

**Комплект реагентов для проведения ПЦР-амплификации ДНК боррелии бургдорфери (*Borrelia burgdorferi*) (форматы «FLASH» и «Real-time»)**

Состав (на 50 определений)

Реактив	Количество	
• Смесь для амплификации, запечатанная парафином	20 мкл	50 пробирок
• Раствор Taq-полимеразы	500 мкл	1 пробирка
• ПЦР-буфер*	100 мкл	1 пробирка
• Минеральное масло	1,0 мл	1 пробирка
• Положительный контрольный образец («К+»)	75 мкл	1 пробирка

\* – в комплектах в формате «FLASH»

**Инструкция по применению**

**1. Постановка амплификации**

- 1.1. Промаркируйте пробирки с запечатанной парафином смесью для амплификации (с учётом пробирок для отрицательного контрольного образца – «К-», положительного контрольного образца «К+»). При использовании для учёта результатов амплификации ПЦР-детектора (формат «FLASH») промаркируйте дополнительно две пробирки «ФОН» для контроля фона флуоресценции.
- 1.2. Добавьте в каждую пробирку (кроме пробирок «ФОН»), не повреждая слой парафина, по 10 мкл тщательно перемешанного раствора Taq-полимеразы. В пробирки, маркированные «ФОН», добавьте по 10 мкл ПЦР-буфера («ФОН»).
- 1.3. Добавьте в каждую пробирку по 1 капле минерального масла.
- 1.4. Добавьте в каждую пробирку, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образца препарата ДНК (кроме пробирок «К-», «К+», «ФОН»). В пробирки, маркированные «К-» и «ФОН», внесите по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего пробоподготовку, в пробирку, маркированную «К+», внесите 5,0 мкл положительного контрольного образца.
- 1.5. Центрифугируйте пробирки при 1000 об/мин в течение 3–5 сек.
- 1.6. Установите все пробирки в амплификатор и проведите ПЦР в режиме, приведённом в таблицах, с учётом объёма реакционной смеси 35 мкл.

**2. Проведение детекции и учёт результатов ПЦР-амплификации ДНК**

- 2.1. Формат «FLASH»: с помощью ПЦР-детектора «Джин» или «Джин-4» (ООО «НПО ДНК-Технология») согласно инструкции к прибору (пороговые значения для специфического продукта составляют 1,75 – 2,10, для внутреннего контроля – 2,50) или с помощью гель-электрофореза (см. табл. 5 и инструкцию для проведения гель-электрофореза).
- 2.2. Формат «Real-time»: на приборах ДТ-322, ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология») или iCycler iQ (Bio-Rad) в соответствии с инструкциями к приборам или с помощью гель-электрофореза (см. табл. 5 и инструкцию для проведения гель-электрофореза).

**Условия хранения**

Комплект реагентов для ПЦР-амплификации следует хранить в тёмном месте при 2–8°C в течение всего срока годности.

Срок годности комплектов: формат «FLASH» – 6 месяцев, формат «Real-time» – 9 месяцев с даты изготовления.

По вопросам, касающимся качества комплектов реагентов для проведения ПЦР-амплификации ДНК боррелии бургдорфери (*Borrelia burgdorferi*) (форматы «FLASH» и «Real-time»), следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, к.6, 11 этаж

Тел./факс +7 (495) 980-45-55

E-mail: [help@dna-technology.ru](mailto:help@dna-technology.ru)

[www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru)

Анкета для осуществления обратной связи находится на нашем сайте: <http://www.dna-technology.ru/support>

Таблица 1. **Формат «FLASH»**

Режим амплификации для амплификатора Терцик  
с активным регулированием (ООО «НПО ДНК-Технология»  
Алгоритм регулирования: «точный»

№ блока	Температура, °С	Время		Число циклов
		мин	сек	
1	94,0	1	30	1
2	94,0	0	5	5
	64,0	0	5	
	67,0	0	5	
3	94,0	0	1	40
	64,0	0	5	
	67,0	0	5	
4	10,0	...	...	хранение

Таблица 2. **Формат «Real-time»**

Режим амплификации для детектирующих амплификаторов  
ДТ-322 и ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»)

№ блока	Температура, °С	мин	сек	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80,0	1	00	1		Цикл
	94,0	1	30			
2	94,0	0	30	5		Цикл
	64,0	0	15		√	
3	94,0	0	10	45		Цикл
	64,0	0	15		√	
4	10,0	...	...	Хранение		Хранение

Таблица 3. **Формат «Real-time»**

Режим амплификации для детектирующего амплификатора  
iCycler iQ (Bio-Rad Laboratories)

Cycle	Repeats	Step	Dwell Time	Setpoint, C°	PCR/Melt Data Acquisition
Программа для считывания динамических факторов лунок dynamicwf.tmo.					
1	1	1	30 sec	80,0	
		2	90 sec	94,0	
2	5	1	30 sec	94,0	
		2	45 sec	64,0	
3	2	1	30 sec	80,0	Real Time
		2	45 sec	64,0	
Программа амплификации					
4	45	1	10 sec	94,0	
		2	45 sec	64,0	Real Time
5		...	...	10,0	storage

Таблица 4. Длина продуктов ПЦР-амплификации

Продукт ПЦР-амплификации	Длина продукта амплификации, пар нуклеотидов
Боррелии бургдорфери ( <i>Borrelia burgdorferi</i> )	335
Внутренний контроль	560