

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека



В.Г. Акимкин

« 22 » сентября 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

набора реагентов

АмплиСенс® *SamV-FL*

Только для исследовательских и иных немедицинских целей

АмплиСенс®



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.....	4
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	4
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	5
СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ	7
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ.....	7
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА..	10
ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ.....	10
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ.....	10
ФОРМА 1 («ПЦР-КОМПЛЕКТ» ВАРИАНТ FRT-50 F).....	11
СОСТАВ.....	11
АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»	11
А. ПОДГОТОВКА ПРОБИРОК ДЛЯ АМПЛИФИКАЦИИ	11
Б. ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ», АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	12
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ.....	15
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	15
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ.....	16
ПРИЛОЖЕНИЕ 1.....	17
ПРИЛОЖЕНИЕ 2.....	21
ПРИЛОЖЕНИЕ 3.....	25
ПРИЛОЖЕНИЕ 4.....	28

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
К+	- положительный контроль ПЦР
К-	- отрицательный контроль ПЦР
ПО	- программное обеспечение
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
FRT	- флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»
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

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов АмплиСенс® *CamV-FL* не является медицинским изделием. Набор реагентов предназначен для выявления ДНК вируса мозаики цветной капусты (*Cauliflower mosaic virus - CamV*), инфицирующего растения семейства *Brassicaceae* (Капустные), в продуктах питания, кормах для животных и растительном сырье методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Набор реагентов рекомендуется использовать для образцов, содержащих компоненты растений семейства *Brassicaceae* (капуста, хрен, редька, редис, горчица, рапс и др.), в которых на этапе скрининга обнаружен промотор Р-35S (например, с помощью набора реагентов АмплиСенс® ГМ Плант-1-FL производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора или аналогичный), но не идентифицирована линия генно-модифицированного растения.

Материалом для проведения ПЦР служат пробы ДНК, экстрагированные из исследуемого материала.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип тестирования основывается на экстракции ДНК из образцов исследуемого материала и одновременной амплификации участков ДНК вируса мозаики цветной капусты и ДНК растений (эндогенный контроль) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией. Эндогенный контроль (ген, специфичный для растительного генома (как трансгенного, так

и нетрансгенного)) позволяет определять присутствие ДНК растений в исследуемом образце и контролировать все этапы ПЦР-исследования для каждого образца.

Аmplification 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.

На этапе амплификации одновременно в одной пробирке проводится амплификация двух ДНК-мишеней. Результаты амплификации регистрируются по следующим каналам флуоресцентной детекции (см. табл. 1):

Таблица 1

Канал для флуорофора	JOE	ROX
ДНК-мишень	ДНК растений	ДНК <i>CaMV</i>

ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ

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

Форма 1 предназначена для проведения амплификации ДНК вируса мозаики цветной капусты с гибридационно-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.

Аналитическая специфичность	Набор реагентов обнаруживает последовательности ДНК гена, специфичного для растительного генома, и ДНК <i>CaMV</i> . Аналитическая специфичность набора реагентов доказана при исследовании ДНК не генномодифицированных растений, ДНК животных, а также ДНК генномодифицированных растений
Предел детекции (Limit of detection. LOD)	10 ³ копий ДНК/мл для последовательностей ДНК <i>CaMV</i> и ДНК растений

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

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 фильтром¹.
- 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 сушильном 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.
 - 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 реактивами. 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 форма 1 набора реагентов безопасна.

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

¹ Для удаления надосадочной жидкости с помощью вакуумного отсасывателя используются одноразовые наконечники без фильтра.

Сведения о безопасности набора реагентов доступны по запросу.

СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковку², 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, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Взятие исследуемого материала

1. Контейнер пластиковый для взятия, хранения и транспортировки биологических образцов объемом 50-60 мл, стерильный (например, ООО «Комбитек Пластик», Россия, или аналогичный).
2. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 2,0 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк.»), США, или аналогичные).
3. Одноразовые полиэтиленовые пакеты с застежкой Zip-lock (например, ООО «Промсервис», Россия, или аналогичные).
4. Отдельные для каждой пробы инструменты (пинцеты, скальпели, ножницы).
5. Одноразовые перчатки.

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

Предварительная подготовка исследуемого материала:

6. 0,9 % раствор натрия хлорида (стерильный физиологический раствор).
7. Отдельные для каждой пробы инструменты (пинцеты, скальпели, ножницы).
8. Фарфоровая ступка с пестиком или гомогенизатор.
9. Одноразовые полиэтиленовые пакеты с застежкой Zip-lock (например, ООО «Промсервис», Россия, или аналогичные).
10. Измельчитель/мельница, или блендер.
11. Контейнер пластиковый для взятия, хранения и транспортировки биологических образцов объемом 50-60 мл, стерильный (например, ООО «Комбитек Пластик», Россия, или аналогичный).
12. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки на 1,5 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
13. Завинчивающиеся крышки к пробиркам (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк.»), США, или аналогичные).
14. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200 и до 1000 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
15. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
16. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 12 тыс g (например, Eppendorf Manufacturing Corporation («Эппендорф Мануфэктуринг Корпорэйшн»), Германия, или аналогичная).
17. Автоматические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
18. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
19. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки.
20. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

Экстракция ДНК из исследуемого материала:

1. Комплект реагентов для экстракции ДНК – ДНК-сорб-С-М или другие, рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

2. Дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к комплекту реагентов для экстракции ДНК.

Аmplификация с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации:

1. 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 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 100, 200 и 1000 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
3. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл (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 4 или более независимых каналов флуоресцентной детекции (например, Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия), iCycler iQ5 (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 и одноразовые резиновые перчатки.
 10. Емкость для сброса наконечников.
 11. ПО для автоматической обработки результатов.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

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».

Материалом для исследования служат пробы ДНК, полученные ранее на этапе экстракции из исследуемого материала, содержащие растительную ДНК и промотор Р-35S.

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.

ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

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

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

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

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).

Объем элюции – 50 мкл.

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

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

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь-FL <i>CaMV</i>	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+ <i>CaMV</i>	Прозрачная бесцветная жидкость	0,2	1 пробирка
К–	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка

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

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»**А. Подготовка пробирок для амплификации**

Выбор пробирок для амплификации 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, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.

1. Разморозить пробирку с ПЦР-смесью-FL *CaMV*, перемешать на вортексе и сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.
2. Для проведения N реакций смешать в отдельной пробирке ПЦР-смесь-FL *CaMV*, ПЦР-буфер-С, полимеразу (TaqF) из расчета на каждую реакцию:
 - 10 мкл ПЦР-смеси-FL *CaMV*;
 - 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, необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь.

5. Поставить контрольные реакции:

а) **положительный контроль ПЦР (К+)** – в пробирку с реакционной смесью внести **10 мкл К+ CaMV**.

б) **отрицательный контроль ПЦР (К-)** – в пробирку с реакционной смесью внести **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 GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия) смотрите в **Приложении 1**.

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

Порядок работы с помощью прибора «ДТ-96», «ДТпрайм» (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 по двум каналам:

Таблица 2

Канал для флуорофора	JOE	ROX
Продукт амплификации	ДНК растений	ДНК CaMV

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 таблицы результатов.

Принцип интерпретации результатов следующий:

Таблица 3

Интерпретация результатов ПЦР-исследования

Значение порогового цикла по каналу для флуорофора (Ct)		Результат
JOE	ROX	
определено или отсутствует	<u>определено</u>	ДНК <i>CaMV</i> обнаружена
определено	отсутствует	ДНК <i>CaMV</i> НЕ обнаружена
<u>определено</u>	определено или отсутствует	ДНК растений обнаружена
отсутствует	отсутствует	Невалидный*

* В случае получения невалидного результата необходимо провести повторное ПЦР-исследование соответствующего исследуемого образца, начиная с этапа экстракции ДНК. При повторном получении аналогичного результата образец считать не подлежащим анализу из-за низкого содержания в нем ДНК растений.

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для контролей этапа 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	ROX
К–	ПЦР	отсутствует	
К+	ПЦР	<u>Ct ≤ 30</u>	<u>Ct ≤ 30</u>

ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ:

1. Для положительного контроля ПЦР (К+) значения порогового цикла (Ct) по каналам для флуорофоров JOE и/или ROX отсутствуют или превышает граничное значение. Необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов, в которых не обнаружена специфическая ДНК.
2. Для отрицательного контроля ПЦР (К–) по каналам для флуорофоров JOE и/или ROX 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 в холодильной камере при температуре от 2 до 8 °С, кроме ПЦР-смеси FL CaMV, ПЦР-буфера-С и полимеразы (TaqF). ПЦР-смесь FL CaMV, ПЦР-буфер-С и полимеразу (TaqF) хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ПЦР-смесь FL CaMV 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)³.

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

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению



Код партии



Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов



Только для исследовательских и иных немедицинских целей



Использовать до



Дата изменения



Обратитесь к инструкции по применению



Температурный диапазон



Не допускать воздействия-солнечного света



Изготовитель

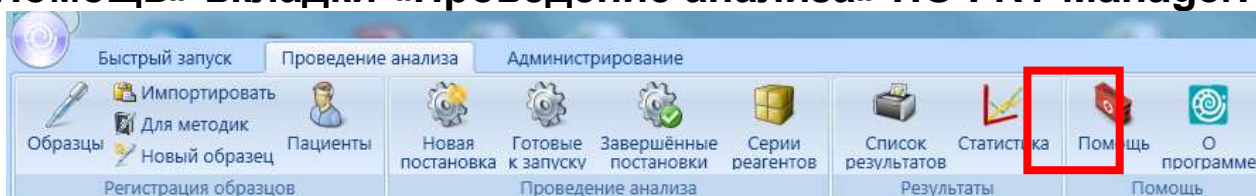


Дата изготовления

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ И АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ С ПОМОЩЬЮ ПРИБОРОВ Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия), 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 приборами 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
Cycling / Циклирование	95	10 с	–	40
	59	60 с	JOE/Yellow, ROX/Orange	

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/Автоматимизация уровня сигнала** нажать кнопку **Calibrate Acquiring/Optimise Acquiring/Опт. Детек-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/Закрыть**.

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 ROX/Orange):

1. Нажать в меню кнопку **Analysis/Анализ**, выбрать режим анализа **Quantitation/Количественный**, нажать кнопку **Cycling A. ROX/Cycling A. Orange, 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 **Threshold/Порог**
4. В меню основного окна **Quantitation analysis/Количественный анализ** должны быть активированы кнопки **Dynamic tube/Динамич. фон** и **Slope**

Correct/Коррек. уклона.

5. В меню **СТ 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 **Quant. Results/Количественные Результаты**) появятся значения **Ct**.

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

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

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 каналам **JOE, 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 **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.

4. Задать программу амплификации:

Цикл	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, ROX	

- Для прибора **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 (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 каналам JOE и ROX. Результаты обрабатывать 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 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 *Ct*.

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

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

Проведение амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала

1. Включить прибор и 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, «*SamV*» - 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 – Hex** (для версии программы v.7.3.2.2 и выше выбрать **R6G**) –специфика; **Rox** – специфика
 - **Задать программу амплификации.** Для этого в окне **Тест** нажать кнопку **Создать новую программу**, задать параметры амплификации и сохранить шаблон, нажав **ОК**. Ввести имя файла, нажать кнопку **Сохранить**.

Цикл	Температура, °C	Время	Измерение флуоресценции	Количество циклов
Hold/Удерж. темп-ры	95	15 мин	–	1
Cycling/Циклирование	95	10 с	–	40
	59	60 с	Hex/R6G, Rox	

4. В окне **Тест** нажать кнопку **ОК**.
5. Выбрать вкладку **Протокол**. Нажать кнопку **Добавить**

- мест** и в появившемся окне выбрать название «*SamV*», 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**.

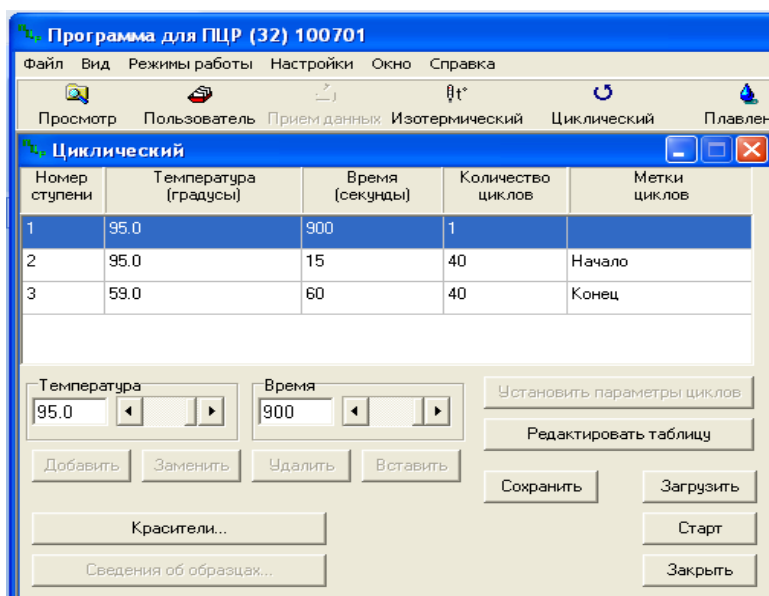
5. Отключить **Фитирование** (сглаживание) данных при помощи кнопки **Ф** (отжать кнопку).
6. Для каждого канала проверить правильность автоматического выбора пороговой линии. Пороговая линия (**Threshold**) должна пересекать только S-образные сигмообразные кривые накопления сигнала положительных образцов и контролей 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, °C	Время	Количество циклов
1	1	95	900 с	1
2	2	95	15 с	40
	3	59	60 с	



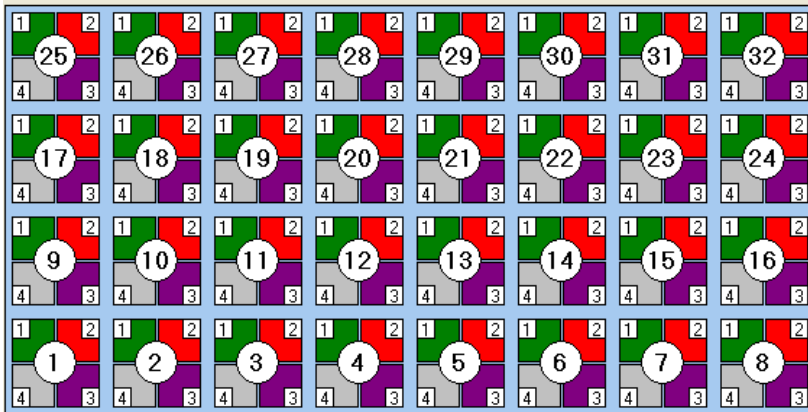
3. Температура и время каждого шага/ступени амплификации устанавливаются в нижней половине окна, с помощью клавиатуры или бегунков. После установки каждого значения необходимо нажать кнопку **Заменить**. Для изменения количества шагов используются кнопки **Добавить**, **Удалить** и **Вставить**.
4. Для 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, ROX), 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) – например, «*SamV*» – 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. Доступна функция копирования и вставки списка образцов, заданного для одного канала на другие каналы (список копируется целиком, выделение не предусмотрено). После заполнения таблицы нажать **ОК**.
3. Открыть крышку прибора и установить пробирки с выпуклыми крышками в соответствующие ячейки, закрыть и завинтить крышку. Ячейки нумеруются следующим образом (вид сверху):



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.

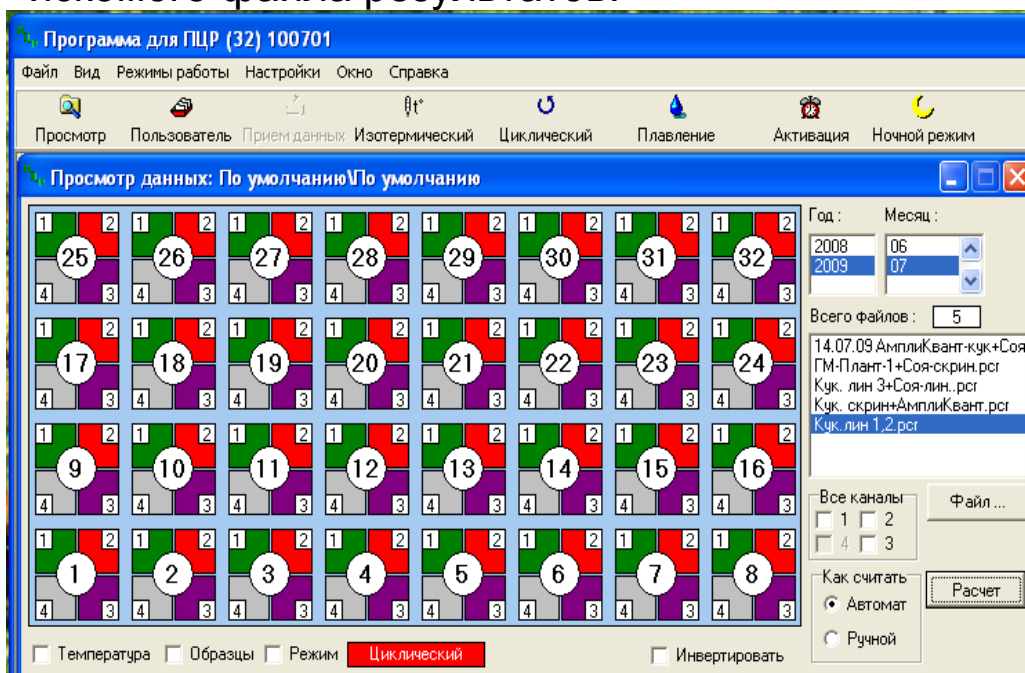
Анализ результатов

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

Параметр	Канал 1	Канал 2	Канал 3	Канал 4
Отношение максимум/минимум больше, чем :	1.300	1.300	1.300	1.300
Отношение между соседними точками меньше	2.100	2.100	2.100	2.100
Абсолютный рост по амплитуде больше, чем :	50	100	50	50
Порог :	0.000			
Расчет по последним точкам				
Отношение максимум/минимум больше, чем	1.100	1.100	1.100	1.100
Уровень порогового цикла:	0.000 <input type="checkbox"/> Включить в расчет			
Число точек на полке:	3			

После установки параметров нажать **ОК**. 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). Закрывать 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.