



**Набор реагентов  
для полногеномной амплификации ДНК**

**" WGA Display "**

**Инструкция по применению**



## Содержание

Содержание .....	1
Введение .....	2
Варианты исполнения.....	2
1 Назначение набора.....	2
2 Характеристика набора.....	3
2.1 Состав набора реагентов .....	3
2.2 Количество проводимых полногеномных амплификаций .....	3
2.3 Принцип действия набора .....	4
2.4 Ограничения при применении .....	4
3 Меры предосторожности.....	4
4 Оборудование и материалы.....	6
4.1 Оборудование, необходимое для работы с набором реагентов .....	6
4.2 Материалы, необходимые для работы с набором реагентов.....	6
5 Материал для проведения полногеномной амплификации .....	7
6 Подготовка к работе .....	7
7 Проведение полногеномной амплификации .....	9
7.1 Приготовление амплификационной смеси.....	9
7.2 Проведение амплификации .....	10
8 Оценка результатов полногеномной амплификации .....	10
8.1 Проведение ПЦР в режиме реального времени .....	10
8.2 Анализ результатов.....	12
9 Возможные проблемы и способы их устранения.....	14
10 Требования к транспортированию и хранению .....	15
10.1 Транспортирование.....	15
10.2 Хранение .....	15
11 Указания по применению .....	15
12 Требования к утилизации .....	15
13 Гарантийные обязательства.....	16
14 Маркировка .....	17

## Введение

Полногеномная амплификация ДНК из единичных клеток широко используется в методиках преимплантационной генетической диагностики (ПГД) эмбрионов с дальнейшим анализом методами массового параллельного секвенирования (NGS), сравнительной геномной гибридизации (CGH) на чипах, высокочувствительных ПЦР-исследований и т.п.

Для проведения анализов перечисленными методами требуются минимальные количества геномной ДНК в диапазоне от 2 до 1000 нг. Однако одна человеческая клетка содержит около 7 пг ДНК, поэтому возникает необходимость применения полногеномной амплификации.

## Варианты исполнения

Набор реагентов для полногеномной амплификации ДНК "WGA Display" (далее по тексту – набор реагентов) представлен в трех вариантах исполнения:

- 1). Набор реагентов на 12 реакций "WGA Display (12)";
- 2). Набор реагентов на 24 реакции "WGA Display (24)";
- 3). Набор реагентов на 96 реакций "WGA Display (96)".

### 1 Назначение набора

Набор реагентов предназначен для амплификации малых количеств геномной ДНК человека (в общем случае, млекопитающих) с получением 1 – 2 мкг продукта в течение 3,5 – 4 часов.

Продукт амплификации, полученный с помощью набора реагентов, может быть использован для следующих видов анализа:

- анализ ДНК, выделенной из единичных клеток (Single cell DNA analysis);
- анализ вариации числа копий (Copy Number Variation (CNV) analysis);
- анализ методом массового параллельного секвенирования (Next Generation Sequencing (NGS) analysis);
- анализ однонуклеотидных полиморфизмов (Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping);
- анализ коротких tandemных повторов (Short Tandem Repeat (STR) analysis) и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) analysis);
- анализ методом сравнительной геномной гибридизации (Comparative Genomic Hybridization (CGH)).

Набор реагентов предназначен только для исследовательских целей (RUO).

## 2 Характеристика набора

### 2.1 Состав набора реагентов

В состав набора входят следующие реагенты:

- 2,5х ММ (мастер-микс без фермента),
- SD ДНК-полимераза,
- Контрольная ДНК, 50 нг/мкл (геномная ДНК человека),
- 5х ПЦР смесь,
- Таq ДНК-полимераза,
- 50х SYBR green,
- Вода для ПЦР.

Состав набора и объем реагентов приведены в таблице 1.

**Таблица 1. Состав набора и объем реагентов**

Наименование реагента	Пробирка, шт	Цвет крышки пробирки	Номинальный объем, мкл		
			на 12 реакций	на 24 реакции	на 96 реакций
2,5х ММ (мастер-микс)	1	 фиолетовый	165	300	1100
SD ДНК-полимераза	1	 красный	33	60	212
Контрольная ДНК, 50 нг/мкл	1	 зеленый	30	30	30
5х ПЦР смесь	1	 прозрачный	75	135	495
Таq ДНК-полимераза	1	 синий	15	27	99
50х SYBR green	1	 черный	8	14	50
Вода для ПЦР	N*	 белый	1400	1400	1400

\*Для наборов на 12 реакций N = 1, на 24 и 96 реакций N = 2

### 2.2 Количество проводимых полногеномных амплификаций

Набор реагентов на 12 реакций "WGA Display (12)" содержит реактивы для проведения 12 реакций, что позволяет амплифицировать в одной постановке двенадцать исследуемых образцов, положительные и отрицательный контроли.

Набор реагентов на 24 реакции "WGA Display (24)" содержит реактивы для проведения 24 реакций, что позволяет амплифицировать в одной постановке двадцать четыре исследуемых образца, положительные и отрицательный контроли.

Набор реагентов на 96 реакций "WGA Display (96)" содержит реактивы для проведения 96 реакций, что позволяет амплифицировать в одной постановке девяносто шесть исследуемых образца, положительные и отрицательный контроли.

### 2.3 Принцип действия набора

Метод полногеномной амплификации, используемый в наборе, является улучшенной версией дегенеративной олиго-ПЦР (DOP-PCR) с оптимизированными последовательностями праймеров и уникальным ферментом – SD ДНК-полимеразой. Этот фермент сочетает в себе способность вытеснять нити ДНК с сохранением стабильности при температуре до 92°C. Благодаря данным особенностям этот фермент можно использовать для обеих стадий амплификации (начальный неспецифический отжиг праймеров и дальнейшая амплификация фрагментов) без затрат времени на дополнительное пипетирование.

Набор реагентов содержит мастер-микс 2,5х ММ, в состав которого входят все необходимые реагенты для проведения полногеномной амплификации ДНК образца, за исключением SD ДНК-полимеразы, поставляемой в отдельной пробирке.

Для оценки эффективности полногеномной амплификации набор содержит реагенты для проведения ПЦР в режиме реального времени.

В каждой постановке полногеномной амплификации необходимо использовать положительные контрольные образцы (ПКО1 и ПКО2) и отрицательный контрольный образец (ОКО). ПКО1 и ПКО2 содержат геномную ДНК человека в различных концентрациях. ОКО содержит воду для ПЦР.

### 2.4 Ограничения при применении

Для достижения наилучшего результата амплификации следует избегать использования ДНК, полученной из окрашенных клеток, а также из образцов, фиксированных в формалине.

## 3 Меры предосторожности

3.1 Допускать к работе с набором реагентов только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в ПЦР-лаборатории.

3.2 Применять набор реагентов строго по назначению, согласно настоящей инструкции.

3.3 Работу следует проводить в ПЦР-боксе биобезопасности II класса защиты.

3.4 Во избежание риска контаминации проводить выделение образцов ДНК и постановку ПЦР в отдельных помещениях (зонах). Не возвращать образцы, реагенты и оборудование в зону, в которой была проведена предыдущая стадия.

3.5 При работе с набором реагентов использовать лабораторную одежду и одноразовые медицинские перчатки без талька. Тщательно вымыть руки по окончании работы.

3.6 Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором дозаторов переменного объёма, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.

3.7 При постановке ПЦР использовать и менять после каждой операции одноразовые наконечники с фильтром для автоматических дозаторов. Использованные наконечники и пробирки сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство для обеззараживания медицинских отходов.

3.8 Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

3.9 После окончания работ для дезинфекции и предотвращения контаминации все рабочие поверхности и оборудование следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Провести обработку рабочих поверхностей оборудования дезинфицирующими средствами.

3.10 Не использовать компоненты наборов реагентов из разных серий.

3.11 Не использовать набор реагентов по истечении срока годности, при нарушении условий транспортировки или хранения.

**П р и м е ч а н и е** – Набор реагентов не содержит веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

3.12 Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, биологический материал и упаковку подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией согласно 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, реагентов и оборудования.

## 4 Оборудование и материалы

### 4.1 Оборудование, необходимое для работы с набором реагентов

- Автоматические дозаторы одноканальные переменного объема, разных объемов (например, DiscoveryComfort, Corning HTL SA, Польша или аналогичные).
- Амплификатор (например, БИС М111-02-48, ООО «БИС-Н», Россия или аналогичный).
- Амплификатор в реальном времени (например, CFX96 Touch Bio-Rad laboratories, Inc. США или аналогичный).
- Флуориметр для измерения концентрации ДНК (например, Qubit 3.0 Thermo Fisher scientific Inc. США или аналогичный).
- Магнитный штатив для работы с пробирками объемом 0,2 мл (например, ООО «Компания Хеликон», Россия или аналогичный).
- Мини-центрифуга-вортекс (например, «Микроспин» FV-2400 SIA «Biosan», Латвия или аналогичный).
- ПЦР-бокс 2-го класса биологической защиты для работы с ДНК (например, БАВ-ПЦР-Ламинар-С, ЗАО «Ламинарные системы», Россия или аналогичный).
- Термостол холодный (например, Микротермостат М-210, ООО «БИС-Н», Россия или аналогичный).
- Холодильник с морозильной камерой от минус 18 до минус 25°C (например, ATLANT ХМ-6023-031, ЗАО «АТЛАНТ», РБ или аналогичный).

### 4.2 Материалы, необходимые для работы с набором реагентов

- Контейнер одноразовый, пластиковый для сброса отходов (например, «ЕК-01», ООО «КМ-ПРОЕКТ», Россия или аналогичный).
- Пробирки микроцентрифужные градуированные, объемом 0,2; 0,5; 1,5 мл (Axygen Inc., США или Bio-Rad Laboratories Inc., США).
- Стрипованные пробирки, объемом 0,2 мл (Axygen Inc., США или Bio-Rad Laboratories Inc., США).

- Наконечники для дозаторов универсальные с фильтром, разных объемов (например, Axugen Inc., США или аналогичные).
- Перчатки медицинские одноразовые неопудренные нитриловые или латексные (например, TG MEDICAL Sdn. Bhd., Малайзия или аналогичные).
- Штативы для пробирок разных объёмов (например, Axugen Inc., США или аналогичные).
- Магнитные частицы (например, AMPure XP, Beckman Coulter Inc., США или аналогичные)

## 5 Материал для проведения полногеномной амплификации

В качестве материала для проведения полногеномной амплификации используется от 15 до 500 пг геномной ДНК млекопитающих, выделенной из любых видов биологических тканей и жидкостей.

В набор не входят реагенты для выделения ДНК. Для получения ДНК можно использовать наборы реагентов для выделения ДНК различных производителей.

Выделенные образцы ДНК необходимо хранить с соблюдением условий согласно требованиям инструкции используемого набора для выделения ДНК и с соблюдением мер, предотвращающих контаминацию образцов чужеродной ДНК.

## 6 Подготовка к работе

6.1 Отобрать и подписать необходимое для работы количество пробирок объемом 0,2 мл в соответствии с количеством и маркировкой исследуемых образцов, положительных контрольных образцов 60 пг (ПКО1) и 15 пг (ПКО2) и отрицательного контрольного образца (ОКО).

**ВНИМАНИЕ!** Помимо исследуемых образцов ДНК в каждой постановке необходимо использовать ПКО1, ПКО2 и ОКО.

6.2 Рассчитать необходимое количество реагентов для приготовления реакционной смеси с учетом количества амплифицируемых образцов, а также ПКО1, ПКО2 и ОКО.

6.3 Общий объем всех компонентов в одной пробирке составляет 25 мкл. Из них реакционная смесь составляет 22,5 мкл, исследуемый образец ДНК – 2,5 мкл.

Объемы реагентов реакционной смеси на одну реакцию представлены в таблице 2.

**Таблица 2. Объемы реагентов на одну реакцию**

Реагент	Объем реагентов (V), мкл
2,5х ММ (мастер-микс)	10
SD ДНК-полимераза	2
Вода для ПЦР	10,5

**П р и м е ч а н и е** – В случае, если количество ДНК в 2,5 мкл образца ниже рекомендуемого (15 пг), следует внести в пробирку больший объем образца, соответственно уменьшив объем воды в реакционной смеси.

Реакционную смесь рекомендуется готовить с небольшим запасом, примерно в 10%, тогда рекомендуемый расчетный коэффициент ( $k_p$ ) составит 1,1.

Рекомендуемые объемы реагентов реакционной смеси на одну реакцию представлены в таблице 3.

**Таблица 3. Рекомендуемые объемы реагентов на одну реакцию**

Реагент	Рекомендуемый объем реагентов ( $V_p$ ), мкл
	$V_p = k_p * V, (k_p = 1,1)$
2,5х ММ (мастер-микс)	$10 * 1,1 = 11$
SD ДНК-полимераза	$2 * 1,1 = 2,2$
Вода для ПЦР	$10,5 * 1,1 = 11,55$

Конечные объемы реагентов реакционной смеси для постановки исследуемых образцов определяются по формуле (1):

$$(1). V_k = (N+3) * V_p,$$

где  $V_k$  – конечный объем реагента реакционной смеси,

$N$  – число исследуемых образцов в одной постановке,

$V_p$  – рекомендуемый объем реагента реакционной смеси.

Реакционную смесь в одной постановке рекомендуется готовить как минимум для трех образцов, чтобы предотвратить ошибку пипетирования малых объемов.

**ПРИМЕР!** Расчет конечных объемов реагентов реакционной смеси для постановки трех образцов ( $N = 3$ ), ПКО1, ПКО2 и ОКО.

Рассчитаем конечные объемы реагентов по формуле (1), используя значения рекомендуемых объемов реагентов, представленные в таблице 3.

Результаты расчетов представлены в таблице 4.

**Таблица 4. Конечные объемы реагентов на одну постановку**

Реагент	Конечный объем реагентов ( $V_k$ ), мкл
	$V_k = (N+3) * V_p$
2,5х ММ (мастер-микс)	$11 * (3+3) = 66$
SD ДНК-полимераза	$2,2 * (3+3) = 13,2$
Вода для ПЦР	$11,55 * (3+3) = 69,3$

6.4 Подготовить реагенты к работе как указано в таблице 5.

**Таблица 5. Подготовка реагентов к работе**

Наименование реагента	Цвет крышки пробирки	Подготовка к работе
Вода для ПЦР	 белый	Разморозить при комнатной температуре.
2,5х ММ (мастер-микс)	 фиолетовый	Разморозить при комнатной температуре. Перемешать на вортексе и кратко центрифугировать в течение 1-2 сек при 1000 об/мин
Контрольная ДНК, 50 нг/мкл	 зеленый	Кратко центрифугировать в течение 1- 2 сек при 1000 об/мин
SD ДНК-полимераза	 красный	Кратко центрифугировать в течение 1- 2 сек при 1000 об/мин

Не использовать вортекс для SD ДНК-полимеразы, это может привести к инактивации фермента.

Подготовить ПКО1 и ПКО2. Концентрация контрольной ДНК, включенной в состав набора, составляет 50 нг/мкл. Перед использованием её необходимо разбавить водой для ПЦР до концентраций 25 пг/мкл и 6 пг/мкл, используя двустадийное разведение. Например, к воде для ПЦР, объемом 99 мкл добавить 1 мкл контрольной ДНК, перемешать на вортексе и кратко центрифугировать, после чего к воде для ПЦР объемом 19 мкл и 79 мкл добавить по 1 мкл полученного раствора контрольной ДНК.

В каждой постановке необходимо использовать свежеприготовленный ПКО1 и ПКО2.

Разместить подготовленные реагенты на термостолу, предварительно охлажденном до 4°C (для охлаждения реагентов можно использовать лед).

## 7 Проведение полногеномной амплификации

### 7.1 Приготовление амплификационной смеси

Слить рассчитанные количества компонентов реакционной смеси в пробирку, перемешать на вортексе и сбросить капли на дно пробирки с помощью короткого центрифугирования в течение 1-2 сек при 1000 об/мин.

**ВАЖНО!** После приготовления реакционных смесей оставшиеся реагенты сразу убрать на хранение при минус 18°C.

Внести по 22,5 мкл реакционной смеси в промаркированные пробирки. Добавить 2,5 мкл или исследуемого образца или ПКО1, ПКО2, или ОКО в соответствующие промаркированные пробирки. Конечный объем смеси в каждой пробирке составляет 25 мкл. Кратко перемешать содержимое пробирок на вортексе и собрать капли на дне пробирки с помощью короткого центрифугирования. Поместить пробирки в амплификатор.

## 7.2 Проведение амплификации

Провести амплификацию в соответствии с программой, представленной в таблице 6.

**Таблица 6. Программа амплификации**

Температура, °С	Время, сек	Рекомендуемая скорость изменения температуры, °С/сек	Количество циклов
92	120	нагрев – 1,8	1
92	40	нагрев – 1,8	6
30	120	охлаждение – 0,3	
68	300	нагрев – 0,3	
92	30	нагрев – 1,8	18
62	90	охлаждение – 1,8	
68	300	нагрев – 1,8	
68	300		1

**ВНИМАНИЕ!** Температура нагрева крышки амплификатора должна составлять 105°C.

## 8 Оценка результатов полногеномной амплификации

Для оценки результата полногеномной амплификации предлагается использовать метод ПЦР в режиме реального времени.

### 8.1 Проведение ПЦР в режиме реального времени

Необходимо отобрать и подписать стрипованные пробирки объемом 0,2 мл для проведения ПЦР в режиме реального времени с продуктами амплификации исследуемых и контрольных образцов ПКО1, ПКО2 и ОКО.

Рассчитать необходимое количество реагентов для приготовления реакционной смеси с учетом количества амплифицируемых образцов, а также ПКО1, ПКО2 и ОКО.

Общий объем всех компонентов в одной пробирке составляет 25 мкл. Из них реакционная смесь составляет 23 мкл, исследуемый образец амплификата – 2 мкл.

Объемы реагентов реакционной смеси на одну реакцию представлены в таблице 7.

**Таблица 7. Объемы реагентов на одну реакцию**

Реагент	Объем реагентов (V), мкл
5x ПЦР смесь	5
Тaq ДНК-полимераза	1
Вода для ПЦР	16,5
50x SYBR green	0,5

Перед началом работы необходимо подготовить реагенты к работе как указано в таблице 8.

**Таблица 8. Подготовка реагентов к работе**

Наименование реагента	Цвет крышки пробирки	Подготовка к работе
5x ПЦР смесь	 прозрачный	Разморозить при комнатной температуре. Перемешать на вортексе и кратко центрифугировать в течение 1–2 сек при 1000 об/мин
Вода для ПЦР	 белый	Перемешать на вортексе и кратко центрифугировать в течение 1–2 сек при 1000 об/мин
50x SYBR green	 черный	Перемешать на вортексе и кратко центрифугировать в течение 1–2 сек при 1000 об/мин
Тaq ДНК-полимераза	 синий	Кратко центрифугировать в течение 1–2 сек при 1000 об/мин

Не использовать вортекс для Тaq ДНК-полимеразы, это может привести к инактивации.

Продукты полногеномной амплификации исследуемых и контрольных образцов (ПКО1, ПКО2 и ОКО) необходимо развести водой в  $10^4$  раз в отдельных пробирках. Например, к воде, объемом 99 мкл добавить 1 мкл амплификата, перемешать на вортексе и кратко центрифугировать, после чего к воде объемом 99 мкл добавить по 1 мкл полученного раствора амплификата.

Слить рассчитанные объемы компонентов реакционной смеси в одну пробирку, перемешать на вортексе и сбросить капли на дно пробирки с помощью короткого центрифугирования.

**ВАЖНО!** После приготовления реакционных смесей, оставшиеся реагенты сразу убрать на хранение при минус 18°C.

Внести по 23 мкл реакционной смеси в промаркированные пробирки. Добавить по 2 мкл ранее разведенного амплификата (исследуемые образцы, ПКО1, ПКО2 и ОКО), в соответствующие промаркированные пробирки. Конечный объем амплификационной смеси составляет 25 мкл. Кратко центрифугировать смесь, чтобы собрать капли на дне пробирки. Поместить пробирки в детектирующий амплификатор.

Провести амплификацию в соответствии с программой, представленной в таблице 9.

**Таблица 9. Программа амплификации**

Температура, °С	Время, сек	Измерение флуоресценции	Количество циклов
95	120		1
95	15	Нет	35
60	30		
72	40	Да	

**ВНИМАНИЕ!** Температура нагрева крышки амплификатора должна составлять 105°C.

Регистрацию сигнала флуоресценции проводить на канале SYBR.

## 8.2 Анализ результатов

Значение порогового уровня флуоресценции кривых продуктов полногеномной амплификации исследуемых образцов должно находиться между значениями порогового уровня кривых продуктов амплификации ПКО1 и ПКО2. Разница между значениями порогового уровня кривых амплификации ПКО1 и ПКО2 должна составлять 2-3 цикла. Значение порогового уровня кривой амплификации ОКО должно превышать значение уровня кривой амплификации ПКО2 на 5-6 циклов. В случае, если значения пороговых уровней отличаются от описанных выше, результаты анализа могут быть недостоверны. Возможные проблемы и способы их устранения представлены в таблице 10 п.9 настоящей инструкции.

На рисунке 1 представлен пример результата анализа продуктов полногеномной амплификации исследуемых и контрольных образцов с помощью ПЦР в режиме реального времени. Исследуемые образцы содержали 15, 30, 60, 125

пг геномной ДНК человека. Анализ был проведён с помощью детектирующего амплификатора Real-time CFX96 Touch, Bio-Rad.

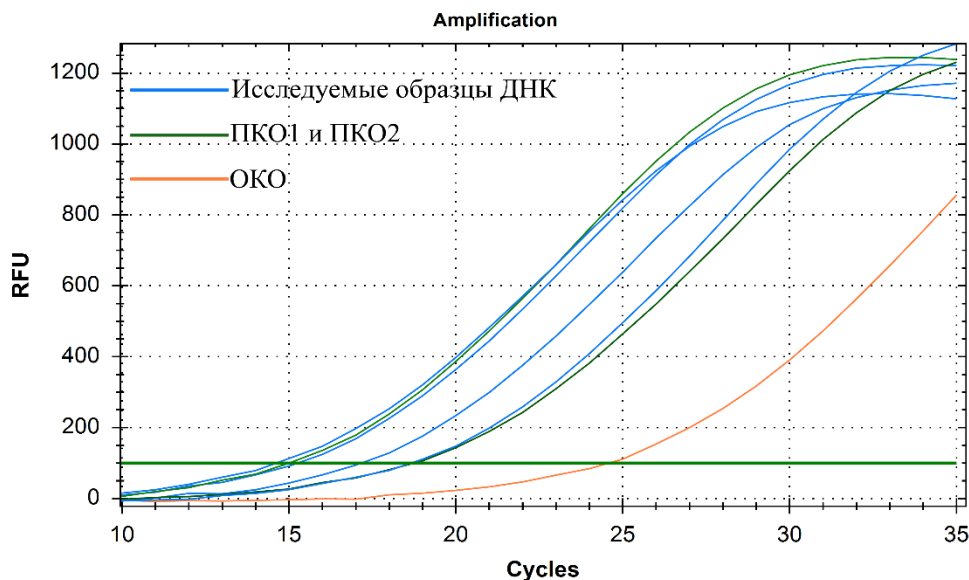


Рис. 1. Пример кривых флуоресценции продуктов полногеномной амплификации исследуемых и контрольных образцов, в относительных единицах (RFU). Значение порогового уровня флуоресценции (100) установлено вручную.

Если значение порогового уровня флуоресценции исследуемого образца удовлетворяет требованиям, представленным в начале данного раздела (8.2), то далее рекомендуется провести очистку полученного продукта амплификации с использованием магнитных частиц (например, AMPure XP, Beckman Coulter, США) из расчета: объем добавляемых частиц равен 1,8 объема амплификата.

Измерение количества амплификата проводится флуорометрическим методом. Типичный выход продуктов амплификации исследуемых образцов составляет 15-40 нг/мкл.

Полученный продукт амплификации может быть использован для дальнейших исследований. Амплификат хранить не более одного месяца при температуре минус 18°C.

## 9 Возможные проблемы и способы их устранения

**Таблица 10. Возможные проблемы и способы их устранения**

Проблема	Возможная причина	Устранение
Кривые амплификации исследуемых образцов пересекает пороговый уровень флуоресценции позднее кривой ПКО2.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Использование несоответствующих пробирок.</li> <li>2. Использование ДНК, выделенной из окрашенного материала или фиксированного в формалине.</li> <li>3. ДНК в образце деградирована.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Использовать рекомендованные пробирки, согласно п. 4.2.</li> <li>2. Не использовать окрашенный материал или фиксированный в формалине.</li> <li>3. Необходимо соблюдение условий транспортировки и хранения образцов ДНК.</li> </ol>
Кривые амплификации исследуемых образцов пересекают пороговый уровень флуоресценции раньше кривой ПКО1.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Контрольная ДНК адсорбировалась на стенки пробирки при хранении.</li> <li>2. Использование несоответствующих пробирок.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Подготовить ПКО в меньшем разведении (например, вместо 25 пг/мкл до 50 пг/мкл).</li> <li>2. Использовать рекомендованные пробирки, согласно п. 4.2.</li> </ol>
Кривые амплификации исследуемых образцов пересекают пороговый уровень флуоресценции одновременно с кривой ОКО.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Исследуемый образец ДНК не присутствовал в реакционной пробирке.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Убедитесь, что исследуемый образец ДНК точно перенесен в пробирку.</li> </ol>
Кривая амплификации ОКО пересекает пороговый уровень флуоресценции <5 цикла.	Контаминация компонентов набора.	Прекратить использование данного набора и утилизировать компоненты.

**П р и м е ч а н и е** – Если возникают проблемы, не описанные в этом пункте, или принимаемые меры являются неэффективными, обратитесь за консультацией к специалисту по работе с наборами по указанному телефону в п. 13.

## 10 Требования к транспортированию и хранению

### 10.1 Транспортирование

Транспортирование набора реагентов осуществляют всеми видами крытого транспорта при температуре не выше минус 18°C.

Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

### 10.2 Хранение

Набор реагентов следует хранить в холодильнике или морозильной камере при температуре от минус 18 до минус 22°C в течение всего срока годности набора.

Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

## 11 Указания по применению

11.1 Набор реагентов должен применяться согласно инструкции по применению.

11.2 Перед использованием необходимо полностью разморозить 2,5х ММ (мастер-микс), контрольную ДНК и воду. В процессе постановки эксперимента компоненты набора рекомендуется хранить на термостоле с температурой 4°C или в штативе с охлаждением (на льду).

11.3 Следует избегать излишних (более пяти) циклов замораживания-размораживания мастер-микса. Если набор предполагается использовать на длительном промежутке времени с постановкой небольшого количества реакций, мастер-микс рекомендуется предварительно разделить на аликвоты.

11.4 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

## 12 Требования к утилизации

12.1 При использовании набора реагентов образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

12.2 Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, и неиспользованные реактивы относятся к классу Б и подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ 1.3.2569-09.

12.3 Упаковка набора реагентов (коробки картонные) после использования по назначению, относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами.

### 13 Гарантийные обязательства

13.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик набора реагентов требованиям нормативной и технической документации в течении указанного срока годности при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

13.2 Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

13.3 Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по телефону: +7 (383)382-99-80.

13.4 Рекламации по вопросам качества набора реагентов " WGA Display" следует направлять в ООО «ДНК-дисплей» по адресу: 630090 г. Новосибирск, ул. Николаева, 13. Тел: +7 (383)382-99-20, e-mail: dna-display@mail.ru

## 14 Маркировка

Маркировка потребительской упаковки содержит следующие графические символы:

	Содержимого достаточно для проведения указанного количества реакций		Номер по каталогу
	Температурный диапазон (условия хранения и транспортирования)		Номер серии
	Обратитесь к инструкции по применению		Дата изготовления (месяц, год)
	Только для исследовательских целей		Использовать до (месяц, год)
			Изготовитель

**Производство: ООО «БиоЛинк»**

Адрес: 630090, г. Новосибирск, ул. Николаева, д. 13

Телефон: (383) 209-32-40

E-mail: [info@biolinklab.ru](mailto:info@biolinklab.ru)

Веб-сайт: [biolinklab.ru](http://biolinklab.ru)