

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

ВКЛАДЫШ
к набору реагентов
«АмплиСенс® *HHV6*-скрин-титр-FL»

Формат FRT Форма 1 **REF** TR-V10-T(RG,iQ,Mx); **REF** НК1-0941-1-1

Форма 2 **REF** R-V10-T(RG,iQ,Mx); **REF** Н-0942-1-1

LOT

Настройки для приборов роторного типа

Rotor-Gene 3000, Rotor-Gene 6000, Rotor-Gene Q

Канал	Calibrate / Gain Optimisation... / Опт.уровня сигн.	Threshold / Порог	Dynamic tube / Динамич.фон	Slope Correct / Коррект. уклона	More Settings/ Outlier Removal/Устранение выбросов
FAM/Green	от 5FI до 10FI	0,03	включена	включена	10 %
JOE/Yellow	от 5FI до 10FI	0,03	включена	включена	10 %

Настройки для приборов планшетного типа

iCycler iQ5

Канал	Threshold/Порог
FAM, JOE/HEX	Для каждого канала проверить правильность автоматического выбора пороговой линии. В норме пороговая линия должна пересекать только сигмообразные кривые накопления сигнала положительных образцов и контролей и не пересекать базовую линию. В случае если это не так, повысить уровень порога, и в логарифмической шкале установить пороговые линии на таком уровне, где кривые флуоресценции носят линейный характер и не пересекают кривых отрицательных образцов

Mx3000P, Mx3005P

Канал	Threshold/Порог
FAM, JOE/HEX	В поле Threshold fluorescence убедиться, что галочки стоят напротив двух флуоресцентных каналов: JOE/HEX и FAM. Проверить правильность автоматического выбора пороговой линии. В норме пороговая линия должна пересекать только сигмообразные кривые накопления сигнала положительных образцов и контролей и не пересекать базовую линию. В случае если это не так, повысить уровень порога

CFX 96

Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C/sec.**

Канал	Threshold/Порог
FAM, HEX	Для каждого канала отметить галочкой Log Scale и установить уровень пороговой линии на 10-20 % от максимального уровня флуоресценции образцов ПКО в последнем цикле амплификации. При этом кривая флуоресценции ПКО должна пересекать пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции, переходящего в линейный подъем

«ДТ-96»

Тип анализа	Метод	Каналы	Критерий положительного результата ПЦР	Нижняя граница/порог положительного результата	Верхняя граница/порог нормализации данных	Нормализация данных	Фитирование (сглаживание) данных
St(Cp) для всех каналов	Порог о-вый (Ct)	Fam, Hex	90 %	10	10	Не использовать	Отключить

Примечание – пороговая линия (*Threshold*) должна пересекать только S-образные (сигмообразные) кривые накопления сигнала положительных образцов и контролей и не пересекать базовую линию. Если это не так, то вручную установить пороговую линию (*Threshold*) для каждого канала на уровне 10-20 % от максимального уровня флуоресценции, полученного для положительного контроля в последнем цикле амплификации.

Продолжение см. на обороте

ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

ВКЛАДЫШ
к набору реагентов
«АмплиСенс® *HHV6*-скрин-титр-FL»

Формат FRT Форма 1 **REF** TR-V10-T(RG,iQ,Mx); **REF** НК1-0941-1-1

Форма 2 **REF** R-V10-T(RG,iQ,Mx); **REF** Н-0942-1-1

LOT

Настройки для приборов роторного типа

Rotor-Gene 3000, Rotor-Gene 6000, Rotor-Gene Q

Канал	Calibrate / Gain Optimisation... / Опт.уровня сигн.	Threshold / Порог	Dynamic tube / Динамич.фон	Slope Correct / Коррект. уклона	More Settings/ Outlier Removal/Устранение выбросов
FAM/Green	от 5FI до 10FI	0,03	включена	включена	10 %
JOE/Yellow	от 5FI до 10FI	0,03	включена	включена	10 %

Настройки для приборов планшетного типа

iCycler iQ5

Канал	Threshold/Порог
FAM, JOE/HEX	Для каждого канала проверить правильность автоматического выбора пороговой линии. В норме пороговая линия должна пересекать только сигмообразные кривые накопления сигнала положительных образцов и контролей и не пересекать базовую линию. В случае если это не так, повысить уровень порога, и в логарифмической шкале установить пороговые линии на таком уровне, где кривые флуоресценции носят линейный характер и не пересекают кривых отрицательных образцов

Mx3000P, Mx3005P

Канал	Threshold/Порог
FAM, JOE/HEX	В поле Threshold fluorescence убедиться, что галочки стоят напротив двух флуоресцентных каналов: JOE/HEX и FAM. Проверить правильность автоматического выбора пороговой линии. В норме пороговая линия должна пересекать только сигмообразные кривые накопления сигнала положительных образцов и контролей и не пересекать базовую линию. В случае если это не так, повысить уровень порога

CFX 96

Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C/sec.**

Канал	Threshold/Порог
FAM, HEX	Для каждого канала отметить галочкой Log Scale и установить уровень пороговой линии на 10-20 % от максимального уровня флуоресценции образцов ПКО в последнем цикле амплификации. При этом кривая флуоресценции ПКО должна пересекать пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции, переходящего в линейный подъем

«ДТ-96»

Тип анализа	Метод	Каналы	Критерий положительного результата ПЦР	Нижняя граница/порог положительного результата	Верхняя граница/порог нормализации данных	Нормализация данных	Фитирование (сглаживание) данных
St(Cp) для всех каналов	Порог о-вый (Ct)	Fam, Hex	90 %	10	10	Не использовать	Отключить

Примечание – пороговая линия (*Threshold*) должна пересекать только S-образные (сигмообразные) кривые накопления сигнала положительных образцов и контролей и не пересекать базовую линию. Если это не так, то вручную установить пороговую линию (*Threshold*) для каждого канала на уровне 10-20 % от максимального уровня флуоресценции, полученного для положительного контроля в последнем цикле амплификации.

Продолжение см. на обороте

Граничные значения порогового цикла Ct

Образец	Приборы роторного типа		Приборы планшетного типа	
	Канал для флуорофора			
	FAM	JOE	FAM	JOE
OK	Ct отсутствует		Ct отсутствует	
ПК	30	26	35	31
К-	Ct отсутствует		Ct отсутствует	
К+	31	26	36	31
Исследуемые образцы	28	30	33	35

Характеристика ПКО

Серия	Диапазон концентраций ПКО ДНК <i>HHV6</i> и ДНК человека	
	копий ДНК на 10 ⁵ клеток	Ig копий ДНК на 10 ⁵ клеток

Характеристика калибраторов

	Серия	Коэффициент копий ДНК/проба
	KSG1	10000
	KSG2	100

Граничные значения порогового цикла Ct

Образец	Приборы роторного типа		Приборы планшетного типа	
	Канал для флуорофора			
	FAM	JOE	FAM	JOE
OK	Ct отсутствует		Ct отсутствует	
ПК	30	26	35	31
К-	Ct отсутствует		Ct отсутствует	
К+	31	26	36	31
Исследуемые образцы	28	30	33	35

Характеристика ПКО

Серия	Диапазон концентраций ПКО ДНК <i>HHV6</i> и ДНК человека	
	копий ДНК на 10 ⁵ клеток	Ig копий ДНК на 10 ⁵ клеток

Характеристика калибраторов

	Серия	Коэффициент копий ДНК/проба
	KSG1	10000
	KSG2	100

