



ПАМЯТКА ПО ПРОВЕДЕНИЮ ПЦР-АМПЛИФИКАЦИИ С НАБОРАМИ
ФОРМАТА **ФЛУОРОПОЛ-РВ**. Комплектация OneStep.

ВНИМАНИЕ!

ВСЕ КОМПОНЕНТЫ УЖЕ ВНЕСЕНЫ. ДОБАВЬТЕ ТОЛЬКО ОБРАЗЦЫ И КОНТРОЛИ.

1. Достать из коробки необходимое число пробирок и расставить в соответствии с заранее подготовленным протоколом. Если реакция проводится на анализаторе Rotor Gene (Corbett Research), то пробирки могут быть промаркированы, в противном случае маркировка пробирок не допустима.

2. Полностью разморозить содержимое пробирок.

При необходимости, если часть раствора находится на внутренней стороне крышки пробирки, отцентрифугировать пробирки 3-5 сек на микроцентрифуге-вортексе.

3. Добавить во все пробирки индивидуальными наконечниками с аэрозольными фильтрами по **5 мкл** (Rotor Gene) или **10 мкл** (BioRad, ДТ):

-в пробирки исследуемых образцов – исследуемые образцы ДНК;

-в пробирку отрицательного контрольного образца – разбавитель из комплекта набора;

-в пробирку положительного контрольного образца – положительный контрольный образец ДНК из комплекта используемого набора;

4. Пробирки плотно закрыть и центрифугировать в течение 15 сек на плащечной центрифуге или микроцентрифуге-вортексе.

5. Создать протокол расположения образцов.

Для работы с наборами ФЛУОРОПОЛ используются каналы

FAM (специфический сигнал)

HEX (сигнал внутреннего контроля)

В случае наборов для выявления ДНК двух возбудителей с дифференцировкой типа в качестве второго специфического канала также используется и канал **ROX**.

Детекция продуктов амплификации осуществляется прибором автоматически в каждом цикле амплификации. На основании этих данных управляющая программа строит кривые накопления флуоресцентного сигнала по каждому из заданных для образцов каналов.

6. Перенести пробирки в прибор и провести амплификацию по следующей программе:

«**CFX 96**» (BioRad)

*Важно: режим Emulation Mode iCycler
приблизительное время работы 1 час*

+94 °C	1 мин 30 сек	40 циклов
+94 °C	10 сек	
+64 °C	10 сек (считывание)	
+72 °C	20 сек	

«**iCycler IQ5**» (BioRad)

ДТ-96 (ДНК-Технология)

приблизительное время работы 1 час 16 мин

+94 °C	1 мин 30 сек	40 циклов
+94 °C	10 сек	
+64 °C	11* сек (считывание)	
+72 °C	20 сек	

«**Mini-opticon**» (BioRad)

приблизительное время работы 1 час 52 мин

+94 °C	1 мин 30 сек	40 циклов
+94 °C	10 сек	
+64 °C	10 сек	
+72 °C	40 сек	
+50 °C	01 сек (считывание)	

«**iCycler iQ**» (BioRad)

ДТ-322 (ДНК-Технология)

«**Rotor-Gene 3000**» (Corbett Research)

приблизительное время работы 1 час 52 мин

+94 °C	1 мин 30 сек	40 циклов
+94 °C	10 сек	
+64 °C	10 сек	
+72 °C	40 сек	
+50 °C	15 сек (считывание)	

«**Rotor-Gene 6000**» (Corbett Research)

«**Rotor-Gene Q**» (Corbett Research)

приблизительное время работы 1 час 30 мин

+95 °C	1 мин 30 сек	40 циклов
+95 °C	10 сек	
+60 °C	20 сек (считывание)	
+72 °C	40 сек	

* В случае наборов для выявления двух возбудителей с дифференцировкой типа этот шаг следует увеличить до 17-ти секунд.

7. Анализ результатов проведите согласно «Руководству по применению наборов формата ФЛУОРОПОЛ-РВ».

Полное «Руководство по применению наборов формата ФЛУОРОПОЛ-РВ» находится на сайте www.lytech.ru в разделе «Методическая информация».

По всем вопросам обращайтесь в офис компании ООО НПФ «Литех»:

многоканальный телефон **(495) 589-14-03**, e-mail: info@lytech.ru

119435, Москва, ул. Малая Пироговская, дом 1, строение 3