

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов

АмплиСенс[®] ГМ соя-линии-2-FL

Только для исследовательских и иных немедицинских целей

АмплиСенс[®]



Федеральное бюджетное учреждение науки
«Центральный научно-исследовательский
институт эпидемиологии»,
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	4
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	5
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ.....	5
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	7
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА	9
ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ 1 («ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F).....	10
СОСТАВ.....	10
ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ.....	10
АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»	10
А. Подготовка пробирок для амплификации	10
Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени», анализ результатов	11
В. Интерпретация результатов	11
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ.....	13
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	13
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ.....	14
ПРИЛОЖЕНИЕ 1.....	15
ПРИЛОЖЕНИЕ 2.....	19
ПРИЛОЖЕНИЕ 3.....	23
ПРИЛОЖЕНИЕ 4.....	26

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
К+	- положительный контроль ПЦР
К-	- отрицательный контроль ПЦР
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	- Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
FRT	- флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов АмплиСенс[®] ГМ соя-линии-2-FL не является медицинским изделием. Набор реагентов предназначен для идентификации линий генетически модифицированной сои MON89788, CV127, MON87701 в продуктах питания и кормах для животных методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Набор реагентов рекомендуется использовать после обнаружения в исследуемых образцах ДНК сои с помощью набора реагентов производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Материалом для проведения ПЦР служат пробы ДНК, полученные ранее на этапе экстракции из исследуемого материала с использованием комплектов реагентов, рекомендованных Изготовителем.

ПРИНЦИП МЕТОДА

С полученными на этапе экстракции пробами ДНК проводится амплификация участков ДНК при помощи специфичных к этим участкам праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотиды, которые гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала. Детекция флуоресцентного сигнала осуществляется непосредственно в ходе ПЦР с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме

«реального времени».

Набор реагентов содержит систему защиты от контаминации ампликонами за счет применения фермента урацил-ДНК-гликозилазы (УДГ) и дезоксиуридинтрифосфата. Фермент УДГ распознает и катализирует разрушение цепей ДНК, содержащих дезоксиуридин, но не ДНК, содержащей дезокситимидин. Дезоксиуридин отсутствует в природной ДНК, но всегда присутствует в ампликонах, поскольку дезоксиуридинтрифосфат входит в состав смеси дНТФ в реагентах для амплификации. Дезоксиуридин делает контаминирующие ампликоны восприимчивыми к разрушению ферментом УДГ до начала амплификации ДНК-мишени, и, следовательно, они не могут быть в дальнейшем амплифицированы.

Фермент УДГ термолабилен и инактивируется при нагревании выше 50 °С и поэтому не разрушает ампликоны мишени, нарабатываемые в процессе ПЦР.

На этапе амплификации одновременно в одной пробирке проводятся 3 реакции амплификации. Результат амплификации ДНК регистрируется по трём различным каналам флуоресцентной детекции:

Таблица 1

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX
ДНК-мишень	MON89788	CV127	MON87701

ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ

Набор реагентов выпускается в 1 форме комплектации:

Форма 1

Включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F. Рассчитана на проведение 55 реакций амплификации, включая контроли.

Форма 1 предназначена для проведения амплификации и идентификации ДНК с гибридно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

<p>Аналитическая специфичность</p>	<p>Набор реагентов обнаруживает фрагменты ДНК линий генетически модифицированной сои MON89788, CV127, MON87701.</p> <p>Оценка аналитической специфичности набора реагентов показала отсутствие перекрестных реакций между ДНК линий генетически модифицированной сои MON89788, CV127, MON87701.</p> <p>Аналитическая специфичность набора реагентов доказана при исследовании ДНК не генномодифицированной сои и других растений, ДНК животных, а также с ДНК генномодифицированных линий <u>кукурузы</u> 3272, 4114, 5307, 59122, 98140, Bt11, Bt-176, DAS-40278-9, GA21, MIR162, MIR604, MON810, MON863, MON88017, MON89034, NK603, T25, TC1507, VCO-O1981-5; <u>соя</u> 305423, 40-3-2, A5547-127, A2704-12, DAS-68416-4, DAS-44406-6, DAS-81419-2, FG72, DP-356043, Syht0h2, <u>риса</u> LL62, <u>свеклы</u> H7-1, <u>картофеля</u> AM04-1020</p>
<p>Предел детекции, Limit of detection, LOD</p>	<p>10³ копий ДНК/мл для последовательностей ДНК-мишеней для идентификации линий сои MON89788, CV-127 и MON87701</p> <p>0,01% ГМ сои MON89788 в 100 нг соевой ДНК 0,01% ГМ сои CV-127 в 100 нг соевой ДНК 0,01% ГМ сои MON87701 в 100 нг соевой ДНК</p>

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 И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

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».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- 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 реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку¹, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

ВНИМАНИЕ! При удалении отходов после амплификации (пробирок, содержащих продукты ПЦР) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром².
- Посуда (ступки и пестики) и металлические инструменты (скальпели, ножницы, пинцеты, насадки для блендера и т.п.), использованные для приготовления проб, выдерживаются в растворе дезинфицирующего средства (например, 0,2% раствор натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты) в течение одного часа, моются водопроводной водой с поверхностно-активными моющими средствами и, после отмыwania в проточной и деионизованной воде, высушиваются в сухожаровом шкафу в течение 4 часов при температуре 180 °С.
- Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.
- Набор реагентов предназначен для одноразового применения для проведения ПЦР-исследования указанного количества проб (см. раздел «Состав»).

¹ Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

² Для удаления надосадочной жидкости в процессе экстракции используются одноразовые наконечники без фильтра.

- Набор реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять набор строго по назначению.
- Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка, или внешний вид реагента не соответствует описанию.
- Не использовать набор реагентов, если не соблюдались 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 и обратиться за медицинской помощью.

Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека

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

Специфические воздействия комплекта реагентов на организм человека

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Аmplификация с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации

1. Одноразовые полипропиленовые пробирки при работе с «ПЦР-комплексом» FRT-50 F:
 - а) одноразовые полипропиленовые 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 круглой или 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.
2. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
 3. 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).
 4. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) (например, «БАВ-ПЦР-«Ламинар-С.», ЗАО «Ламинарные системы», Россия, или аналогичный).
 5. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия, или аналогичный).
 6. Автоматические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
 7. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени», имеющий 3 или более независимых каналов флуоресцентной детекции (например, Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США) и другие рекомендованные Изготовителем).
 8. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
 9. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
 10. Емкость для сброса наконечников.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Материалом для проведения ПЦР служат пробы ДНК, полученные ранее на этапе экстракции из исследуемого материала, содержащие последовательность ДНК сои.

Допускается хранение образцов ДНК до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 2 до 8 °С – 1 неделя;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение года.

Перед началом работы следует ознакомиться с методическими указаниями МУ 2.3.2.1917-04 «Порядок и организация контроля за пищевой продукцией, полученной из/или с использованием сырья растительного происхождения, имеющего генетически-модифицированные аналоги».

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

«ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F для амплификации с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Комплект реагентов включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь-FL ГМ соя-линии-2	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+ ГМ соя-линии-2	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
К-	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка

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

ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- амплификация ДНК с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени»,
- анализ и интерпретация результатов.

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

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

А. Подготовка пробирок для амплификации

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

1. Разморозить пробирку с ПЦР-смесью-FL ГМ соя-линии-2, перемешать на вортексе и сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
2. Для проведения N реакций смешать в отдельной пробирке ПЦР-смесь-FL ГМ соя-линии-2, ПЦР-буфер-С и полимеразу (TaqF) из расчета на каждую реакцию:
 - 10 мкл ПЦР-смеси-FL ГМ соя-линии-2

- 5 мкл ПЦР-буфера-С
 - 0,5 мкл полимеразы (TaqF)
3. Перемешать смесь на вортексе, осадить кратковременным центрифугированием и внести по **15 мкл** в микропробирки.
 4. Используя наконечник с фильтром, в подготовленные пробирки добавить по **10 мкл ДНК** исследуемых образцов.
ВНИМАНИЕ! При добавлении проб ДНК, экстрагированных с помощью комплектов реагентов для проведения экстракции методом сорбции на силикагеле, необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь.
 5. Поставить **контрольные реакции амплификации**:
 - а) **положительный контроль (К+)** – внести в пробирку **10 мкл К+ ГМ соя-линии-2**.
 - б) **отрицательный контроль (К-)** – вместо ДНК пробы внести в пробирку **10 мкл К-**.

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 **CFX96** (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США) смотрите в **Приложении 4**.

В. Интерпретация результатов

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по 3 каналам:

Таблица 2

Канал для флуорофора	FAM	JOE	ROX
Регистрация сигнала, свидетельствующего о накоплении продукта амплификации	MON89788	CV127	MON87701

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

отсутствии) для данной пробы ДНК значения порогового цикла (*Ct*) в соответствующей графе таблицы результатов. Принцип интерпретации результатов следующий:

1. В образце обнаружена ДНК ГМ сои линии **MON89788**, если в таблице результатов по каналу для флуорофора FAM для него определено значение порогового цикла *Ct*.
2. В образце обнаружена ДНК ГМ сои линии **CV127**, если в таблице результатов по каналу для флуорофора JOE для него определено значение порогового цикла *Ct*.
3. В образце обнаружена ДНК ГМ сои линии **MON87701**, если в таблице результатов по каналу для флуорофора ROX для него определено значение порогового цикла *Ct*.

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для контролей этапа ПЦР ДНК в соответствии с таблицей 3.

Таблица 3

Результаты для контролей ПЦР-исследования

Контроль	Контролируемый этап ПЦР-исследования	Значение порогового цикла по каналу для флуорофора (<i>Ct</i>)		
		FAM	JOE	ROX
K–	ПЦР	отсутствует	отсутствует	отсутствует
K+	ПЦР	≤ 25	≤ 25	≤25

Возможные ошибки:

1. Для положительного контроля ПЦР (K+) значение порогового цикла (*Ct*) по любому из указанных каналов для флуорофоров (см. таблицу 3) 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 любому из указанных каналов для флуорофоров (см. таблицу 3) 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 в течение 5 сут в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств.

Хранение. Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-50 F хранить при температуре от 2 до 8 °С, кроме ПЦР-смеси-FL ГМ соя-линии-2, ПЦР-буфера-С и полимеразы (TaqF). ПЦР-смесь-FL ГМ соя-линии-2, ПЦР-буфер-С и полимеразу (TaqF) хранить при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь-FL ГМ соя-линии-2 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.ru³.

³ Отзывы и предложения о продукции «АмплиСенс» вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.ru.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ

REF

Номер по каталогу



Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению

LOT

Код партии



Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов

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

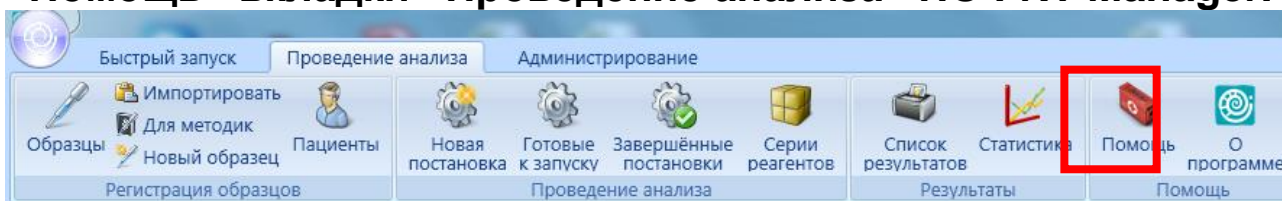


Дата изготовления

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

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

ВНИМАНИЕ! Программирование амплификатора и анализ результатов, полученных в программном обеспечении амплификатора, могут быть выполнены автоматически с помощью Программного обеспечения FRT Manager («ИнтерЛабСервис», Россия). Для работы следует использовать программу FRT Manager версии 2.0 или выше. **Для ознакомления со всеми возможностями ПО FRT Manager рекомендуем прочитать полное руководство пользователя. Данное руководство располагается в меню «Помощь» вкладки «Проведение анализа» ПО FRT Manager.**



См. также Методические Рекомендации по проведению амплификации и анализу результатов при помощи программного обеспечения FRT Manager («ИнтерЛабСервис», Россия).

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 / для русскоязычной версии программы Rotor-Gene 6000.

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.

3. Нажать кнопку **New/Новый** в основном меню программы. Для создания шаблона в открывшемся окне **New Run/Новый тест** следует выбрать вкладку **Advanced/Детальный мастер**.
4. Во вкладке выбрать шаблон запуска эксперимента **TwoStep/Hidrolysis Probes/Двухшаговый цикл**. Нажать кнопку **New/Новый**.
5. В открывшемся окне выбрать тип ротора **36-Well Rotor/36-луночный ротор (или на 72 лунки 72-Well Rotor/72-луночный ротор)**. Поставить отметку в окошке рядом с надписью **No Domed 0.2 ml Tubes/Locking ring attached/Кольцо закреплено**. Нажать кнопку **Next/Далее**.
6. В открывшемся окне задать оператора и выбрать объем реакционной смеси: **Reaction volume/Объем реакции** – 25 мкл. Для Rotor-Gene 6000 должно быть отмечено окошко **15 µl oil layer volume/15 µL объем масла/воска**. (Если галочка не стоит в окне по умолчанию, поставить её с помощью мышки). Нажать кнопку **Next/Далее**.
7. В окне **New Run Wizard/Мастер Нового Теста** необходимо задать температурный профиль эксперимента. Для этого в верхней части окна 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
Cycling/Циклирование	95	10 с	–	10
	61	20 с	–	
	72	10 с	–	
Cycling2/Циклирование2	95	10 с	–	35
	54	20 с	FAM/Green, JOE/Yellow, ROX/Orange	
	72	10 с	–	

8. Нажать кнопку **OK/Да**.
9. В окне **New Run Wizard/Мастер Нового Теста** нажать

кнопку **Calibrate/Gain Optimisation.../Опт.уровня сигн.** В открывшемся окне **Auto Gain Calibration Setup/Авто-оптимизация уровня сигнала** нажать кнопку **Calibrate Acquiring/Optimise Acquiring/Опт. Демек-мых**, пометить галочкой бокс в строке **Perform Calibration Before 1st Acquisition/Perform Optimisation Before 1st 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/Авто-оптимизация уровня сигнала**, нажав кнопку **Close/Заккрыть**.

10. Нажать кнопку **Next/Далее**, запустить амплификацию кнопкой **Start run/Старт**.

11. 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 по каналу FAM/Green:

1. Активировать нажатием в меню кнопки **Analysis/Анализ**, выбрать режим анализа **Quantitation/Количественный**, активировать кнопку **Cycling A. FAM/Cycling A. Green, Show/Показать**.
2. Отменить автоматический выбор уровня пороговой линии **Threshold/Порог**.
3. Выбрать линейный тип шкалы (**Linear scale/Линейная шкала**).
4. В меню основного окна (**Quantitation analysis/**

Количественный анализ) должны быть активированы кнопки **Dynamic tube/Динамич.фон**, **Slope Correct/Коррект.уклона**.

5. В меню **ST Calculation/Вычисление СТ** (в правой части окна) выставить уровень пороговой линии **Threshold/Порог = 0,05**.
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 **Quantitation Results/Количественные Результаты**) появятся значения **St**.

Анализ результатов по каналам JOE/Yellow, ROX/Orange провести аналогично анализу результатов по каналу FAM/Green в соответствии с настройками, указанными в таблице ниже.

Канал	<i>Threshold/ Порог</i>	<i>More Settings/Outlier Removal/ Устранение выбросов</i>	<i>Slope Correct/ Коррект. уклона</i>
FAM/Green	0,05	10%	включена
JOE/Yellow	0,1	10%	включена
ROX/Orange	0,1	10%	включена

ПРИЛОЖЕНИЕ 2**ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ И АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИ ПОМОЩИ ПРИБОРОВ iQ iCycler, 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/iQ5.
3. Поместить пробирки или стрипы в реакционный модуль амплификатора.

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. 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 каналам **FAM, JOE и ROX**. 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 каналам **FAM-490, JOE-530, ROX-575**. 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**.

5. Задать программу амплификации.

Цикл	Температура, °C	Время	Измерение флуоресценции	Количество циклов
1	95	15 мин	–	1
2	95	10 с	–	10
	61	20 с	–	
	72	10 с	–	
3	95	10 с	–	35
	54	20 с	FAM, JOE, ROX	
	72	10 с	–	

- 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**. Для этого в нижнем окне 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** (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**.

6. Поместить предварительно подготовленные для проведения ПЦР пробирки в модуль в соответствии с

заданной схемой:

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 **iQ iCycler** 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**.

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 проводится по каналам FAM, JOE и ROX. Результаты обрабатывают для каждого канала по отдельности, активируя кнопку с названием соответствующего флуорофора.
3. В режиме анализа данных **PCR Base Line Subtracted Curve Fit** (выбирается по умолчанию) поочередно для каждого

канала проверить правильность автоматического выбора пороговой линии. Пороговая линия должна пересекать только S-образные (сигмообразные) кривые накопления сигнала положительных образцов и контролей и не пересекать базовую линию. В случае если это не так, необходимо установить вручную уровень пороговой линии для каждого канала. Для этого нужно поставить галочку напротив пункта **Log View** (переключение в логарифмический вид) и установить уровень пороговой линии (левой кнопкой мыши) на таком уровне, где кривые флуоресценции носят линейный характер, и отсутствует пересечение с кривыми отрицательных образцов. Как правило, пороговая линия устанавливается на уровне, соответствующем **10-20 %** от максимального уровня флуоресценции, полученного для образца **K+** в последнем цикле амплификации. При этом необходимо, чтобы график флуоресценции для положительного контроля показывал характерное экспоненциальное нарастание флуоресцентного сигнала. Чтобы выделить график образца «K+» (или другого желаемого образца) установить курсор в схеме планшета, либо в таблице результатов.

4. Чтобы вывести на экран таблицу результатов, нажать кнопку **PCR Quant** (iCycler iQ) или кнопку **Results** (iCycler iQ5).

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

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

Проведение амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала

1. Включить прибор, запустить программу RealTime_PCR v.7.3, 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, «ГМ-идентификация» – и нажать кнопку **ОК**. В появившемся окне **Тест** задать следующие параметры:
 - **Тип – качественный.**
 - **Метод – Пороговый (Ct).**
 - **Пробирки –** отметить галочкой **образец, контроль +, контроль –.**
 - **Контроли: положительный (К+) – 1 , отрицательный (К-) – 1.**
 - **Объем рабочей смеси в пробирке – 25 мкл.**
 - **Флуорофоры – Fam - специфика; Hex - специфика; Rox – специфика.**
 - **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**.


Цикл	Температура, °C	Время	Измерение флуоресценции	Количество циклов
1	95	15 мин	–	1
2	95	10 с	–	10
	61	20 с	–	
	72	10 с	–	
3	95	10 с	–	35
	54	25 с	Fam, Hex, Rox	
	72	10 с	–	

4. В окне **Тест** нажать кнопку **ОК**.
5. Выбрать вкладку **Протокол**. Нажать кнопку **Добавить тест** и в появившемся окне выбрать название «ГМ-идентификация», 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 – 30 %**, **верхняя граница/порог нормализации данных – 30 %**.

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

Нажать кнопку **Применить**.

ВНИМАНИЕ! При одновременной постановке нескольких тестов с разными наборами реагентов для идентификации линий ГМ сои и ГМ кукурузы, анализ результатов проводить отдельно для разных каналов, используя следующие критерии достоверности результатов:

- FAM – нижняя граница/порог положительного результата – 30 %, верхняя граница/порог нормализации данных – 30 %.
 - HEX и ROX – нижняя граница/порог положительного результата – 5 %, верхняя граница/порог нормализации данных – 5 %.
5. Отключить **Фитирование** (сглаживание) данных при помощи кнопки **Ф** (отжать кнопку).
 6. 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 и не пересекать базовую линию. В случае если это не так, необходимо установить вручную уровень пороговой линии для каждого канала. Для этого нужно внизу окна программы поставить галочку в поле **Log_Y** (переключение в логарифмический вид) и установить уровень пороговой линии (левой кнопкой мыши) на таком уровне, где кривые флуоресценции носят линейный характер, и отсутствует пересечение с кривыми отрицательных образцов. Как правило, пороговая линия устанавливается на уровне, соответствующем **10-20 %** от максимального уровня флуоресценции, полученного для образца **K+** в последнем цикле амплификации. При этом необходимо, чтобы график флуоресценции положительного контроля показывал характерное экспоненциальное нарастание флуоресцентного сигнала.

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ И АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИ ПОМОЩИ ПРИБОРА CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США)

Проведение амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала

1. Включить прибор и запустить программу Bio-Rad CFX Manager.
2. В стартовом окне **Startup Wizard** необходимо выбрать позицию **Create a new Run/Experiment** (или в меню **File** выбрать **New** и далее **Run.../Experiment...**). Нажать **OK**.
3. В окне **Run Setup** выбрать вкладку **Protocol** и нажать кнопку **Create new....** В появившемся окне **Protocol Editor – New** задать параметры амплификации. Задать объем реакционной смеси **Sample Volume – 25** мкл.

Цикл	Температура, °C	Время	Измерение флуоресценции	Количество циклов
1	95	15 мин	–	1
2	95	10 с	–	10
	61	20 с	–	
	72	10 с	–	
3	95	10 с	–	35
	54	20 с	FAM, HEX, ROX	
	72	10 с	–	

ВНИМАНИЕ! Для каждого шага этапов циклирования, нажав на кнопку **Step Options**, задать скорость нагревания/охлаждения **Ramp Rate 2,5 °C/sec** (см. рис. ниже). Нажать **OK**.

1	95.0	C for 15:00
2	95.0	C for 0:10
		Slow Ramp Rate to 2,5 C per second
3	61.0	C for 0:20
		Slow Ramp Rate to 2,5 C per second
4	72.0	C for 0:10
		Slow Ramp Rate to 2,5 C per second
5	GOTO 2	9 more times
6	95.0	C for 0:10
		Slow Ramp Rate to 2,5 C per second
7	54.0	C for 0:20
		+ Plate Read
		Slow Ramp Rate to 2,5 C per second
8	72.0	C for 0:10
		Slow Ramp Rate to 2,5 C per second
9	GOTO 6	34 more times
		END

5. Сохранить протокол: выбрать **File** и далее **Save As** в окне **Protocol Editor New**, ввести имя файла, нажать **Сохранить**.
6. Задать схему планшета. Во вкладке **Plate** нажать кнопку

Create new.... В появившемся окне **Plate Editor - New** задать расположение пробирок в модуле. Нажав кнопку **Select Fluorophores**, выбрать галочками в колонке **Selected** флуорофоры: **FAM, HEX, ROX** и нажать **OK**. В меню **Sample type** выбрать **Unknown** для всех образцов. Затем задать галочками в колонке **Load** (в правой части окна) измерение флуоресцентного сигнала для всех образцов по необходимым каналам. В окне **Sample name** задать название образцов, при этом параметр **Load** должен быть отмечен галочкой.

7. Сохранить схему планшета: выбрать **File** и далее **Save As** в окне **Plate Editor New**, ввести имя файла, нажать **Сохранить**.
8. Выбрать вкладку **Start Run**. Открыть крышку прибора, нажав кнопку **Open Lid**. Поместить реакционные пробирки в ячейки амплификатора в соответствии с предварительно запрограммированной схемой планшета. Закрыть крышку прибора, нажав кнопку **Close Lid**.

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.

9. Запустить выполнение выбранной программы с заданной схемой планшета, нажав на кнопку **Start Run**, выбрать директорию для сохранения файла постановки, ввести имя файла, нажать **Сохранить**.

Анализ результатов

1. Запустить программу, открыть сохраненный файл с данными анализа. Для этого выбрать в меню **File**, затем **Open** и **Data file** и выбрать необходимый файл.
2. В окне **Data Analysis** во вкладке **Quantification** представлены кривые флуоресценции, расположение пробирок в планшете и таблица со значениями пороговых циклов.

Для каждого канала проверить правильность автоматического выбора пороговой линии. Пороговая линия должна пересекать только S-образные (сигмообразные) кривые накопления сигнала положительных образцов и

контролей и не пересекать базовую линию. В случае если это не так, необходимо установить вручную уровень пороговой линии для каждого канала. Для этого нужно поставить галочку напротив пункта **Log Scale** (переключение в логарифмический вид) и установить уровень пороговой линии (левой кнопкой мыши) на таком уровне, где кривые флуоресценции носят линейный характер и отсутствует пересечение с кривыми отрицательных образцов. Как правило, пороговая линия устанавливается на уровне, соответствующем **10-20 %** от максимального уровня флуоресценции, полученного для образца **K+** в последнем цикле амплификации. При этом необходимо, чтобы график флуоресценции для положительного контроля показывал характерное экспоненциальное нарастание флуоресцентного сигнала. Чтобы выделить график образца «K+» (или другого желаемого образца) установить курсор в схеме планшета, либо в таблице результатов.

Лист вносимых изменений

Редакция	Место внесения изменений	Суть вносимых изменений
20.12.16 KM	Аналитические характеристики	«Предел обнаружения» изменен на «предел детекции». Добавлен ГОСТ Р ИСО 21571-2014
	Проведение ПЦР-исследования	Правки по шаблону
	Проведение амплификации и анализ результатов при помощи прибора CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США)	Изменен рисунок с программой амплификации
21.03.18 TA	Приложение 1	Добавлена информация про FRT manager
30.05.18 TA	Форма Комплектации 1 («ПЦР-Комплект» Вариант FRT-50 F) Состав	Изменен цвет ПЦР-смеси-FL ГМ соя-линии-2 с «Прозрачная бесцветная жидкость» на «Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета»
25.02.19 SK	По тексту	Изменено форматирование текста
15.03.19 PM	Срок годности. Условия транспортирования и хранения	Срок годности изменен на 15 месяцев
03.09.19 DV	Принцип метода	Добавлена информация о системе защиты от контаминации за счет фермента УДГ
04.12.19 MA	Нижний колонтитул	Добавлен новый каталожный номер Форма 1: REF G-2471-1
27.02.20 VA	По тексту	Производитель заменен на Изготовителя
	Срок годности. Условия транспортирования и хранения	Удалена фраза о разуконплектации набора реагентов
	Гарантийные обязательства изготовителя	Изменен электронный адрес для направления рекламаций
23.04.20 EM	Титульный лист	Добавлена фраза «Только для исследовательских и иных немедицинских целей»
	Назначение	Добавлено уточнение о том, что НР не является медицинским изделием