему планшета – расположение пробирок в модуле и измерение флуоресцентного сигнала во всех пробирках:
  - Для прибора **iCycler iQ5** в окне **Selected Plate Setup** модуля **Workshop** нажать кнопку **Create New** или **Edit**. Редактировать схему планшета в режиме **Whole Plate loading**. В опции **Select and load Fluorophores** задать измерение флуоресцентного сигнала во всех пробирках по каналу **JOE**. Задать объем реакции (**Sample Volume**) 25 мкл, тип крышек (**Seal Type**): **Domed Cap**, тип пробирок (**Vessel Type**): **Tubes**. Сохранить заданную схему планшета, нажав кнопку **Save&Exit Plate Editing**.
  - Для прибора **iCycler iQ** отредактировать схему планшета в окне **Edit Plate Setup** модуля **Workshop**. Для этого в опции **Samples: Whole Plate Loading** задать схему расположения образцов в реакционном модуле и указать имя каждой пробы в окне **Sample Identifier**. В опции **Select and load Fluorophores** задать измерение флуоресцентного сигнала во всех пробирках по каналу **JOE-530**. Сохранить схему планшета, задав имя файла в окне **Plate Setup Filename** (с расширением .pts) и нажав кнопку **Save this plate setup** (в верхней части экрана). Можно редактировать уже использованный ранее **Plate Setup**, для этого в окне **Library** открыть **View Plate Setup**, выбрать нужный **Plate Setup** (файл с расширением .pts) и нажать кнопку **Edit** справа. Отредактированный файл нужно также сохранить перед использованием. Назначить использование данной схемы планшета, нажав кнопку **Run with selected protocol**.

4. Задать программу амплификации:

| Этап                 | Температура, °C | Время  | Измерение флуоресценции | Количество циклов |
|----------------------|-----------------|--------|-------------------------|-------------------|
| Hold/Удерж. темп-ры  | 95              | 15 мин | –                       | 1                 |
| Cycling/Циклирование | 95              | 15 с   | –                       | 42                |
|                      | 59              | 60 с   | JOE/JOE-530             |                   |

- Для прибора **iCycler iQ5** в окне **Selected Protocol** модуля **Workshop** нажать кнопку **Create New** или **Edit**. Задать параметры амплификации и сохранить протокол, нажав кнопку **Save&Exit Protocol Editing**. При последующих постановках можно выбрать файл с этой программой в блоке **Protocol** (по умолчанию файлы протоколов сохраняются в папке **Users**).
  - Для прибора **iCycler iQ** выбрать опцию **Edit Protocol** модуля **Workshop**. Задать параметры амплификации (количество циклов, время и температуру циклирования), а в окне справа указать шаг считывания флуоресцентного сигнала: **Cycle 3 – Step 2**. Сохранить протокол, задав имя файла в окне **Protocol Filename** (например, GMO.tmo) и нажав кнопку **Save this protocol** (в верхней части экрана). При последующих постановках можно выбрать файл с этой программой в закладке **View Protocol** в модуле **Library**. Выбрав или отредактировав нужную программу, назначить ее использование, нажав кнопку **Run with selected plate setup**.
5. Поместить предварительно подготовленные для проведения ПЦР пробирки в модуль в соответствии с заданной схемой.
6. Запустить выполнение выбранной программы с заданной схемой планшета.
- Для прибора **iCycler iQ5** перед запуском выполнения программы следует проверить правильность выбранного протокола (**Selected Protocol**) и схемы планшета (**Selected Plate Setup**). Для запуска нажать кнопку **Run**. Выбрать для измерения факторов лунок вариант **Collect Well Factors from Experimental Plate**. Нажать кнопку **Begin Run**, дать название эксперимента (в этом файле будут

автоматически сохранены результаты данного эксперимента) и нажать **OK**.

- Для прибора **iCycler iQ** перед запуском выполнения программы в окне **Run Prep** следует проверить правильность выбранного имени протокола и схемы планшета. Выбрать для измерения факторов лунок вариант **Experimental Plate** в меню **Select well factor source**. Задать объем реакционной смеси в окне **Sample Volume** – 25 мкл. Для запуска нажать кнопку **Begin Run**, дать название эксперимента (в этом файле будут автоматически сохранены результаты данного эксперимента) и нажать **OK**.

7. После окончания программы приступить к анализу результатов.

### Анализ результатов

1. Запустить программу и открыть файл с результатами эксперимента. Для этого:
  - Для прибора **iCycler iQ5** выбрать нужный файл с данными анализа в окне **Data File** модуля **Workshop** и нажать кнопку **Analyze**.
  - Для прибора **iCycler iQ** в модуле **Library** активировать окно **View Post-Run Data**. В окне **Data Files** выбрать нужный файл с данными анализа и нажать кнопку **Analyze Data**.
2. Анализ результатов проводить по каналу JOE.
3. В режиме анализа данных **PCR Base Line Subtracted Curve Fit** (выбирается по умолчанию) установить пороговую линию, двигая ее курсором при нажатой левой кнопке мыши, на уровне **5-10%** от максимального значения флуоресцентного сигнала образца **K+**. При этом пороговая линия должна пересекать только S-образные кривые накопления сигнала положительных образцов и контролей на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции, переходящего в линейный подъем и не пересекать базовую линию.  
Примечание – Чтобы выделить график образца «K+» (или другого желаемого образца) установить курсор в схеме планшета, либо в таблице результатов.

4. Нажать кнопку **PCR Quant** (iCycler iQ) или кнопку **Results** (iCycler iQ5) и вывести на экран таблицу результатов со значениями *C<sub>t</sub>*.

### ПРИЛОЖЕНИЕ 3

## ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ И АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИ ПОМОЩИ ПРИБОРА «ДТ-96», ДТ-prime (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия)

### Проведение амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала

1. Включить прибор, запустить программу RealTime\_PCR v.7.3 или выше, запрограммировать прибор согласно инструкции изготовителя прибора. В стартовом окне необходимо выбрать существующего оператора или добавить нового оператора и выбрать режим **Работа с прибором**.
2. В диалоговом окне **Список приборов** выбрать необходимый прибор и нажать кнопку **Подключить**.
3. В меню **Тест** выбрать команду **Создать/Редактировать тест**, ввести название нового теста – например, «Плант-контроль» – и нажать кнопку **ОК**. В появившемся окне **Тест** задать следующие параметры:
  - **Тип – качественный.**
  - **Метод – Пороговый (Ct).**
  - **Пробирки –** отметить галочкой **образец, контроль +, контроль –.**
  - **Контроли: положительный (K+) – 1 , отрицательный (K-) – 1.**
  - **Объем рабочей смеси в пробирке – 25 мкл.**
  - **Флуорофоры – R6G –** специфика (канал R6G выбрать из выпадающего списка, заменив канал HEX, выставленный по умолчанию).
  - **Задать программу амплификации.** Для этого в окне **Тест** нажать кнопку **Создать новую программу**, задать параметры амплификации и сохранить шаблон, нажав кнопку **ОК**. Ввести имя файла, нажать кнопку **Сохранить**.

| Этап                 | Температура, °C | Время  | Измерение флуоресценции | Кол-во циклов |
|----------------------|-----------------|--------|-------------------------|---------------|
| Hold/Удерж. темп-ры  | 95              | 15 мин | –                       | 1             |
| Cycling/Циклирование | 95              | 10 с   | –                       | 40            |
|                      | 59              | 60 с   | R6G                     |               |




4. В окне **Тест** нажать кнопку **ОК**.
5. Выбрать вкладку **Протокол**. Нажать кнопку **Добавить тест** и в появившемся окне выбрать название «Плант-контроль», указать количество образцов и нажать **ОК**.
6. Присвоить имена образцам в графе **Идентификатор** появившейся таблицы. Указать расположение пробирок в рабочем блоке прибора, поставив галочку напротив функции **Свободное заполнение**, сняв предварительно галочку с функции **Автозаполнение**. Нажать кнопку **Применить**.
7. В открывшейся вкладке **Запуск программы амплификации**, указать **объем рабочей смеси – 25 мкл** и нажать кнопку **Запуск программы**.
8. Нажать кнопку **Открыть блок** и установить пробирки в строгом соответствии с указанным расположением пробирок в рабочем блоке прибора.

**ВНИМАНИЕ!** Следите за тем, чтобы на стенках пробирок не оставалось капель, так как падение капли в процессе амплификации может привести к сбою сигнала и усложнить анализ результатов. Не переворачивать пробирки (стрипы) при установке в прибор.

9. Последовательно нажать кнопки **Заккрыть блок** и **Запуск программы**. Сохранить эксперимент. Поставить при необходимости галочку **Выключить прибор по завершении амплификации**.

### Анализ результатов

1. Открыть сохраненный файл с данными анализа.
2. Указать в выпадающем списке **Тип анализа: Ct(Cp) для всех каналов (Мультиплекс для версии программы v.7.5. и выше)**.
3. Указать в выпадающем списке **Метод: Пороговый (Ct)**.
4. Нажать кнопку **Изменить параметры анализа**  и выставить:
  - **Критерий положительного результата ПЦР – 90 %**,
  - **Величина Threshold – 10 StD на участке линейного фитирования**
  - **Критерии достоверности результата:** поставить галочку, **нижняя граница/порог положительного результата – 10 %**, **верхняя граница/порог**

**нормализации данных – 10 %.**

- **Нормализация данных** – не использовать (по умолчанию галочка в соответствующем окне отсутствует).

Нажать кнопку **Применить**.

5. Для каждого канала проверить правильность автоматического выбора пороговой линии. Пороговая линия (**Threshold**) должна пересекать только S-образные (сигмообразные) кривые накопления сигнала положительных образцов и контролей на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции, переходящего в линейный подъем и не пересекать базовую линию. В случае если это не так, необходимо установить пороговую линию вручную на уровне **5-10 %** от максимального уровня флуоресценции, полученного для образца **K+** в последнем цикле амплификации.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 4

### ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ И АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРИБОРОВ «АНК-16» и «АНК-32» (ЗАО «Синтол», Россия)

1. Включить прибор в соответствии с инструкцией по эксплуатации. Запустить программу **ПЦР**. Нажать клавишу **Активация** для прогрева крышки прибора. Время прогрева прибора составляет 15-20 минут. Запрограммировать прибор согласно инструкции изготовителя прибора.
2. Выбрать пункт меню **Циклический**. В появившемся окне при нажатой (неактивной) кнопке **Редактировать таблицу** задать программу амплификации:

| Цикл | Номер ступени | Температура, °С | Время | Количество циклов |
|------|---------------|-----------------|-------|-------------------|
| 1    | 1             | 95              | 900 с | 1                 |
| 2    | 2             | 95              | 15 с  | 40                |
|      | 3             | 59              | 60 с  |                   |

3. Температура и время каждого шага/ступени амплификации устанавливаются в нижней половине окна, с помощью клавиатуры или бегунков. После установки каждого значения необходимо нажать кнопку **Заменить**. Для изменения количества шагов используются кнопки **Добавить**, **Удалить** и **Вставить**.
4. Для установки количества циклов в окне **Циклический** нажать кнопку **Установить параметры циклов**. В появившемся окне установить следующие значения **Начало – шаг 2, Конец – шаг 3, Количество циклов – 40** и нажать кнопку **Применить**.
5. В том же окне (**Циклический**) нажать кнопку **Красители** и в появившемся списке отметить используемый канал детекции (**R6G**), затем нажать **ОК**.
6. Для сохранения программы амплификации в окне **Циклический** выбрать **Сохранить**. В открывшемся окне выбрать **Создать пользователя** или выбрать пользователя из списка в левом верхнем углу. При создании пользователя задать имя пользователя и нажать **ОК**. Отметив в списке имя пользователя, нажать **Сохранить**. В

появившемся окне ввести название программы (метода) и нажать **ОК**.

#### Запуск амплификации.

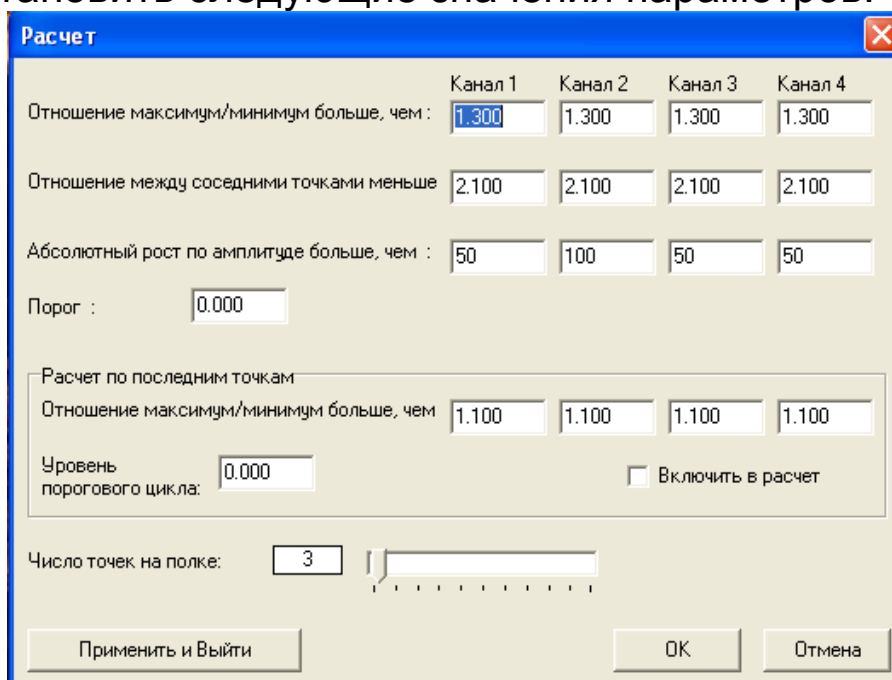
1. Для запуска ранее созданной программы в окне **Циклический** выбрать **Загрузить**, далее - соответствующего пользователя в левой части окна и название программы (метода) в правой, далее нажать **Загрузить**.
2. В окне **Циклический** нажать кнопку **Сведения об образцах**. Задать названия образцов, используя строку ввода в правой части и кнопку **Задать** (над строкой ввода). С помощью функции **Кратность** можно указать число повторов одного образца (не более 3-х) для автоматического заполнения строк таблицы одноименными названиями. Тип всех образцов (список в правом верхнем углу) указывается, как **ИО** (испытуемый образец); этот тип образцов используется по умолчанию. Необходимо задать названия образцов для каждого используемого канала в отдельности, переключая вкладки каналов слева вверху окна. После заполнения таблицы нажать **ОК**.
3. Открыть крышку прибора и установить пробирки с выпуклыми крышками в соответствующие ячейки, закрыть и завинтить крышку.

**ВНИМАНИЕ!** Следите за тем, чтобы на стенках пробирок не оставалось капель, так как падение капли в процессе амплификации может привести к сбою сигнала и усложнить анализ результатов. Не переворачивайте пробирки (стрипы) при установке в прибор.

4. Проверить правильность заданной программы и нажать **Старт** для запуска теста.
5. При появлении окна **Проверка времени измерения**, выбрать **2**, нажать **ОК**. После этого программа амплификации начнёт выполняться.
6. После завершения амплификации перейти к анализу результатов.

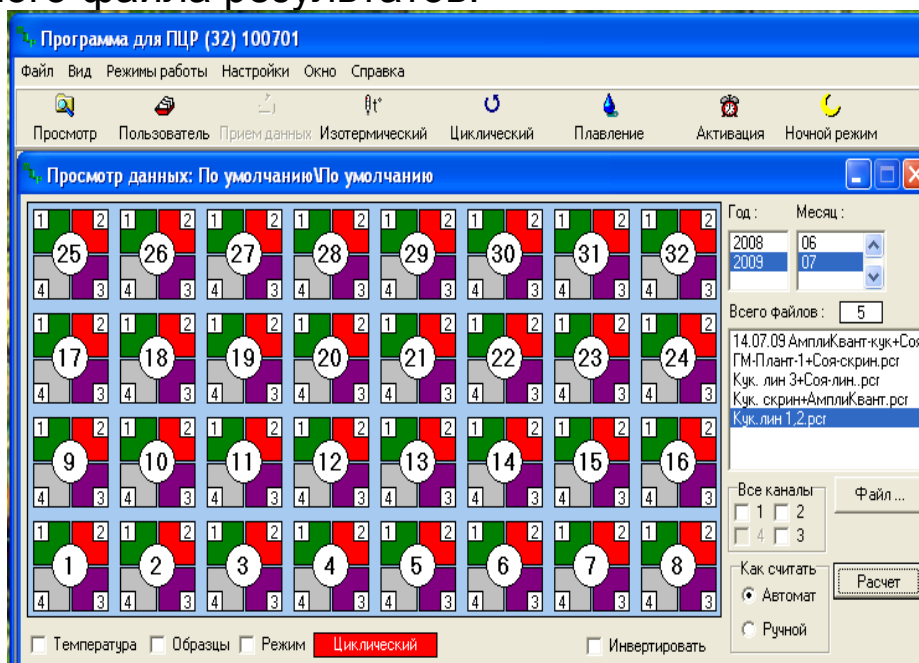
## Анализ результатов

1. В меню **Настройки** выбрать пункт **Расчет**. В открывшемся окне установить следующие значения параметров:



После установки параметров нажать **OK**. Данные установки сохранятся при следующем запуске программы **ПЦР**.

2. Нажать кнопку **Просмотр**. В правой части окна выбрать год и месяц данной постановки, ниже из списка выбрать имя искомого файла результатов.



3. В окне **Просмотр данных** отметить галочкой пункт **Режим**. В появившемся окне в пункте **Номер ступени для расчета** выставить значение **3** (если выставлено другое значение). Заккрыть окно **Режим**.
4. В окне **Просмотр данных** выставить режим **Автомат**, если он не выбран, далее нажать кнопку **Расчет**. Появится окно с нормированными графиками и значениями пороговых циклов для всех ячеек по всем использованным каналам детекции. Для перехода на другую страницу нажать на кнопку с цифрой (соответствующей номеру первой показываемой в списке образцов ячейки) в верхнем правом углу окна.

**Лист вносимых изменений**

| <b>Редакция</b> | <b>Место внесения изменений</b>                                       | <b>Суть вносимых изменений</b>   |
|-----------------|---|--|
| 08.09.12<br>IV  | Титульная страница  | Замена символа «Изделие для in vitro диагностики» на символ «Только для исследовательских целей»   |
|                 | Символы, используемые в печатной продукции                            |  |
| 29.01.15<br>ChA | Титульный лист  | Для символа <b>RUO</b> добавлена надпись «Только для научно-исследовательских целей»   |
|                 | Срок годности. Условия транспортирования и хранения                   | Изменен адресат для направления рекламаций   |
|                 | Символы, используемые в печатной продукции                            | Для символа <b>RUO</b> изменена фраза с «Только для исследовательских целей» на «Только для научно-исследовательских целей»  |
| 04.02.15<br>PM  | Титульный лист  | Для символа <b>RUO</b> изменена надпись «Только для научно-исследовательских целей» на «Только для исследовательских и иных немедицинских целей»                     |
|                 | Символы, используемые в печатной продукции                            |  |
| 27.12.17<br>DV  | Нижний колонтитул   | Добавлен каталожный номер для Формы 1 <b>REF</b> G-2961-1  |
| 20.02.19<br>PM  | По тексту   | Изменено форматирование текста   |
| 15.03.19<br>PM  | Срок годности. Условия транспортирования и хранения                   | Срок годности изменен на 15 месяцев  |
| 23.01.20<br>VA  | Гарантийные обязательства изготовителя                                | Раздел добавлен  |
|                 | Срок годности. Условия транспортирования и хранения                   | Удалена фраза о разуконплектации набора реагентов  |
| 22.04.20<br>MM  | Титульный лист  | Добавлена фраза «Только для исследовательских и иных немедицинских целей»  |
|                 | Назначение  | Добавлена фраза «не является медицинским изделием»   |
| 08.10.20<br>MA  | Аналитические характеристики Аналитическая чувствительность           | Комплект для экстракции «ДНК-сорб-С» заменен на «ДНК-сорб-С-М»   |
|                 | Дополнительные материалы и оборудование                               |  |
|                 | Экстракция днк из исследуемых образцов                                |  |
| 25.12.20<br>MM  | Принцип метода  | Добавлена информация об УДГ, добавлена таблица с мишенями, переработан в соответствии с шаблоном.  |
|                 | Формы комплектации  | Удалена оптовая форма  |
|                 | Аналитические характеристики, Дополнительные материалы и оборудование | Правки по шаблону  |
|                 | Меры предосторожности   | Раздел переработан в соответствии с шаблоном   |
|                 | Сведения об утилизации  | Добавлен раздел  |
|                 | Состав  | ПЦР-буфер-Flu (0,35 мл) переименован на ПЦР-буфер-С (0,3 мл); изменен объем реагента полимераза (TaqF) с 0,035 мл на 0,03 мл; ПКО STI-88 (0,1 мл) переименован на K+ |

|                |   |  |
|----------------|---|--|
|                |   | STI-88 (0,2 мл); TE-буфер (0,5 мл) переименован на К- (0,2 мл); переименован ВКО STI-87 (1,0 мл) на ВКО-G (0,6 мл); изменен объем ОКО с 1,6 мл на 1,2 мл.  |
|                | Интерпретация результатов   | Добавлена таблица 3 Интерпретация результатов анализа исследуемых образцов   |
|                | Приложение 1. Расчетная таблица приготовления реакционных смесей для проведения амплификации  | Приложение удалено   |
|                | Приложение 1<br>Проведение амплификации и анализ результатов с помощью приборов Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия) и Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия) | Приложения добавлены   |
|                | Приложение 2<br>Проведение амплификации и анализ результатов с помощью приборов iCycler iQ и iCycler iQ5 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США)                  |  |
|                | Приложение 3<br>Проведение амплификации и анализ результатов при помощи прибора «ДТ-96», ДТ-prime (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия)  |  |
|                | Приложение 4<br>Проведение амплификации и анализ результатов при использовании приборов «АНК-16» и «АНК-32» (ЗАО «Синтол», Россия)  |  |
| 29.04.21<br>VA | Сведения об утилизации  | СанПиН 2.1.7.2790-10 заменен на СанПиН 2.1.3684-21   |
|                | По тексту   | Изменено название смеси с ПЦР-смесь-1-FRT Плант-контроль на ПЦР-смесь-FL Плант-контроль  |
|                | Состав  | Изменено: ПЦР-смесь-1-FRT Плант-контроль на ПЦР-смесь-FL Плант-контроль, прозрачная бесцветная жидкость на прозрачную жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета, объем смеси с 0,11 мл на 0,6 мл и количество пробирок с 6 на 1 |