CONGEN

SureFood® ALLERGEN Моллюски

Артикул №S3613

100 rxn

Руководство пользователя

июнь 2021

Пожалуйста, обращайтесь по вопросам технической поддержки и дополнительной информации к официальным дистрибьюторам на территории Вашей страны:

Официальный дистрибьютор в России:
ООО "НеоТест"
ул. Растопчина, 1Г, г. Владимир
+7 499 649 02 01
info@neo-test.ru
www.neo-test.ru

Техническая поддержка
support@neo-test.ru
+7 499 704 05 50

Официальный дистрибьютор в Беларуси:
ОДО "КомПродСервис"
ул. Филимонова, 25Г, г. Минск
+375 17 336 50 54
info@komprod.com
www.komprod.com

Техническая поддержка
support@komprod.com
+375 17 336 50 54

CONGEN Biotechnologie GmbH | Robert-Roessle-Straße 10 | 13125 Berlin
Tel: +49 30 9489-3500 | Fax +49 30 9489-3510 | e-mail: info@congen.de | www.congen.de

1 Общая информация

1.1.Описание

SureFood® ALLERGEN Molluscs — это ПЦР в реальном времени для прямого качественного определения последовательностей ДНК конкретных моллюсков (моллюсков) в соответствии с директивой (ЕС) 1169/2011. Семейство моллюсков насчитывает 50 000–60 000 видов. Из-за большого количества различных видов практическая проверка всех невозможна. Более подробная информация доступна в Отчете о валидации моллюсков SureFood® ALLERGEN.

Каждая реакция содержит внутренний контроль амплификации (IAC). Если ДНК содержит вещества, ингибирующие ПЦР, это повлияет на сигнал контроля амплификации или амплификация будет подавлена. Примерами веществ, ингибирующих ПЦР, являются спирты (например, этанол, изопропанол), поверхностно-активные вещества (например, CTAB, SDS, Triton X100) и соли (например, хлорид натрия). Кроме того, специи, травы, водоросли, какао и другие матрицы образцов могут оказывать ингибирующее действие на ПЦР.

Анализ ПЦР в реальном времени можно проводить с помощью широко используемых инструментов для ПЦР в реальном времени, оборудованных для одновременного обнаружения двух флуоресцентных эмиссий в каналах FAM и VIC/HEX. Техническая валидация приборов проводилась на Roche LightCycler® 480 II, Roche cobas® z 480 Analyzer, Qiagen Rotor-Gene Q, Applied Biosystems 7500, Bio-Rad CFX96, R-Biopharm RIDA®CYCLER, AriaDx и Agilent Mx3005P.

1.2. Предел обнаружения и предел количественной оценки

ПЦР SureFood® ALLERGEN Molluscs имеет предел обнаружения ≤ 0,4 мг/кг с использованием SureFood® PREP Advanced, протокол 1.

Предел обнаружения полного метода (выделение ДНК и ПЦР в реальном времени) зависит от матрицы образца, степени обработки, подготовки ДНК и содержания ДНК.

The SureFood® PCR systems are very sensitive and therefore even a small amount of target DNA is sufficient for a successful analysis. The concentration of total DNA in the sample does not allow a conclusion on the quantity and quality of the target DNA.

CONGEN Biotechnologie GmbH | Robert-Roessle-Straße 10 | 13125 Berlin
Tel: +49 30 9489-3500 | Fax +49 30 9489-3510 | e-mail: info@congen.de | www.congen.de

1.3. Подготовка ДНК

Для подготовки ДНК рекомендуется использовать SureFood® PREP Advanced (арт. № S1053), протокол 1 или SureFast® Mag PREP Food (арт. № F1060).

1.4. Компоненты наборы и условия хранения

Номер	Реагент	Количество	Цвет крышки
1	Реакционная смесь	2 x 1100 мкл	Жёлтый
2	Taq полимераза	1 x 80 мкл	Темно-красный
3	Положительный контроль	1 x 200 мкл	Голубой

Храните все реагенты при температуре -20°C в защищенном от света месте. Taq-полимеразу можно хранить при температуре от +2 до +8°C для многократного использования в один и тот же день.

Примечание. Taq-полимераза может находиться в замороженном или незамороженном состоянии. Это не влияет на качество полимеразы Taq или эффективность ПЦР анализа.

1.5. Дополнительные оборудование и материалы

- Набор для выделения ДНК (например, SureFood® PREP Advanced, арт. № S1053 или SureFast® Mag PREP Food, арт. № F1060)
- Прибор ПЦР в реальном времени с двумя каналами детекции (510 нм и 580 нм)
- Расходные материалы для ПЦР в реальном времени (планшеты, пробирки, фольга, колпачки)
- Пипетки с фильтрующими наконечниками
- Неопудренные одноразовые перчатки
- Вортекс
- Микроцентрифуга с ротором для реакционных пробирок

1.6. Настройки

	Блочный циклер & R-Biopharm RIDA®CYCLER	Роторный циклер
Начальная денатурация (HOLD) Циклы Денатурация Отжиг/Расширение (CYCLE)	5 мин, 95°C 45 15 сек, 95°C 30 сек, 60°C	1 мин, 95°C 45 10 сек, 95°C 15 сек, 60°C
Скорость температурного перехода/скорость линейного изменения	Максимальная	Максимальная

CONGEN Biotechnologie GmbH | Robert-Roessle-Straße 10 | 13125 Berlin
Tel: +49 30 9489-3500 | Fax +49 30 9489-3510 | e-mail: info@congen.de | www.congen.de

1.7. Настройки канала обнаружения

Устройство для ПЦР в реальном времени	Обнаружение	Канал обнаруже-ния	Тушитель	Примечание
Agilent Mx3005P	Моллюски	FAM	+	
	IAC	HEX	+	
Agilent AriaDx / Mx	Моллюски	FAM	+	
	IAC	HEX	+	
Applied Biosystems 7500	Моллюски	FAM	нет	Убедитесь, что параметр пассивной ссылки ROX отсутствует.
	IAC	VIC	нет	
Bio-Rad CFX96 / Dx	Моллюски	FAM	+	
	IAC	VIC/HEX	+	
Qiagen Rotor-Gene Q	Моллюски	зеленый	+	**Примечание**. Используйте только пробирки объемом 0,1 мл. Настройки усиления должны быть установлены на 5 (заводская настройка по умолчанию) для всех каналов.
	IAC	желтый	+	
R-Biopharm RIDA®CYCLER	Моллюски	зеленый	+	
	IAC	желтый	+	
Roche LightCycler® 480 II	Моллюски	465-510	+	
	IAC	533-580	+	
Roche cobas® z 480 Analyzer	Моллюски	465-510	+	
	IAC	533-580	+	

CONGEN Biotechnologie GmbH | Robert-Roessle-Straße 10 | 13125 Berlin
Tel: +49 30 9489-3500 | Fax +49 30 9489-3510 | e-mail: info@congen.de | www.congen.de

2 Качественный анализ

2.1.Протокол

2.1.1.Приготовление мастер-микса

Рассчитайте общее количество необходимых реакций (образцы и контрольные реакции) для конкретного анализа ПЦР.

Рекомендуемые контрольные реакции для конкретного ПЦР-анализа: отрицательный контроль, контроль экстракции, положительный контроль. Реакционная смесь содержит внутренний контроль амплификации (IAC) для каждой реакции.

Реакции, необходимые для качественного обнаружения моллюска:

3 реакции для контролей (1 контроль без матрицы, 1 контроль экстракции, 1 положительный контроль)

Для каждого образца: как минимум 1 реакция для каждого образца ДНК

Также рекомендуется готовить мастер-микс с добавлением 10 % объема, чтобы компенсировать потери реагента. Дайте реагентам оттаять, перемешайте и отцентрифугируйте перед открытием и использованием.

Пример расчета и приготовления 10 реакций:

Компоненты мастер-микса	Количество на 1 реакцию	10 реакций (с 10% избытком)
Реакционная смесь	19,3 мкл	212,3 мкл
Taq полимераза	0,7 мкл	7,7 мкл
Общий объём	**20 мкл**	**220 мкл**

Хорошо перемешайте каждую мастер-микс и отцентрифугируйте незадолго до использования.

2.1.2.Приготовление смеси для ПЦР в реальном времени

- Внесите 20 мкл мастер-микса в соответствующие пробирки/лунки.
- Закрыть отрицательный контроль (отрицательный контроль готов к ПЦР без каких-либо добавок).
- Внесите пипеткой 5 мкл образца ДНК в указанные пробирки/лунки и закройте их.
- Внесите 5 мкл положительного контроля в указанные пробирки/лунки и закройте их.

CONGEN Biotechnologie GmbH | Robert-Roessle-Straße 10 | 13125 Berlin
Tel: +49 30 9489-3500 | Fax +49 30 9489-3510 | e-mail: info@congen.de | www.congen.de

- Кратковременно отцентрифугируйте все пробирки/планшеты на низкой скорости.
- Поместите пробирки/планшеты в прибор для ПЦР в реальном времени и запустите анализ в соответствии с настройками.

2.2. Интерпретация результатов

Оценка должна проводиться в соответствии с обычной программой анализа, рекомендованной производителем прибора для ПЦР в реальном времени.

Контрольные реакции должны показывать правильные результаты.

Образец считается положительным, если ДНК образца показывает амплификацию в системе обнаружения или полученное значение Cp ≤ 35. Высокие концентрации ампликона могут привести к слабому или отсутствующему сигналу внутреннего контроля амплификации (IAC).

Значение Cp для внутреннего контроля амплификации (IAC) не требуется для получения положительного результата положительного контроля/стандартной ДНК.

Образец считается отрицательным, если ДНК образца не показывает амплификации в системе обнаружения или полученное значение Cp > 35. Внутренний контроль амплификации (контроль ингибирования) образца должен быть положительным (VIC/HEX) со сдвигом в Cp-значение ≤ 2 по сравнению с отрицательным контролем. Если образец ДНК в VIC/HEX-канале не показывает амплификации или сдвиг значения Cp > 2 по сравнению с отрицательным контролем, он содержит вещества, ингибирующие ПЦР. Значительное снижение сигнала флуоресценции также может свидетельствовать о присутствии веществ, ингибирующих ПЦР. В этих условиях необходимо улучшить выделение ДНК и очистку образца. В качестве альтернативы ДНК можно развести (рекомендуется 1:2 в ПЦР-воде) и снова проанализировать на ингибирование. Обратите внимание, что коэффициент разбавления также влияет на предел обнаружения конкретного ПЦР-анализа моллюсков.

В качестве альтернативы для оценки образца можно использовать самостоятельно выбранный эталонный образец на пределе обнаружения. Этот эталонный образец не используется в соответствии с рекомендациями CONGEN по качеству и оценке.

Вывод:

Образцы с отрицательным результатом могут по-прежнему содержать примеси аллергенов ниже предела обнаружения анализа или они могут содержать другие компоненты аллергенов, такие как, например, белки или липиды.

CONGEN Biotechnologie GmbH | Robert-Roessle-Straße 10 | 13125 Berlin
Tel: +49 30 9489-3500 | Fax +49 30 9489-3510 | e-mail: info@congen.de | www.congen.de

4 Дополнительная информация

4.1 Информация о продукте

• Шаблон расчета Microsoft Excel и подробную информацию о настройке нескольких устройств ПЦР в реальном времени (скачать: www.congen.de/en/company/downloads) или запросить у Вашего местного дистрибьютора.

• Отчет о валидации также доступен по запросу.

4.2 Техническая поддержка

Если у вас возникнут дополнительные вопросы, свяжитесь с вашим дистрибьютором.

Официальный дистрибьютор в России:
ООО "НеоТест"

Техническая поддержка
support@neo-test.ru
+7 499 704 05 50

Официальный дистрибьютор в Беларуси:
ОДО "КомПродСервис"

Техническая поддержка
support@komprod.com
+375 17 336 50 54

CONGEN Biotechnologie GmbH | Robert-Roessle-Straße 10 | 13125 Berlin
Tel: +49 30 9489-3500 | Fax +49 30 9489-3510 | e-mail: info@congen.de | www.congen.de