«СОГЛАСОВАНО»	«УТВЕРЖДАЮ»
Директор	Генеральный директор
ФГБУ «НМИЦ АГП им.	АО «Ферст Генетикс»
В.И. Кулакова» Минздрава России,	
Академик РАН, профессор	
Г.Т. Сухих	Н.А. Кузнецов
«16» марта 2020г.	«16» марта 2020г.

Приложение №3 к акту
оценки результатов клинических испытаний № 07 от 30.10.2019г.

НАБОР РЕАГЕНТОВ «РЕПРОЛАЙН» ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ В ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТКАХ НА СИСТЕМЕ «F-GENETICS»

Инструкция по применению версии 16.03.20

Лист утверждения

Инв. №дубл.	
Взамен инв.№	
Подпись и дата	
Инв. №подл.	

Изм.	Лист	№ докум.	Подпись	Дата

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

F GENETICS
First complex decisions

IVD

Набор реагентов **«РепроЛайн»** для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics»

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

АО "Ферст Генетикс", Россия, 115162,
г. Москва, ул. Шухова, д.14, стр.9, пом. 7,
тел. (499) 673-02-88, e-mail: info@f-genetics.com

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ОГЛАВЛЕНИЕ

1.ОПИСАНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ 4
1.1. НАИМЕНОВАНИЕ И СОСТАВ 4
1.2. НАЗНАЧЕНИЕ 6
1.3. ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ПОТРЕБИТЕЛЬ 6
1.4. ОПИСАНИЕ ЦЕЛЕВОГО АНАЛИТА 7
1.5. УСЛОВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ 7
1.6. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ 7
1.7. ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ 7
1.8. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ 7
1.9. ВОЗМОЖНЫЕ ПОБОЧНЫЕ ДЕЙСТВИЯ 7
1.10. РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ 7
1.11. КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ 8
1.11.1. Обоснованность метода 8
1.11.2. Принцип метода 8
1.11.3. Клиническая значимость исследования 11
1.11.4. Функциональные характеристики набора 12
1.11.4.1. Типы выявляемых хромосомных аномалий 12
1.11.4.2. Аналитические характеристики набора 13
1.11.4.2.1. Аналитическая чувствительность 13
1.11.4.2.2. Предел обнаружения 13
1.11.4.2.3. Аналитическая специфичность 14
1.11.4.2.4. Предел обнаружения уровня мозаицизма в многоклеточных образцах 14
1.11.4.2.5. Повторяемость и воспроизводимость 15
1.11.4.3. Процент позитивного согласия и процент негативного согласия набора 16
1.11.4.4. Биоинформатические характеристики набора 17
1.11.4.4.1 Длина прочтения, количество прочтений, количество прочтений на один образец 17
1.11.4.4.2. Точность прочтения 18
1.11.4.4.3. Средняя глубина покрытия референсного генома 19
1.11.4.4.4. Медиана абсолютных значений всех парных отклонений (показатель MAPD, Median of the Absolute values of all Pairwise Differences) 19
2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА 20
2.1. Варианты исполнения, состав и комплектность 20
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА 26
3.1. Внутренний контроль качества 26
4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ 27
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ 28
6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ 32
7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ 35
8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ 36
8.1. Подготовка и пулирование библиотек 37
8.2. Пулирование, очистка и количественное определение библиотек 44
8.3. Создание программы запуска секвенатора 48
8.4. Запуск станции пробоподготовки 53
8.5. Инициализация секвенатора 71
8.6. Очистка станции пробоподготовки 76
8.7. Анализ результатов секвенирования 82
9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА 96
10. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОГРАММНОМ ОБЕСПЕЧЕНИИ 97
11. МАРКИРОВКА 98
12. УПАКОВКА 101

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

13. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ 104
14. БИБЛИОГРАФИЯ.....104
15. ПЕРЕЧЕНЬ НАЦИОНАЛЬНЫХ НОРМАТИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ/ СТАНДАРТОВ 105
16. УТИЛИЗАЦИЯ.....106
17. ТРЕБОВАНИЯ К ОХРАНЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ.....106
ДОПОЛНЕНИЕ А Поиск и устранение неисправностей 107
ДОПОЛНЕНИЕ Б Дополнительные процедуры 112

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

1.ОПИСАНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

1.1. НАИМЕНОВАНИЕ И СОСТАВ

«Набор реагентов «РепроЛайн» для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics»» по ТУ 21.20.23-002-03569019-2018

Варианты исполнения:

1. **«РепроЛайн 96»**

Состав:

1) Набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1), 4 шт.:
- буфер для экстракции нуклеиновых кислот – 480 мкл, 1 пробирка;
- буфер для реакции лизиса – 460,8 мкл, 1 пробирка;
- смесь ферментов для лизиса клеток – 19,2 мкл, 1 пробирка;
- преамплификационный буфер – 460,8 мкл, 1 пробирка;
- ферменты для реакции преамплификации –19,2 мкл, 1 пробирка;
- амплификационный буфер –864 мкл, 3 пробирки;
- ферменты для амплификации – 48 мкл, 1 пробирка;
- вода без нуклеаз – 432 мкл, 1 пробирка;
- набор баркодов 1-96.

2) Набор материалов для станции пробоподготовки, 4 шт.:
- планшет 96-луночный;
- профольгированная крышка;
- наконечники одноразовые (96 шт. в штативе);
- пробирки (12 шт. в упаковке);
- крышки для центрифуг (2 шт.);
- штатив с пробирками для модуля обогащения;
- адаптер для чипа.

3) Картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки - 4 шт.

4) Картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки - 4 шт.

5) Набор растворов для секвенирования:
- промывочный раствор, бутыль 1,5 л – 4 шт.;
- раствор для очистки, бутыль 250 мл – 1 шт.

6) Картридж с реагентами для секвенирования – 4 шт.

7) Набор полупроводниковых чипов 530 (4 чипа в упаковке).

8) Программное обеспечение «Ion Reporter», версия 5.10.

9) Краткое руководство по применению.

10) Паспорт качества.

2. **«РепроЛайн 24»**

Состав:

1) Набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1), 1 шт.:
- буфер для экстракции нуклеиновых кислот – 480 мкл, 1 пробирка;
- буфер для реакции лизиса – 460,8 мкл, 1 пробирка;
- смесь ферментов для лизиса клеток – 19,2 мкл, 1 пробирка;
- преамплификационный буфер – 460,8 мкл, 1 пробирка;
- ферменты для реакции преамплификации –19,2 мкл, 1 пробирка;
- амплификационный буфер –864 мкл, 3 пробирки;
- ферменты для амплификации – 48 мкл, 1 пробирка;
- вода без нуклеаз – 432 мкл, 1 пробирка;
- набор баркодов 1-96.

2) Набор материалов для станции пробоподготовки, 4 шт.:
- планшет 96-луночный;

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

- профольгированная крышка;
- наконечники одноразовые (96 шт. в штативе);

- пробирки (12 шт. в упаковке);
- крышки для центрифуг (2 шт.);
- штатив с пробирками для модуля обогащения;
- адаптер для чипа.

3) Картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки - 4 шт.
4) Картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки - 4 шт.
5) Набор растворов для секвенирования:
- промывочный раствор, бутыль 1,5 л – 4 шт.;
- раствор для очистки, бутыль 250 мл – 1 шт.
6) Картридж с реагентами для секвенирования – 4 шт.
7) Набор полупроводниковых чипов 520 (4 чипа в упаковке).
8) Программное обеспечение «Ion Reporter», версия 5.10.
9) Краткое руководство по применению.
10) Паспорт качества.

3. **«РепроЛайн 16»**
   Состав:

1) Набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 2) - 3 шт.:
- буфер для экстракции нуклеиновых кислот – 120 мкл, 1 пробирка;
- буфер для реакции лизиса – 115,2 мкл, 1 пробирка;
- смесь ферментов для лизиса клеток – 4,8 мкл, 1 пробирка;
- преамплификационный буфер – 115,2 мкл, 1 пробирка;
- ферменты для реакции преамплификации – 4,8 мкл, 1 пробирка;
- амплификационный буфер – 648 мкл, 1 пробирка;
- ферменты для амплификации – 12 мкл, 1 пробирка;
- вода без нуклеаз – 432 мкл, 1 пробирка;
- набор баркодов 1-24.
2) Набор материалов для станции пробоподготовки, 4 шт.:
- планшет 96-луночный;
- профольгированная крышка;
- наконечники одноразовые (96 шт. в штативе);
- пробирки (12 шт. в упаковке);
- крышки для центрифуг (2 шт.);
- штатив с пробирками для модуля обогащения;
- адаптер для чипа.
3) Картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки - 4 шт.
4) Картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки - 4 шт.
5) Набор растворов для секвенирования:
- промывочный раствор, бутыль 1,5 л – 4 шт.;
- раствор для очистки, бутыль 250 мл – 1 шт.
6) Картридж с реагентами для секвенирования – 4 шт.
7) Набор полупроводниковых чипов 510 (4 чипа в упаковке).
8) Программное обеспечение набора «Ion Reporter», версия 5.10.
9) Краткое руководство по применению.
10) Паспорт качества.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Сокращения, используемые в тексте:

«Набор реагентов «РепроЛайн» для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics»» по ТУ 21.20.23-002-03569019-2018, далее по тексту:

-Набор реагентов «РепроЛайн» для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics» *или*

-Набор реагентов «РепроЛайн» *или*

-Набор реагентов «РепроЛайн 96» *или*

-Вариант исполнения ««РепроЛайн 96» *или*

-Набор реагентов «РепроЛайн 24» *или*

-Вариант исполнения ««РепроЛайн 24» *или*

-Набор реагентов «РепроЛайн 16» *или*

-Вариант исполнения ««РепроЛайн 16» *или*

-Набор «РепроЛайн» *или*

-Набор реагентов *или*

-Набор.

-ПГТ-А – преимплатационное генетическое тестирование на количественные хромосомные изменения (анеуплоидии).

1.2. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «РепроЛайн» для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics» (далее – набор) предназначен для высокопроизводительного секвенирования полного генома (NGS) для выявления хромосомных анеуплоидий и хромосомных аберраций (делеций и дупликаций) в единичных клетках.

Область применения: Преимплатационная генетическая диагностика, репродуктивная медицина.

1.3. ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ПОТРЕБИТЕЛЬ

Высокопроизводительное секвенирование полного генома (NGS) с использованием Набора реагентов должна проводиться квалифицированными специалистами (врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник), прошедшими предварительное обучение в области методов молекулярной диагностики и соблюдающими правила работы в клинико-диагностической лаборатории.

1.4. ОПИСАНИЕ ЦЕЛЕВОГО АНАЛИТА

Целевым аналитом является ДНК, выделенная из клеток трофэктодермального происхождения, для проведения преимплантационного генетического тестирования с целью выявления хромосомных аномалий (ПГТ-А).

1.5. УСЛОВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор реагентов предназначен для эксплуатации в условиях клинико-диагностических лабораторий, выполняющих молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на базе лечебно-профилактических медицинских учреждений соответствующего профиля.

1.6. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Преимплатационная генетическая диагностика, репродуктивная медицина.

1.7. ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов используется в преимплантационной диагностике для профилактики невынашивания беременности и рождения детей с хромосомной патологией при принятии решения о целесообразности имплантации эмбриона в полость матки. Целевым аналитом является ДНК, выделенная из клеток трофэктодермального происхождения, для проведения преимплантационного генетического тестирования с целью выявления хромосомных аномалий (ПГТ-А).

1.8. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Противопоказания: в рамках установленного производителем назначения, противопоказаний не имеет.

При работе с набором следует использовать только систему высокопроизводительного секвенирования «F-Genetics» (производства АО «Ферст Генетикс», Россия).

1.9. ВОЗМОЖНЫЕ ПОБОЧНЫЕ ДЕЙСТВИЯ

При использовании специально обученным персоналом, с учетом применения набора реагентов строго по назначению, при соблюдении требований безопасности при работе с Набором реагентов, описанных в разделе 5 настоящей инструкции, побочные действия отсутствуют.

1.10. РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

В соответствии с Номенклатурной классификацией медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава России № 4н от 06.06.2012 г. Набор реагентов относится к классу 2б.

Класс безопасности программного обеспечения, входящего в состав набора, в соответствии с ГОСТ Р МЭК 62304-2013, определен как класс «А» (Невозможны никакие травмы или ущерб здоровью).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

1.11. КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

1.11.1. Обоснованность метода

Преимплантационное генетическое тестирование [1, 2] проводится в рамках цикла ЭКО с целью выявления хромосомных аномалий у эмбриона человека перед имплантацией в полость матки. После оплодотворения яйцеклетки сперматозоидами в условиях эмбриологической лаборатории проводят отбор биоматериала – биопсию трофэктодермы (внешнего слоя клеток) на стадии бластоцисты (5-6 день развития эмбриона). Процедура не нарушает дальнейшего развития эмбриона. После биопсии эмбрионы подвергаются криоконсервации. В период до следующего цикла проводится преимплатационное генетическое тестирование и рекомендованные эмбрионы без хромосомных аномалий переносятся в полость матки при следующем цикле.

В последние годы преимплатационное генетическое тестирование методом высокопроизводительного секвенирования находит все более широкое применение в клиниках всего мира [3, 4]. Преимплатационное генетическое тестирование методом высокопроизводительного секвенирования позволяет проанализировать все 24 хромосомы и выявить как полные хромосомные аномалии (анеуплоидии), так и сегментарные нарушения (более 40 Mb), а также мозаичные аномалии (как целых хромосом, так и мозаичные сегментарные формы), что в конечном итоге повышает эффективность имплантации и процедуры ЭКО в целом.

1.11.2. Принцип метода

После проведения отбора биоматериала (биопсии трофэктодермы эмбриона), образец помещают в буфер для экстракции нуклеиновых кислот. При помощи специально подготовленного мастер-микса, состоящего из буфера и смеси ферментов для лизиса клеток, осуществляют лизис клеток и экстракцию геномной ДНК.

Затем из буфера и ферментов для реакции преамплификации готовится мастер-микс, содержащий набор вырожденных рандомных праймеров (олигонуклеотидов-затравок), с помощью которого происходит неспецифическая преамплификация фрагментов геномной ДНК, экстрагированной на предыдущем этапе. В процессе реакции преамплификации, вырожденные праймеры отжигаются на последовательности геномной ДНК, и в ходе термоциклирования синтезируются копии фрагментов исходной геномной ДНК.

К каждому образцу добавляется специальный олигонуклеотид-затравка, содержащая индивидуальный молекулярный баркод, представляющий собой уникальную последовательность, которая служит идентификатором образца в пуле.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Последующую амплификацию баркодированных образцов и успешность ее прохождения можно осуществлять как с использованием количественной ПЦР, так и с помощью ПЦР с детекцией в конечной точке с оценкой качества полученных библиотек (эквивалентных количеству образцов) в 2%-ом агарозном геле. В результате амплификации образуются фрагменты ДНК длиной около 200 п.н., фланкированные последовательностями универсальных 5'- и 3'-адаптеров (несущих молекулярные баркоды).

Далее библиотеки объединяют в пул, очищают на магнитных частицах и разводят до нужной концентрации.

Следующие этапы выполняются автоматической станцией пробоподготовки, входящей в состав системы высокопроизводительного секвенирования «F-Genetics». Сначала происходит клональная амплификация библиотек на поверхности микросфер в процессе эмульсионный ПЦР. Для проведения эмульсионной ПЦР (эмПЦР) формируется «водная фаза» реакции, содержащая микросферы, несущие на поверхности один из праймеров, смесь компонентов для ПЦР, прямой и обратный праймеры, и объединенные в единый пул библиотеки фрагментов ДНК. Водная фаза, в которой проходит амплификация, разбивается на миллионы стабильных микрореакторов одинакового размера путем перемешивания и взбалтывания с масляной фазой для получения эмульсии. Фрагменты ДНК, фланкированные последовательностями универсальных адаптеров, одновременно амплифицируются с использованием одной универсальной пары праймеров. При этом каждый набор ампликонов, образованный от отдельного фрагмента ДНК, останется заключенным в отдельный микрореактор. В эмПЦР используются микросферы, на поверхности которых закреплен один из универсальных праймеров, что делает возможным амплификацию фрагментов ДНК на твердой поверхности микрочастиц. Смесь фрагментов разбавляют таким образом, чтобы каждая микросфера получала лишь по одному фрагменту библиотеки. В такой ситуации большая доля микрореакторов в масляной эмульсии будет содержать одну микросферу и один фрагмент ДНК библиотеки. Это позволяет проводить миллионы невзаимодействующих реакций ПЦР-амплификации в малом объёме. Отдельные фрагменты ДНК библиотеки оказываются “клонально амплифицированными” на микросферах, причем каждая микросфера несет копии только одного исходного фрагмента (является моноклональной).

После эмПЦР эмульсия, полученная на предыдущем этапе, разбивается обработкой изопропанолом и буферным раствором и последующим встряхиванием, центрифугированием и магнитной сепарацией. Полученная смесь представляет

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

собой суспензию «пустых», моноклональных и поликлональных микросфер, происходящих из микрореакторов без фрагментов ДНК, с одним или с несколькими клонами фрагментов ДНК, соответственно. Обогащение моноклональных микросфер с ДНК достигается за счёт связывания с более крупными, немагнитными стрептавидиновыми частицами из полистирола, обладающими низкой плотностью. Специальные олигонуклеотиды-ловушки, комплементарные последовательности универсального 3'-адаптера отжигаются на фрагментах ДНК исходных библиотек, которые ковалентно связаны с поверхностью микросфер. Полистирольные частицы через стрептавидин связываются с биотинилированными олигонуклеотидами-ловушками, что приводит к образованию комплексов с низкой плотностью. Смесь центрифугируют для отделения образовавшихся комплексов (микросферы с ДНК, связанные с полистирольными частицами) от «пустых» микросфер, не несущих ампликоны. Комплексы имеют более низкую плотность и остаются в супернатанте, в то время как микросферы без ДНК образуют осадок. Супернатант отделяют и обрабатывают щёлочью для разрушения комплексов. Парамагнитные микросферы с ДНК отделяют от немагнитных полистирольных частиц при помощи магнитной сепарации. Такой протокол позволяет провести многократное обогащение микросфер, несущих одноцепочечные амплифицированные фрагменты ДНК. Для получения готовой для полупроводникового секвенирования матрицы, к микросферам с ДНК добавляют олигонуклеотид-затравку и ДНК-полимеразу для секвенирования, которые образуют комплекс с одноцепочечными фрагментами ДНК, закрепленными на поверхности микросфер. Далее станция пробоподготовки автоматически наносит исследуемые образцы на специализированный чип для полупроводникового секвенирования. Данный процесс является полностью автоматизированным и выполняется на станции пробоподготовки, входящей в состав системы высокопроизводительного секвенирования «F-Genetics». Чип извлекают из станции пробоподготовки и переносят в генетический секвенатор, входящий в состав системы высокопроизводительного секвенирования «F-Genetics».

Полупроводниковое секвенирование основано на регистрации локального изменения pH в микролунках на полупроводниковом микрочипе при последовательном удлинении олигонуклеотидной затравки ДНК-полимеразой. Микролунки, содержащие микрочастицы с амплифицированными на поверхности фрагментами ДНК-библиотек, предназначенными для секвенирования, поочередно промывают реагентами, содержащими дезоксирибонуклеотидтрифосфаты (dNTP) одного вида, входящими в состав картриджа для секвенирования. Если введенный dNTP является комплементарным к нуклеотиду матрицы, он включается в растущую

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

комплементарную цепь. Это вызывает высвобождение ионов водорода и срабатывание ионного датчика, который указывает, что реакция произошла. Если в последовательности матричной цепи присутствует повтор одного нуклеотида, несколько молекул dNTP будут присоединены в одном цикле. Это приводит к увеличению количества образовавшихся ионов водорода и пропорционально более высокому электрическому сигналу.

Секвенатор считывает сигнал из каждой лунки чипа и формирует пул DAT файлов, содержащих информацию о разнице потенциалов в каждой отдельной лунке во время каждой подачи нуклеотидов. Затем эти данные суммируются, формируя данные по каждой лунке со всеми подачами нуклеотидов (flow). Затем аналоговые значения переводятся в цифровые, формируя файл WELLS. Последний передается с дискового пространства секвенатора на сервер, управляемый программным обеспечением секвенатора. Здесь происходит определение последовательности нуклеотидов и распознавание финальных прочтений. ПО осуществляет тримминг (удаление последовательности адаптеров, удаление 3'-концов низкого качества) и фильтрацию прочтений низкого качества для увеличения точности консенсусных последовательностей библиотек (удаление коротких фрагментов, димеров адаптеров, прочтения, потерявшие изначально заданный «нуклеотидный ключ» из 4-х нуклеотидов, прочтения с низким качеством сигнала, поликлональные прочтения. Затем осуществляется распределение прочтений по исходным библиотекам согласно идентифицированным в ходе секвенирования молекулярным штрих-кодам. Полученные последовательности прочтений картируются на референсный геном человека hg19 и формируется выходной файл BAM. BAM файл передается в программное обеспечение набора. Глубина покрытия генома составляет около 0,01x, что соответствует около 100 000 уникальных прочтений на образец (или библиотеку). Прочтения равномерно покрывают весь геном на всем его протяжении. Анализ количественной представленности каждой хромосомы и хромосомных аберраций (изменение копийности локусов), расчет уровня мозаицизма идет по алгоритму Hidden Markov Model (HMM).

1.11.3. Клиническая значимость исследования

Высокий уровень анеуплоидий у ранних эмбрионов человека, возникающих как в результате нарушения сегрегации хромосом во время мейоза, так и в ходе первых делений дробления эмбриона, служит причиной остановки развития эмбрионов, приводит к спонтанным абортам и рождению детей с хромосомной патологией.

Преимплатационное генетическое тестирование (ПГТ-А) при применении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) помогает снизить риск переноса

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

в полость матки генетически нездорового эмбриона, значительно повышая шансы женщины не только на наступление беременности, но и на вынашивание.

Набор реагентов «РепроЛайн» для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics» используется в преимплантационной диагностике **для профилактики невынашивания беременности и рождения детей с хромосомной патологией** при принятии решения о целесообразности имплантации эмбриона в полость матки.

Использование набора реагентов «Репролайн» позволяет выбирать и переносить в полость матки только те эмбрионы, которые не имеют хромосомных аномалий, таким образом снизить риск переноса в полость матки генетически нездорового эмбриона, значительно повышая шансы женщины не только на наступление беременности, но и на ее вынашивание, снизить риск рождения детей с хромосомной патологией.

Результаты, полученные при использовании набора, следует рассматривать и интерпретировать врачу-генетику или врачу-репродуктологу в сочетании с данными анамнеза и других инструментальных и лабораторных исследований.

1.11.4. Функциональные характеристики набора

1.11.4.1. Типы выявляемых хромосомных аномалий

Набор реагентов позволяет выявлять:

- Хромосомные анеуплоидии по аутосомам:
  - трисомия (3 копии хромосом)
  - моносомия (1 копия хромосомы)
- Хромосомные анеуплоидии по половым хромосомам (трисомия (3 копии половых хромосом), дисомия (2 копии половых хромосом), моносомия (1 копия половых хромосом))
- Хромосомные аберрации (сегментарные нарушения):
  - делеции (утрата участка хромосомы)
  - дупликации (удвоение участка хромосомы).

На раннем этапе эмбрионального развития нередко встречается хромосомный мозаицизм (существование ≥ 2 клонов клеток с различным хромосомным набором). Определение мозаичной формы анеуплоидий имеет важное значение для исхода имплантации и тактики ведения беременности. Набор реагентов «РепроЛайн» позволяет выявлять низкоуровневый мозаицизм (не менее 20%).

1.11.4.2. Аналитические характеристики набора

1.11.4.2.1. Аналитическая чувствительность

Аналитическую чувствительность определяли как частоту совпадения обнаружения хромосомных аномалий набора «РепроЛайн» в стандартных образцах предприятия, содержащих эти аномалии. Определение частоты совпадения обнаружения хромосомных аномалий набора «РепроЛайн» проводили путем тестирования разведений стандартных образцов предприятия, содержащих известные анеуплоидии.

Значения характеристики, приведенные в таблице 1, достигаются при соблюдении правил, указанных в разделе «Исследуемый материал».

Таблица 1

Выявленная аномалия	**Аналитическая чувствительность** (кол-во образцов с выявленными аномалиями/кол-во исследуемых образцов), %
Трисомия по хромосоме 21 (с использованием стандартного образца предприятия «СОП Т21»)	100 (93/93)
Моносомия Х хромосомы (с использованием стандартного образца предприятия «СОП 45, Х0»)	100 (89/89)

1.11.4.2.2. Предел обнаружения

Определение предела обнаружения (минимального количества клеток, в котором обнаруживаются хромосомные аномалии) набора «РепроЛайн» проводили путем тестирования разведений стандартных образцов предприятия, содержащих известные анеуплоидии. Определяли наличие анеуплоидии по хромосоме, указанной в паспорте стандартного образца предприятия.

Значения характеристики, приведенные в таблице 2, достигаются при соблюдении правил, указанных в разделе «Исследуемый материал».

Таблица 2

Выявленная аномалия	**Предел обнаружения** (кол-во образцов с выявленными аномалиями/кол-во исследуемых образцов), %

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Трисомия по хромосоме 21 (с использованием стандартного образца предприятия «СОП Т21»)	1 клетка (29/29)
Моносомия Х хромосомы (с использованием стандартного образца предприятия «СОП 45, Х0»)	1 клетка (29/29)

1.11.4.2.3. Аналитическая специфичность

Определение аналитической специфичности набора «РепроЛайн» проводили путем тестирования разведений стандартных образцов предприятия, не содержащих хромосомных аномалий. Определяли отсутствие хромосомных аномалий по всем хромосомам (наличие нормального женского кариотипа).

Значения характеристики, приведенные в таблице 3, достигаются при соблюдении правил, указанных в разделе «Исследуемый материал».

Таблица 3

Выявленное отсутствие хромосомной аномалии	**Аналитическая специфичность** (кол-во образцов с выявленным отсутствием хромосомных аномалий/кол-во исследуемых образцов), %
Нормальный женский кариотип (отсутствие хромосомных аномалий) (с использованием стандартного образца предприятия «СОП норм»)	100 (82/82)

Потенциально интерферирующими веществами могут быть сперматозоиды, полярные тельца и клетки кумулюса в количестве одной и более клеток. Влияние интерферирующих веществ устраняется с помощью тщательной отмывки клеток эмбриона и тестированием последней (обычно третьей) промывочной капли в качества отрицательного контроля.

1.11.4.2.4. Предел обнаружения уровня мозаицизма в многоклеточных образцах

Определение предела обнаружения уровня мозаицизма в многоклеточных образцах набора «РепроЛайн» проводили в разведениях смесей стандартных образцов предприятия, содержащих известные анеуплоидии. Соотношение количества клеток с анеуплоидией к общему количеству исследуемых клеток показывает процентный уровень мозаицизма. Мозаицизм возможно исследовать только при наличии нескольких клеток в исследуемом образце. Исследовали разведения с 20%, 50% и 80% уровнем мозаицизма.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Значения характеристики, приведенные в таблице 4, достигаются при соблюдении правил, указанных в разделе «Исследуемый материал».

Таблица 4

Выявленная аномалия	Предел обнаружения уровня мозаицизма в многоклеточных образцах
Мозаичная анеуплоидия хромосомы 21 ((21)x2,2) (с использованием разведений стандартного образца предприятия «СОП Т21»)	20%
Мозаичная анеуплоидия X хромосомы ((X)x1,8) (с использованием разведений стандартного образца предприятия «СОП 45, X0»)	20%

1.11.4.2.5. Повторяемость и воспроизводимость

Повторяемость результата набора «РепроЛайн» оценивали путем тестирования разведений стандартных образцов предприятия, содержащих известные анеуплоидии одним оператором, на одном приборе в один день. Воспроизводимость результата набора «РепроЛайн» оценивали путем тестирования разведений стандартных образцов предприятия, содержащих известные анеуплоидии двумя операторами, на двух разных приборах, в разные дни. Определяли наличие анеуплоидии по хромосоме, указанной в паспорте стандартного образца предприятия.

Тестирование каждого разведения для оценки повторяемости проводилось в 108 повторах, для оценки воспроизводимости – в 216 повторах.

Значения характеристик, приведенные в таблицах 5 и 6, достигаются при соблюдении правил, указанных в разделе «Исследуемый материал».

Таблица 5

Повторяемость

Выявленная аномалия	Позитивное согласие (Система «F-Genetics Плюс»)	Негативное согласие (Система «F-Genetics Плюс»)	Коэффициент вариации, %	Позитивное согласие (Система «F-Genetics»)	Негативное согласие (Система «F-Genetics»)	Коэффициент вариации, %
Трисомия по хромосоме 21 (с использованием стандартного образца предприятия «СОП Т21»)	18	0	<5	18	0	<5
Моносомия X хромосомы (с исполь-зованием стандартного образца предприятия «СОП	18	0	<5	18	0	<5

45, X0»)						
Нормальный женский кариотип (отсутствие хромосомных аномалий) (с исполь-зованием стандартного образца предприятия «СОП норм»)	18	0	<5	18	0	<5

Таблица 6

Воспроизводимость

Выявленная аномалия	Позитивное согласие		Негативное согласие		Коэффициент вариации, %
	Оператор 1, Система «F-Genetics Плюс», 1 день	Оператор 2, Система «F-Genetics», 2 день	Оператор 1, Система «F-Genetics Плюс», 1 день	Оператор 2, Система «F-Genetics», 2 день	
Трисомия по хромосоме 21 (с использованием стандартного образца предприятия «СОП Т21»)	36	36	0	0	<5
Моносомия X хромосомы (с использованием стандартного образца предприятия «СОП 45, X0»)	36	36	0	0	<5
Нормальный женский кариотип (отсутствие хромосомных аномалий) (с использованием стандартного образца предприятия «СОП норм»)	36	36	0	0	<5

1.11.4.3. Процент позитивного согласия и процент негативного согласия набора

Для определения характеристик процентов позитивного и негативного согласия набора «РепроЛайн» были использованы 96 образцов клеток трофэктодермального происхождения. В качестве референтного метода использовали метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH – fluorescence in situ hybridization) с центромерными ДНК-зондами для подсчета количества хромосом и субтеломерными ДНК-зондами и центромерными ДНК-зондами для подсчета количества искомого локуса (в случае обнаружения хромосомных аберраций). В ходе испытаний использовали зонды производства Kreatech Biotechnology B.V. (РУ

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ФСЗ 2012/13468). Оценку сигнала осуществляли с помощью микроскопа Axio Imager A2 (РУ ФЗС 2009/04802) с помощью ПО Isis версии 2.0 (РУ ФСЗ 2009/05560).

Результаты тестирования набора в сравнении с референтным методом приведены в таблице 7.

Таблица 7

Результаты тестирования образцов биологического материала с помощью набора «РепроЛайн»

Всего исследовано образцов	Результаты испытаний		
96	Число образцов	с истинно положительными результатами	84
		с истинно отрицательными результатами	12
		имеющие ложноположительный результат	0
		имеющие ложноотрицательный результат	0
	Число хромосом	с истинно положительными результатами	95
		с истинно отрицательными результатами	87
		имеющие ложноположительный результат	0
		имеющие ложноотрицательный результат	0

Значения процента позитивного согласия и процента негативного согласия набора «РепроЛайн» с доверительной вероятностью 95 %, рассчитанные, исходя из полученных данных, приведены в таблице 8.

Таблица 8

Характеристики процентов позитивного и негативного согласия

Тип образцов	Процент позитивного согласия (с доверительной вероятностью 95 %), %	Процент негативного согласия (с доверительной вероятностью 95 %), %
Клетки трофэкто-дермального происхождения	100,0 (96,9-100%)	100,0 (96,7-100%)

1.11.4.4. Биоинформатические характеристики набора

1.11.4.4.1 Длина прочтения, количество прочтений, количество прочтений на один образец

Проверку количества прочтений и длины прочтения проводили с помощью специализированных биоинформатических средств из «сырых» данных, содержащихся в FastQ файле.

Показатель количества прочтений на один образец используется как критерий качества прочтения каждого образца.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Значения характеристики, приведенные в таблице 9, достигаются при соблюдении правил, указанных в разделе «Исследуемый материал».

Таблица 9

Вариант исполнения набора реагентов	Длина прочтения	Количество прочтений	Количество прочтений на один образец
Набор реагентов «РепроЛайн 96»	200 п.н. (3-4 Гб) (включая вспомогательные последовательности (баркоды, адаптеры и т.п.))	15-20 млн	не менее 100 000
Набор реагентов «РепроЛайн 24»	200 п.н. (0,6-1 Гб) (включая вспомогательные последовательности (баркоды, адаптеры и т.п.))	4-6 млн	не менее 100 000
Набор реагентов «РепроЛайн 16»	200 п.н. (0,3-0,5 Гб) (включая вспомогательные последовательности (баркоды, адаптеры и т.п.))	2-3 млн	не менее 100 000

1.11.4.4.2. Точность прочтения

Для оценки точности прочтения используется шкала Phred. В процессе выравнивания прочтений на рефренсный геном любое расхождение с референсным геномом (биологическое или техническое, означающее реальный вариант или ошибку секвенирования) указывается как несоответствие. В результате выравнивания на рефренсный геном каждое прочтение оснований классифицируется как корректное или некорректное. Точность прочтения оценивается в процессе выравнивания прочтений на рефренсный геном.

Значения характеристики, приведенные в таблице 10, достигаются при соблюдении правил, указанных в разделе «Исследуемый материал».

Таблица 10

Показатель	Значение
Точность прочтения	не менее 98,5%

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

1.11.4.4.3. Средняя глубина покрытия референсного генома

Средняя глубина покрытия референсного генома используется для контроля качества прочтения образца и рассчитывается из данных количества прочтений на один образец, средней длины фрагмента и количества нуклеотидов в геноме.

Значения характеристики, приведенные в таблице 11, достигаются при соблюдении правил, указанных в разделе «Исследуемый материал».

Таблица 11

Вариант исполнения набора реагентов	Средняя глубина покрытия референсного генома
Набор реагентов «РепроЛайн 96»	0.01x
Набор реагентов «РепроЛайн 24»	0,01x
Набор реагентов «РепроЛайн 16»	0,01x

1.11.4.4.4. Медиана абсолютных значений всех парных отклонений (показатель MAPD, Median of the Absolute values of all Pairwise Differences)

Для оценки качества образца используется показатель MAPD – медиана абсолютных значений всех парных отклонений. Показатель MAPD используется для оценки изменчивости выборки и определения полезны ли данные для анализа. Образцы с показателем качества >0,3 бракуются.

Величина показателя MAPD приведена в Таблице 12.

Таблица 12

Вариант исполнения набора реагентов	Медиана абсолютных значений всех парных отклонений (показатель MAPD)
Набор реагентов «РепроЛайн 96»	менее 0,3
Набор реагентов «РепроЛайн 24»	менее 0,3
Набор реагентов «РепроЛайн 16»	менее 0,3

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Варианты исполнения, состав и комплектность

Набор выпускается в трех вариантах исполнения (варианты исполнения, состав и комплектность поставки см. в таблицах 13, 14 и 15). Все варианты исполнения предназначены высокопроизводительного секвенирования полного генома (NGS) для выявления хромосомных анеуплоидий и хромосомных аберраций в единичных клетках. Варианты исполнения различаются по количеству реагентов, по типу чипов для секвенирования и, соответственно, по количеству образцов, которые могут быть проанализированы с помощью одного набора. Вариант исполнения «РепроЛайн 96» предназначен для анализа 384 образцов, 96 образцов за 1 запуск, вариант исполнения «РепроЛайн 24» предназначен для анализа 96 образцов, 24 образцов за 1 запуск, вариант исполнения «РепроЛайн 16» предназначен для анализа 64 образцов, 16 образцов за 1 запуск.

Таблица 13

Варианты исполнения набора

Вариант исполнения	Комплект реагентов/материалов/ картриджей/чипов	Кол-во, шт.
Вариант исполнения «РепроЛайн 96»	1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1)	4
	2) набор материалов для станции пробоподготовки	4
	3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	4
	4) картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки	4
	5) набор растворов для секвенирования	1
	6) картридж с реагентами для секвенирования	4
	7) набор полупроводниковых чипов 530 (4 чипа в упаковке)	1
Вариант исполнения «РепроЛайн 24»	1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1)	1
	2) набор материалов для станции пробоподготовки	4
	3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	4
	4) картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки	4
	5) набор растворов для секвенирования	1
	6) картридж с реагентами для секвенирования	4
	7) набор полупроводниковых чипов 520 (4 чипа в упаковке)	1
Вариант исполнения «РепроЛайн 16»	1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 2)	3
	2) набор материалов для станции пробоподготовки	4
	3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	4
	4) картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки	4
	5) набор растворов для секвенирования	1
	6) картридж с реагентами для секвенирования	4
	7) набор полупроводниковых чипов 510 (4 чипа в упаковке)	1

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Таблица 14

Состав набора

Компонент набора	Реагент/картридж	Объем	Количество	Описание
Вариант исполнения «РепроЛайн 96»				
1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1)[1], 4 шт.: **Опасно**	буфер для экстракции нуклеиновых кислот	480 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся зеленой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	буфер для реакции лизиса	460,8 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся фиолетовой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	смесь ферментов для лизиса клеток	19,2 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся желтой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	преамплификационный буфер	460,8 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся красной крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	ферменты для реакции преамплификации	19,2 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся белой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	амплификационный буфер	864 мкл	3 пробирки	Пробирка с закручивающейся оранжевой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	ферменты для амплификации	48 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся голубой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	вода без нуклеаз	432 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся бесцветной крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	набор баркодов 1-96	-	1 планшет	Профольгированный 96-луночный планшет, каждая из 96 лунок содержит прозрачную бесцветную жидкость объемом 20 мкл
2) набор материалов для станции пробоподготовки, 4 шт.:	планшет 96-луночный	-	1 планшет	Планшет 96-луночный из прозрачного пластика размером 12x8 см
	профольгированная крышка	-	1 крышка	Крышка профольгированная размером 13,3 x 9,3 см
	наконечники одноразовые (96 шт. в штативе)	-	1 штатив	Штатив с наконечниками (96 шт., в том числе 54 наконечника объемом 1000 мкл, 40 наконечников объемом 200 мкл, 2 прокалывателя)
	пробирки	-	12 штук в упаковке	Пробирки для разбивания эмульсии объемом 2 мл
	крышки для центрифуг	-	2 штуки	Крышки для центрифуг станции для пробоподготовки диаметром 12 см
	штатив с пробирками для модуля обогащения	-	1 штатив	В штативе 8 пробирок объемом 1,5 мл
	адаптер для чипа		1 адаптер	Адаптер для чипа

[1] Реагенты содержат опасные вещества. Информацию по опасным веществам и мерам предосторожности при работе с реагентами см. в разделе инструкции «Меры предосторожности и предупреждения».

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Компонент набора	Реагент/картридж	Объем	Количество	Описание
3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки[1], 4 шт.: **Опасно**	картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	-	4 картриджа	Картридж содержит 24 профольгированные лунки, из них 8 лунок объемом 5 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость объемом 4 мл и 15 лунок объемом 2 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость объемом 1,5 мл, 1 лунка объемом 2 мл (третья в первом ряду) содержит прозрачную жидкость объемом 1 мл с осадком коричневого цвета
4) картридж с реактивами (ПГТ) для станции пробоподготовки[1], 4 шт.: **Опасно**	картридж с реактивами (ПГТ) для станции пробоподготовки	-	4 картриджа	Картридж содержит 20 профольгированных лунок, из них 4 лунки объемом 5 мл пустые, 15 лунок объемом 2 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость, 1 лунка (первая во втором ряду) содержат прозрачную розовую жидкость, а также 4 лунки с вставленными пробирками: позиция A: пустая прозрачная пробирка для образцов объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой; позиция B: прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся красной крышкой, содержащей 2M NaOH; позиция C: прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой, содержащая белый порошок; позиция D: пустая прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой.
5) набор растворов для секвенирования:	промывочный раствор, бутыль	1,5 л	4 бутыли	Бутыль из белого пластика, запаянная в фольгу, содержащая бесцветную жидкость
	раствор для очистки, бутыль	250 мл	1 бутыль	Бутыль из прозрачного пластика, содержащая бесцветную жидкость
6) картридж с реагентами для секвенирования[1], 4 шт.: **Опасно**	картридж с реагентами для секвенирования	-	4 картриджа	Картридж содержит 5 лунок фиолетового, черного, синего, зеленого и красного цветов, каждая из которых сообщается с отдельной емкостью с реагентами.
7) набор полупроводниковых чипов 530	чип полупроводниковый 530	-	4 чипа	Чипы, запаянные в индивидуальные фольгированные упаковки
К набору реагентов прилагаются краткое руководство по применению набора и паспорт качества				
Вариант исполнения «РепроЛайн 24»				
1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1)[1], 1 шт.: **Опасно**	буфер для экстракции нуклеиновых кислот	480 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся зеленой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	буфер для реакции лизиса	460,8 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся фиолетовой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	смесь ферментов для лизиса клеток	19,2 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся желтой крышкой, содержащая

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Компонент набора	Реагент/картридж	Объем	Количество	Описание
				прозрачную бесцветную жидкость.
	преамплификационный буфер	460,8 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся красной крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	ферменты для реакции преамплификации	19,2 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся белой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	амплификационный буфер	864 мкл	3 пробирки	Пробирка с закручивающейся оранжевой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	ферменты для амплификации	48 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся голубой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	вода без нуклеаз	432 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся бесцветной крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	набор баркодов 1-96	-	1 планшет	Профольгированный 96-луночный планшет, каждая из 96 лунок содержит прозрачную бесцветную жидкость объемом 20 мкл
2) набор материалов для станции пробоподготовки, 4 шт.:	планшет 96-луночный	-	1 планшет	Планшет 96-луночный из прозрачного пластика размером 12x8 см
	профольгированная крышка	-	1 крышка	Крышка профольгированная размером 13,3 x 9,3 см
	наконечники одноразовые (96 шт. в штативе)	-	1 штатив	Штатив с наконечниками (96 шт., в том числе 54 наконечника объемом 1000 мкл, 40 наконечников объемом 200 мкл, 2 прокалывателя)
	пробирки	-	12 штук в упаковке	Пробирки для разбивания эмульсии объемом 2 мл
	крышки для центрифуг	-	2 штуки	Крышки для центрифуг станции для пробоподготовки диаметром 12 см
	штатив с пробирками для модуля обогащения	-	1 штатив	В штативе 8 пробирок объемом 1,5 мл
	адаптер для чипа		1 адаптер	Адаптер для чипа
3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки, 4 шт.[1] **Опасно**	картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	-	4 картриджа	Картридж содержит 24 профольгированные лунки, из них 8 лунок объемом 5 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость объемом 4 мл и 15 лунок объемом 2 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость объемом 1,5 мл, 1 лунка объемом 2 мл (третья в первом ряду) содержит прозрачную жидкость объемом 1 мл с осадком коричневого цвета
4) картридж с реактивами (ПГТ) для станции пробоподготовки[1], 4 шт. **Опасно**	картридж с реактивами (ПГТ) для станции пробоподготовки	-	4 картриджа	Картридж содержит 20 профольгированных лунок, из них 4 лунки объемом 5 мл пустые, 15 лунок объемом 2 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость, 1 лунка (первая во втором ряду) содержат прозрачную розовую жидкость, а также 4 лунки с вставленными пробирками: позиция А: пустая прозрачная пробирка для образцов объемом 1,5 мл с закручивающейся белой

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Компонент набора	Реагент/картридж	Объем	Количество	Описание
				крышкой; позиция B: прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся красной крышкой, содержащей 2M NaOH; позиция C: прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой, содержащая белый порошок; позиция D: пустая прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой.
5) набор растворов для секвенирования:	промывочный раствор, бутыль	1,5 л	4 бутыли	Бутыль из белого пластика, запаянная в фольгу, содержащая бесцветную жидкость
	раствор для очистки, бутыль	250 мл	1 бутыль	Бутыль из прозрачного пластика, содержащая бесцветную жидкость
6) картридж с реагентами для секвенирования[1], 4 шт. **Опасно**	картридж с реагентами для секвенирования	-	4 картриджа	Картридж содержит 5 лунок фиолетового, черного, синего, зеленого и красного цветов, каждая из которых сообщается с отдельной емкостью с реагентами.
7) набор полупроводниковых чипов 520	чип полупроводниковый 520	-	4 чипа	Чипы, запаянные в индивидуальные фольгированные упаковки
К набору реагентов прилагаются краткое руководство по применению набора и паспорт качества				
Вариант исполнения «РепроЛайн 16»				
1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 2)[1], 3 шт.: **Опасно**	буфер для экстракции нуклеиновых кислот	120 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся зеленой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	буфер для реакции лизиса	115,2 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся фиолетовой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	смесь ферментов для лизиса клеток	4,8 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся желтой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	преамплификационный буфер	115,2 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся красной крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	ферменты для реакции преамплификации	4,8 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся белой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	амплификационный буфер	648 мкл	3 пробирки	Пробирка с закручивающейся оранжевой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	ферменты для амплификации	12 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся голубой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	вода без нуклеаз	432 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся бесцветной крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	Набор баркодов 1-24	-	1 планшет	Профольгированный 96-луночный планшет, 24 лунки содержат прозрачную бесцветную жидкость объемом 20 мкл (первые три ряда лунок), остальные лунки пустые
2) набор материалов для станции	планшет 96-луночный	-	1 планшет	Планшет 96-луночный из прозрачного пластика размером

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Компонент набора	Реагент/картридж	Объем	Количество	Описание
пробоподготовки, 4 шт.:				12x8 см
	профольгированная крышка	-	1 крышка	Крышка профольгированная размером 13,3 x 9,3 см
	наконечники одноразовые (96 шт. в штативе)	-	1 штатив	Штатив с наконечниками (96 шт., в том числе 54 наконечника объемом 1000 мкл, 40 наконечников объемом 200 мкл, 2 прокалывателя)
	пробирки	-	12 штук в упаковке	Пробирки для разбивания эмульсии объемом 2 мл
	крышки для центрифуг	-	2 штуки	Крышки для центрифуг станции для пробоподготовки диаметром 12 см
	штатив с пробирками для модуля обогащения	-	1 штатив	В штативе 8 пробирок объемом 1,5 мл
	адаптер для чипа		1 адаптер	Адаптер для чипа
3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки[1], 4 шт.: **Опасно**	картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	-	4 картриджа	Картридж содержит 24 профольгированные лунки, из них 8 лунок объемом 5 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость объемом 4 мл и 15 лунок объемом 2 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость объемом 1,5 мл, 1 лунка объемом 2 мл (третья в первом ряду) содержит прозрачную жидкость объемом 1 мл с осадком коричневого цвета
4) картридж с реактивами (ПГТ) для станции пробоподготовки[1], 4 шт.: **Опасно**	картридж с реактивами (ПГТ) для станции пробоподготовки	-	4 картриджа	Картридж содержит 20 профольгированных лунок, из них 4 лунки объемом 5 мл пустые, 15 лунок объемом 2 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость, 1 лунка (первая во втором ряду) содержат прозрачную розовую жидкость, а также 4 лунки с вставленными пробирками: позиция A: пустая прозрачная пробирка для образцов объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой; позиция B: прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся красной крышкой, содержащей 2M NaOH; позиция C: прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой, содержащая белый порошок; позиция D: пустая прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой.
5) набор растворов для секвенирования:	промывочный раствор, бутыль	1,5 л	4 бутыли	Бутыль из белого пластика, запаянная в фольгу, содержащая бесцветную жидкость
	раствор для очистки, бутыль	250 мл	1 бутыль	Бутыль из прозрачного пластика, содержащая бесцветную жидкость
6) картридж с реагентами для секвенирования[1], 4 шт.:	картридж с реагентами для секвенирования	-	4 картриджа	Картридж содержит 5 лунок фиолетового, черного, синего, зеленого и красного цветов, каждая из которых сообщается с отдельной емкостью с реагентами.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Компонент набора	Реагент/картридж	Объем	Количество	Описание
Опасно				
7) набор полупроводниковых чипов 510	чип полупроводниковый 510	-	4 чипа	Чипы, запаянные в индивидуальные фольгированные упаковки
К набору реагентов прилагаются краткое руководство по применению набора и паспорт качества				

Таблица 15

Комплектность набора

Компонент	Формат	Количество
Набор реагентов (вариант исполнения)	–	-
Инструкция по применению набора	в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.f-genetics.com	1
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в бумажном виде	1
Программное обеспечение «Ion Reporter» версия 5.10	Доступ к ПО, установленному на сервере "Ion Reporter", входящему в состав системы "F-Genetics", осуществляется по локальной сети	1

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

3.1. Внутренний контроль качества

3.1.1. Отрицательный и положительный контроли исследования

Для оценки качества получаемых результатов каждая группа экстрагируемых и амплифицируемых баркодированных образцов должна включать отрицательные контрольные образцы. В качестве отрицательных контролей используются:

1. проба (2,5 микролитра) среды из последней (обычно третьей) промывочной капли в ряду промывочных капель;

2. неоткрытая пробирка с буферным раствором (специализированным PBS буфером) (контроль контаминации при хранении и транспортировании);

3. вода ультрачистая (при необходимости, контроль контаминации лаборатории).

Отрицательные контроли тестируются, начиная с этапа экстракции геномной ДНК, и позволяют контролировать возможную контаминацию другими образцами, ампликонами или сперматозоидами, полярными тельцами и клетками кумулюса. В пробирках с отрицательными контролями не должна происходить реакция амплификации (т.е. не должна детектироваться ДНК). ДНК детектируют с использованием ПЦР в реальном времени или с использованием 2%-ого агарозного геля. В случае детектирования ДНК в пробирках с пробой среды (п. 1), результаты для данных пробирок с образцами считаются недостоверными, образцы бракуются. В случае детектирования ДНК в пробирках с буферным раствором (п. 2), результаты для всех пробирок с образцами, которые транспортировались и хранились одновременно с данными пробирками, считаются недостоверными, образцы

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

бракуются. В случае детектирования ДНК в пробирках с водой, результаты для всех образцов в постановке считаются недостоверными, образцы бракуются.

В качестве положительного контроля используется прохождение реакции амплификации (наличие ДНК в образце). В случае если ДНК отсутствует в части образцов, результаты для данных образцов в постановке считаются недостоверными, образцы бракуются. В случае если ДНК отсутствует во всех образцах, результаты для всех образцов в постановке считаются недостоверными, образцы бракуются.

3.1.2. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Рекомендуется один раз в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами. Оценка наличия/отсутствия контаминации проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. Взятие и исследование смывов следует проводить согласно процедуре, описанной в МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности». При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09.

4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Набор применяется только для диагностики *in vitro*.

4.2. Набор предназначен для работы только с материалом, указанным в разделе «Исследуемый материал». Исследование других видов биологического материала может привести к получению недостоверных результатов.

4.3. Получение достоверных результатов обеспечивается выполнением требований, предъявляемых к взятию, транспортированию и хранению образцов исследуемого материала (см. раздел «Исследуемый материал»).

4.4. Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории.

4.5. Набор позволяет выявлять сегментарные нарушения более 40 миллионов пар нуклеотидов (40 Mb).

4.6. Набор не позволяет выявлять транслокации и инверсии.

4.7. Набор не позволяет выявлять полиплоидию.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

5.1. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала.

5.2. При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор строго по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов анализа.

- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ следует проводить в отдельных помещениях (зонах) для пре-ПЦР и пост-ПЦР этапов инструкции. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Утилизировать и дезинфицировать реагенты и образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с внутренними правилами лаборатории по утилизации и дезинфекции.

- Утилизировать неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку[2], биологический материал[3], включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

ВНИМАНИЕ! При удалении отходов (пробирок и картриджей, содержащих продукты ПЦР и секвенирования) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

- Набор предназначен для однократного применения для проведения исследования указанного количества образцов (см. раздел «Варианты исполнения, состав и комплектность»).

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке.

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид

---

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

[3] Биологический материал, включая инструменты и предметы, загрязненные материалом, относятся к классу опасности медицинских отходов Б.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

реагента не соответствует описанию.

- Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не смешивать реагенты разных серий.

- Не использовать набор по истечении срока годности.

- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.

- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.

- При контакте немедленно промыть пораженное место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь, рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

5.3. Входящие в состав изделия набор для приготовления библиотек ДНК, картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки, картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки и картридж с реагентами для секвенирования содержат опасные вещества, указанные в таблице 16. Заявления об опасности и меры предосторожности, требуемые при работе с данными реагентами, описаны в таблице 16. Расшифровка кодов для заявлений об опасности и мер предосторожности представлена в таблице 17.

Таблица 16

Заявления об опасности и меры предосторожности при работе с набором для приготовления библиотек ДНК, картриджем с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки, картриджем с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки и картриджем с реагентами для секвенирования

Реагент	Опасные вещества	Заявления об опасности	Меры предосторожности
набор для приготовления библиотек ДНК	дитиотреитол и трис(гидроксиметил)-аминометан	H302, H315, H319, H335, H412	P261, P264, P270, P271, P273, P280 P302 + P352, P321, P332 + P313, P362 + P364, P305 + P351 + P338, P337+ P313, P304 + P340, P312, P301 + P312, P330 P403 + P233, P405 P501
картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	изопропанол, децен-1, додецен-1 и трис(гидроксиметил)-аминометан	H225, H304, H315, H319, H332, H335, H336	P210, P233, P241, P242, P243, P261, P264, P270, P271, P280 P302 + P352, P321, P332 + P313, P362 + P364, P305 + P351 + P338, P337+ P313, P304 + P340, P312, P303 + P361 + P353, P370 + P378, P304 + P340, P301 + P310, P331, P301 + P312, P330 P403 + P235, P403 + P233, P405 P501
картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки	гидроксид натрия гидроксид кальция и трис(гидроксиметил)-аминометан	H290, H314, H315, H319, H335	P234, P260, P261, P264, P271, P280 P390, P302 + P352, P321, P332 + P313, P362 + P364, P305 + P351 + P338, P337+ P313, P304 + P340, P312, P301 + P330 + P331, P303 + P361 + P353, P363, P310, P321 P403 + P233, P405 P501
картридж с реагентами для секвенирования	гидроксид натрия и гидроксид кальция	H290, H314, H335	P260, P261, P264, P271, P280 P390, P302 + P352, P321, P332 + P313, P362 + P364, P304 + P340, P312 P403 + P233, P405 P501

Таблица 17

Расшифровка кодов для заявлений об опасности и мер предосторожности

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар H290 Может вызывать коррозию металлов H302 Вредно при проглатывании H304 Может быть смертельно при проглатывании и вдыхании H314 При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги	H315 Вызывает раздражение кожи H319 Вызывает серьезное раздражение глаз H412 Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями H332 Наносит вред при вдыхании H335 Может вызывать раздражение дыхательных путей H336 Может вызывать сонливость или головокружение
Меры предосторожности	

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

P210: Хранить вдали от источников тепла, горячих поверхностей, искр, открытого пламени и других источников воспламенения. Не курить. P233: Держать крышку контейнера плотно закрытой. P234: Хранить только в контейнере завода-изготовителя. P241: Использовать взрывобезопасное электрическое оборудование. P242: Используйте только неискрящие инструменты. P243: Принимать меры предосторожности против статического разряда. H260: Не вдыхать пыль/дым/газ/туман/пары/вещество в распылённом состоянии. P261: Избегать вдыхания паров. P264: Вымойте руки после работы тщательно. P270: Не есть, не пить и не курить в процессе использования этого продукта. P271: Используйте только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Пользоваться защитными перчатками и средствами защиты глаз. P301+P310: При проглатывании: Немедленно обратиться в токсикологический центр или к специалисту. P301+P312: При проглатывании: Обратиться в токсикологический центр при плохом самочувствии. P301+P330+P331: При проглатывании: Прополоскать рот. Не вызывать рвоту. P302 +P352: При попадании на кожу: Промыть большим количеством воды. P303 + P361 + P353: При попадании на кожу (или волосы): Немедленно снять всю загрязнённую одежду, промыть кожу водой/под душем.	P304+P340: При вдыхании: Вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхании положении. P305+P351+P338: При попадании в глаза: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. P310: Немедленно обратиться в токсикологический центр или к врачу. P312: Обратиться к врачу при плохом самочувствии. P321: Применение специальных мер (см. ... на этом маркировочном знаке). P330: Прополоскать рот. P331: Не вызывать рвоту. P332+P313: При раздражении кожи: обратиться к врачу. P337+P313: Если раздражение глаз не проходит обратиться за медицинской консультацией. P362+P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием. P363: Постирать загрязнённую одежду перед последующим использованием. P370+P378: В случае пожара: Использовать огнетушитель для тушения. P390: Абсорбировать пролившееся вещество, чтобы не допустить повреждение материалов. P403+P233: Хранить в хорошо вентилируемом месте. Держать контейнер плотно закрытым. P403+P235: Хранить в прохладном/хорошо вентилируемом месте. P405: Хранить в закрытом помещении. P501: Утилизировать содержимое в соответствии с национальными правилами СанПиН 2.1.7.2790 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами".

-Листы безопасности реагентов, входящих в состав набора, доступны по запросу.

-Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека. При аварийных ситуациях возможно причинение вреда при попадании на кожу и слизистую оболочку глаз, при вдыхании и при проглатывании.

5.4. Специфические воздействия набора на организм человека:

-Канцерогенный эффект отсутствует.

-Мутагенное действие отсутствует.

-Репродуктивная токсичность отсутствует.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

6.1. Оборудование

1. Система высокопроизводительного секвенирования «F-Genetics».
2. Амплификатор в режиме реального времени (Система регистрации полимеразной цепной реакции в режиме реального времени StepOne, РУ № ФСЗ 2010/06259 от 25.01.2017) или традиционный амплификатор (Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот T100 (T100 Thermal Cycler), РУ № ФСЗ 2012/12788 от 21.06.2016) или аналогичный.
3. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл и 0,2 мл с ускорением не менее 15 500 g (Центрифуга лабораторная «Eppendorf» Centrifuge 54xx, РУ № ФСЗ 2009/04411 от 03.06.2009).
4. Ламинарный бокс микробиологической безопасности II, тип А (Бокс микробиологической безопасности (класс II тип А2) БМБ-II-«Ламинар-С»-1,5, РУ № ФСР 2010/07111 от 18.03.2010).
5. Бокс абактериальный воздушной среды (ПЦР-бокс) (Бокс абактериальной воздушной среды БАВ-ПЦР-«Ламинар-С.», РУ № ФСР 2012/13259 от 05.05.2012).
6. Флуориметр для измерения концентрации продуктов полногеномной амплификации и ДНК-библиотек (Анализатор NanoDrop 2000, номер в госреестре СИ 56026-13) или аналогичный.
7. Электрофорезная камера для заливки геля, источник питания, трансиллюминатор электрофорезный (Устройство для электрофореза нуклеиновых кислот в агарозных и акриламидных гелях УЭФ-01-«ДНК-Техн.», РУ №ФСР 2012/13645 от 29.06.2012).
8. Набор автоматических дозаторов переменного объема на 0,1-10, 0,2-20, 20-200, 100-1000 мкл (Дозаторы пипеточные одно- и многоканальные «Лайт», номер в госреестре СИ 37682-13, Дозаторы пипеточные одно- и многоканальные «Техно», номер в госреестре СИ 43129-15; Дозаторы пипеточные одно- и многоканальные «Блэк», номер в госреестре СИ 41939-15).
9. Машина для производства лабораторного льда, коробка для льда или охлаждающий блок.
10. Магнитный штатив

6.2. Материалы

11. Низкоадгезивные пробирки на 1,5 мл Eppendorf DNA LoBind Tubes (Пробирки DNA LoBind объемом от 0,5 до 5 мл, РУ № ФСЗ 2009/04520 от

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

19.06.2009)

12. Полипропиленовые пробирки для ПЦР с плоской крышкой на 0,2 мл или 0,6 мл. (Тонкостенные пробирки для ПЦР с плоской крышкой объемом от 0,2 мл до 0,5 мл, Микроцентрифужные пробирки градуированные объемом от 0,6 мл до 2,0 мл, РУ № ФСЗ 2009/05024 от 08.06.2018)
13. Пробирки объемом 5 мл с завинчивающейся крышкой (Пробирки с винтовой горловинной крышкой объемом от 5 мл до 50 мл ФСЗ 2009/05024 от 08.06.2018
14. Одноразовые наконечники с фильтром объемом 10 мкл, 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл (Наконечники универсальные пластиковые в штативах и без штативов для лабораторных дозаторов и роботизированных систем, РУ № ФСЗ 2009/05025 от 08.06.2018)
15. Мерные цилиндры на 500 мл и 1 л
16. Безворсовая салфетка
17. Отдельный халат (РУ № ФСЗ 2011/10269 от 13.10.2011), шапочки (РУ № ФСЗ 2008/02099 от 03.07.2008), обувь (РУ № ФСР 2009/05903 от 22.10.2009) и одноразовые неопудренные нитриловые или латексные перчатки (РУ № ФСЗ 2010/07368 от 05.07.2010) в соответствии с МУ 1.3.2569-09.
18. Емкость для сброса наконечников (Емкости-контейнеры для медицинских отходов классов А, Б, В, Г, РУ№ ФСР 2010/09367 от 27.02.2014).

6.3. Реагенты

19. Этанол, 96%.
20. Реагент для очистки продуктов ПЦР на магнитных частицах («Agencourt AMPure XP» пр-ва Beckman Coulter S.A., США).
21. Буферный раствор LowTE (10 мМ Трис+0,1 мМ ЭДТА, pH=8,0)
22. Буфер PBS 1-х без Ca^{2+}, Mg^{2+} и БСА
23. Вода без нуклеаз или ультрачистая вода
24. Для проведения ПЦР в режиме реального времени: краситель SYBR Green I для нуклеиновых кислот (10-кратный концентрат в ДМСО), референсный краситель ROX, 25 мкМ.
25. Для проведения электрофореза: Агароза 2%, буфер TAE, интеркалирующий краситель для геля бромистый этидий, маркер длин ДНК 1 kb DNA Ladder
26. 70% изопропиловый спирт

6.4. Компьютер для инсталляции программного обеспечения

Требования:

Операционная система: Windows XP SP3/Vista/7/8/10.

Процессор (CPU): с двумя физическими ядрами, тактовая частота ядер не менее 1,6 ГГц.

Оперативная память (RAM): 1,5 ГБ для Windows XP SP3, 2 ГБ для Windows Vista/7/8/10.

Видеоадаптер: 256 Мб.

Объем жесткого диска – 250 Гб

Разрешение экрана – 1280 x 1024 пикселей.

Скорость интернет-соединения: 256 Кбит/с.

7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

В качестве материала используют клетки трофэктодермального происхождения. Отбор материала проводится в лабораториях ЭКО согласно внутренним протоколам клиники, нормативным документам и рекомендациям профессиональных сообществ.

Транспортировать и хранить клетки для исследования следует в микроцентрифужных пробирках объемом 0,2 мл, содержащих специализированный PBS буфер, при температуре -70 – -20°C. Перемещение буфера с клетками из одной пробирки в другую или в ПЦР-планшет недопустимо.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование должно проводиться при нормальных показателях микроклимата клинико-диагностической лаборатории[4]:

- температура окружающего воздуха от 20 до 28°С;
- относительная влажность 40–75 %.

Описание рабочего процесса

8.1. Подготовка библиотеки	8.1.2 Экстракция и амплификация геномной ДНК	стр. 37
	▼	
	8.2 Пулирование, очистка и количественная оценка библиотек	стр. 43
	▼	
	8.3 Создание Запланированного запуска	стр. 47
	▼	
Подготовка матрицы	8.4.3. Подготовка материалов	стр. 53
	▼	
	8.4.5. Загрузка станции пробоподготовки	стр. 54
	▼	
	8.4.5.6 Запуск станции пробоподготовки	стр. 63
	▼	
	8.4.5.7 Выгрузка чипа для секвенирования	стр. 68
	▼	
Секвенирование	8.5 Инициализация секвенатора	стр. 70
	▼	
	8.5.4. Запуск процедуры секвенирования	стр. 73
	▼	
Анализ	8.7 Анализ результатов секвенирования	стр. 81

[4] Указаны допустимые нормы температуры и относительной влажности воздуха в рабочей зоне производственных помещений в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 «Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны».

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.1. Подготовка и пулирование библиотек

8.1.1. Действия перед началом работы

Общие методологические указания	• При работе с вязкими растворами соблюдайте правила работы с вязкими жидкостями при их дозировании и перемешивании. • Убедитесь, что все реагенты разморозились при комнатной температуре. • До начала работы перемешайте на вортексе все буферные растворы (кроме ферментов) в течение 5 секунд, пробирки с ферментами перемешать встряхиванием, осадите капли с крышек пробирок на микроцентрифуге. •Соблюдайте зональность при проведении работ в пре- и пост-ПЦР зонах.
Инструкции по работе с образцами	•Соблюдайте общие правила и меры предосторожности при работе с биологическими материалами • Храните клетки на льду • При работе с растворами образцов и при последующем добавлении компонентов не касайтесь наконечником мениска жидкости и исключите пипетирование, для минимизирования потерь клеток и нуклеиновых кислот, связанных с адгезионной способностью пластика. • Не перемешивайте на вортексе клетки. • Осуществляйте этапы лизиса, амплификации и пулирования на льду или на холодном блоке • Меняйте наконечники при работе с разными образцами и разными реагентами. • Используйте новую пленку каждый раз при запечатывании 96-луночного планшета •Используйте низкоадгезивные пробирки для минимизирования потерь клеток и нуклеиновых кислот.

8.1.2. Экстракция и амплификация геномной ДНК

Необходимые материалы

- **Набор для приготовления библиотек ДНК** (входит в состав набора «РепроЛайн»)
- Пробирки 0,2 мл или 0,6 мл, или 1,5 мл
- Пробирки 5 мл
- Дозаторы переменного объема
- Одноразовые наконечники с фильтром
- Амплификатор в режиме реального времени
- Краситель SYBR Green I для нуклеиновых кислот
- Референсный краситель ROX, 25 мкМ

8.1.2.1 Экстракция геномной ДНК

ВНИМАНИЕ! Этапы 8.1.2.1.1. по 8.1.2.2.5. проводятся в пре-ПЦР зоне.

8.1.2.1.1. Подготовьте в пробирках 0,2 мл образцы исследуемого материала (от 1 до 10 клеток), помещенные в специализированный PBS буфер, общий объем которых составляет 2,5 мкл.

Отцентрифугируйте пробирки при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок.

8.1.2.1.2. Добавьте 2,5 мкл буфера для экстракции нуклеиновых кислот (пробирка с зеленой крышкой) в каждую пробирку, чтобы довести общий объем до 5 мкл.

8.1.2.1.3. Подготовьте отрицательные контрольные образцы (ОКО), поместив их в 2,5 мкл буфера для экстракции нуклеиновых кислот.

8.1.2.1.4. Приготовьте в пробирке объемом 0,6 мл (для наборов «РепроЛайн 16» и «РепроЛайн 24») и 1,5 мл (для набора «РепроЛайн 96») мастер-микс для экстракции в соответствии с таблицей, приведенной ниже. Для этого определите необходимый объем реагентов с учетом количества образцов (N) и ОКО. Непродолжительно вортексируйте содержимое пробирки с мастер-миксом. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирки.

Таблица 18

Подготовка мастер-микса для экстракции

Компонент набора	Объем для одной реакции	Объем для N количества реакций
Буфер для реакции лизиса (фиолетовая крышка)	4,8 мкл	N x 4,8 мкл x 1,1[1]
Смесь ферментов для лизиса клеток (жёлтая крышка)	0,2 мкл	N x 0,2 мкл x 1,1

[1] Коэффициент 1,1 вводится с целью увеличения на 10% объема реагентов для компенсации ошибки пипетирования.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.1.2.1.5. Добавьте 5 мкл мастер-микса для экстракции в каждую пробирку, содержащую образец (конечный объем должен составить 10 мкл).

ВНИМАНИЕ! Не погружайте наконечник в раствор с образцами. Не вортексируйте образцы. Вортексирование или погружение наконечника в раствор и его извлечение из раствора могут привести к потере клеток в результате их прилипания к стенке пробирки или к наконечнику.

8.1.2.1.6. Закройте плотно крышки пробирок. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок.

8.1.2.1.7. Инкубируйте образцы в термоциклере, используя следующую программу:

Таблица 19

Температура	Время
75 °C	10 минут
95 °C	4 минуты
22 °C	ожидание

8.1.2.1.8. Достаньте пробирки из термоциклера. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок. Поместите пробирки на лед или в блок для охлаждения.

8.1.2.2. Предварительная амплификация геномной ДНК

8.1.2.2.1. Приготовьте в предварительно помещенной на лед пробирке объемом 0,6 мл (для наборов «РепроЛайн 16» и «РепроЛайн 24») или 1,5 мл (для набора «РепроЛайн 96») мастер-микс для предварительной амплификации в соответствии с прописью, приведенной ниже. Необходимый объем реагентов рассчитайте с учетом количества образцов (N) и ОКО по таблице.

Таблица 20

Подготовка мастер-микса для предварительной амплификации

Компонент набора	Объем для одной реакции	Объем для N количества реакций [1]
Преамплификационный буфер (красная крышка)	4,8 мкл	N x 4,8 мкл x 1,1
Ферменты для реакции преамплификации (белая крышка)	0,2 мкл	N x 0,2 мкл x 1,1

[1] Коэффициент 1,1 вводится с целью увеличения на 10% объема реагентов для компенсации ошибки пипетирования.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Непродолжительно перемешайте на вортексе мастер-микс для предварительной амплификации. Затем отцентрифугируйте при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок.

8.1.2.2.2. Добавьте 5 мкл мастер-микса для амплификации в пробирку из п. 8.1.2.1.8. (конечный объем должен составить 15 мкл).

ВНИМАНИЕ! Не погружайте наконечник в раствор с образцами. Не вортексируйте образцы. Вортексирование или погружение наконечника в раствор и его извлечение из раствора могут привести к потере клеток в результате их прилипания к стенке пробирки или наконечнику.

8.1.2.2.3. Закройте плотно крышки пробирок. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок.

8.1.2.2.4. Инкубируйте образцы в термоциклере с нагреваемой крышкой, используя следующую программу:

Таблица 21

Этап	Температура	Время [1]	Количество циклов
1	95°C	2 минуты	1
2	95°C	15 секунд	12
	15°C	50 секунд	
	25°C	40 секунд	
	35°C	30 секунд	
	65°C	40 секунд	
	75°C	40 секунд	
3	4°C	хранение	1

[1] Время программы составляет приблизительно 1 час.

8.1.2.2.5. Достаньте пробирки из термоциклера. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок. Положите пробирки на лед или в блок для охлаждения.

8.1.2.3 Амплификация библиотек

Рекомендовано проводить амплификацию библиотек с использованием прибора, позволяющего детектировать наличие продуктов амплификации в режиме реального времени. Этот метод позволяет определить сильные количественные отклонения отдельных библиотек, а также определить наличие проблем или отсутствие амплификации, не прибегая к гель-электрофорезу, и, таким образом, проводить текущий контроль качества. Однако, при необходимости, можно провести амплификацию библиотек с помощью традиционного амплификатора (ПЦР с анализом наличия продукта амплификации по конечной точке).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Если вы выбрали вариант ПЦР без режима реального времени - сразу перейдите к п 8.1.2.3.2. и вместо смеси красителей, используйте воду без нуклеаз.

Если вы выбрали вариант проведения ПЦР в режиме реального времени – перейдите к п. 8.1.2.3.1.

8.1.2.3.1. Для проведения ПЦР в режиме реального времени, подготовьте смесь красителей SYBR Green I/ ROX, 25 мкМ.

Для приготовления смеси красителей:

а. Приготовьте десятикратный рабочий раствор 10xSYBR Green I. Для этого разведите стоковый раствор в буфере lowTE, из расчета 1 часть SYBR Green I к 1000 частей воды без нуклеаз.

б. Смешайте рабочие растворы SYBR Green I и референсного красителя ROX, 25 мкМ в соответствии с таблицей, приведенной ниже:

Таблица 22

Смесь красителей

Компонент	Объем для одной реакции	Объем для N количества реакций [1]
Десятикратный рабочий раствор SYBR Green I	0,5 мкл	N x 0,5 мкл x 1,1
Референсный краситель ROX, 25 мкМ	1,0 мкл	N x 1,0 мкл x 1,1
Вода без нуклеаз (прозрачная крышка)	1,0 мкл	N x 1,0 мкл x 1,1

[1] Коэффициент 1,1 вводится с целью увеличения на 10% объема реагентов для компенсации ошибки пипетирования.

8.1.2.3.2. Подготовьте планшеты с набором баркодов 1-24 или 1-96. Для этого:

а. Разморозьте планшет в течение 10 минут при комнатной температуре.

б. Затем отцентрифугируйте при 1 000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне лунки.

в. Обработайте герметизирующую фольгу на планшете 70% этанолом.

г. Приготовьте в предварительно помещенной на лед пробирке объемом 5 мл мастер-микс для амплификации в соответствии с таблицей, приведенной ниже. Необходимый объем реагентов рассчитайте с учетом количества образцов (N) и ОКО по таблице.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Таблица 23

Мастер-микс для амплификации

Компонент набора	Объем для одной реакции	Объем для N количества реакций [1]
Амплификационный буфер (оранжевая крышка)	27 мкл	N x 27 мкл x 1,1
Ферменты для амплификации (синяя крышка)	0,5 мкл	N x 0,5 мкл x 1,1
Смесь красителей SYBR Green I/ ROX, 25 мкМ[2]	2,5 мкл	N x 2,5 мкл x 1,1

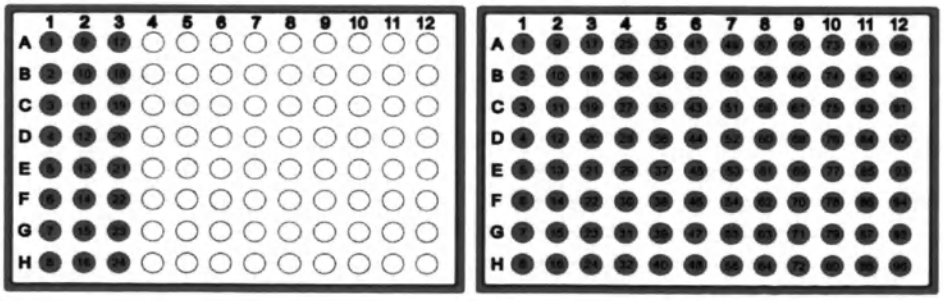
[1] Коэффициент 1,1 вводится с целью увеличения на 10% объема реагентов для компенсации ошибки пипетирования.
[2] При выборе варианта амплификации с помощью ПЦР с анализом по конечной точке - замените эти реагенты на воду без нуклеаз.

д. Непродолжительно перемешайте мастер-микс для амплификации на вортексе. Затем отцентрифугируйте при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок.

8.1.2.3.3. Откройте крышки пробирок с образцами затем добавьте 30 мкл мастер-микса для амплификации в каждую пробирку (конечный объем реакции должен составить 45 мкл).

8.1.2.3.4. Проткните наконечником фольгу над необходимыми лунками планшета с набором баркодов (смотрите схему планшета). С помощью нового наконечника отберите 5 мкл раствора с соответствующим баркодом для каждого образца, меняя наконечники дозатора после каждого образца (конечный объем реакции составит 50 мкл).

ВНИМАНИЕ! В рамках одного запуска номера баркодов не должны повторяться!



Планшеты с набором баркодов, содержащие баркоды 1-24 и 1-96. Баркоды находятся в лунках, помеченных соответствующими номерами.

8.1.2.3.5. Установите дозатор на 30 мкл и перемешайте пипетированием содержимое пробирок (меняя наконечники дозатора после каждого образца). Следите за тем, чтобы в образцах не образовывались пузырьки воздуха.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.1.2.3.6. Закройте плотно крышки пробирок. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок.

8.1.2.3.7. Инкубируйте образцы в термоциклере с нагреваемой крышкой, используя следующую программу:

Таблица 24

Этап	Температура	Время [1]	Количество циклов
1	95°C	3 минуты	1
2	95°C	20 секунд	4
	50°C	25 секунд	
	72°C	40 секунд	
3[2] детекция флуоресценции	95°C	20 секунд	12
	72°C	55 секунд	
4	4°C	хранение	1

[1] Время амплификации составляет приблизительно 30 минут.
[2] Если амплификация осуществляется с детекцией в реальном времени.

8.1.2.3.8. Выньте пробирки из термоциклера. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок. Положите пробирки на лед или в блок для охлаждения.

ВНИМАНИЕ! Продолжите работу в пост-ПЦР Зоне.

8.1.2.3.9. Необходимо провести анализ проверки качества амплифицированных библиотек с помощью электрофореза. Для этого нанесите на агарозный 2 % гель 10 мкл каждой амплифицированной библиотеки и проанализируйте.

Примечание: Длина фрагментов неочищенных библиотек составляет, как правило, величину, близкую к 350 п.н.

ВНИМАНИЕ: Образцы библиотек могут храниться при температуре от - 30°C до -10°C перед переходом к следующему этапу.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.2. Пулирование, очистка и количественное определение библиотек

Примечание: Мы рекомендуем вам проводить процедуры пулирования, очистки пула и количественной оценки полученной библиотеки в один день. Продукты полногеномной амплификации могут храниться на -30 - -10.

Необходимые материалы
- Свежеприготовленный 70% этанол
- Реагент «Agencourt AMPure XP» - нагретый до комнатной температуры
- Магнитный штатив
- Буферный раствор LowTE (10 мМ Трис+0,1 мМ ЭДТА, pH=8,0)
- Фотометр (NanoDrop 2000)

8.2.1. Пулирование библиотек

8.2.1.1. Действие по пулированию библиотек зависит от того, какой был выбран ранее метод амплификации (включающий п. 8.1.2.3.1. или исключающий).

Таблица 25

Если вы используете	Действие
Стандартную ПЦР с анализом по конечной точке (п. 8.1.2.3.1. исключен из протокола)	Непродолжительно перемешайте пробирки из п. 8.1.2.3.8. на вортексе. Затем центрифугируйте при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок. Пулируйте в новой пробирке 0,2 мл (для наборов «РепроЛайн 16» и «РепроЛайн 24») или в 0,6 мл (для набора «РепроЛайн 96») образцы, для этого внесите по 5 мкл каждой приготовленной библиотеки (конечный объем должен составлять 5*N мкл) Непродолжительно перемешайте пробирку на вортексе. Затем отцентрифугируйте при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирки.
ПЦР в режиме реального времени (п. 8.1.2.3.1. включен в протокол)	Непродолжительно перемешайте пробирки из п. 8.1.2.3.8. на вортексе. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок. Пулируйте в новой пробирке 0,2 мл (для наборов «РепроЛайн 16» и «РепроЛайн 24») или 0,6 мл (для набора «РепроЛайн 96») образцы, для этого рассчитайте среднее значение C_t для всех библиотек, которые вы хотите пулировать и скорректируйте объемы библиотек, которые отклоняются от среднего значения C_t, следуя следующим инструкциям: • Библиотеки, для которых отклонение C_t от среднего составляет не больше единицы, следует внести в пробирку в количестве 5 мкл (стандартный объем). • Библиотеки, для которых отклонение C_t от среднего составляет >3, должны быть исключены из пула. • Библиотеки, для которых отклонение C_t от среднего находится в диапазоне >1 до <3, следует добавлять в количестве 10 мкл (в

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

	два раза больше стандартного объема). • Не корректируйте более 25% библиотек в пуле (кроме библиотек, которые отклоняются на > 3 C_t s от среднего значения). Если более 25% библиотек отклоняются от среднего значения на 1 или большее значение C_t s, скорректируйте библиотеки с более существенными отклонениями C_t до тех пор, пока не будет достигнут порог 25%. Непродолжительно перемешайте пробирку на вортексе. Затем отцентрифугируйте при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирки.

8.2.1.2. Перенесите 40 мкл пула библиотек в пробирку 0,2 мкл для проведения процедуры очистки.

Примечание 1: При пулировании менее 8 библиотек, объем пула составляет менее 40 мкл. В этом случае добавьте необходимое количество воды без нуклеаз, чтобы довести окончательный объем до 40 мкл до начала очистки пула библиотек.

Примечание 2: Сохраните пробирки из п. 8.1.2.3.8. после отбора необходимого количества каждой библиотеки (для восстановления из этой точки).

8.2.2. Очистка пула библиотек

8.2.2.1. Инкубируйте пробирку в термоциклере с нагреваемой крышкой, используя следующую программу:

Таблица 26

Этап	Температура	Время	Количество циклов
1	70°C	2 минуты	1
2	22°C	хранение	1

а. По окончании инкубации отцентрифугируйте при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирки. Затем перенесите пул библиотек в новую 1,5 мл пробирку.

б. Добавьте к пулу библиотек однократный объем 40 мкл магнитных частиц «AMPure XP», предварительно нагретых до комнатной температуры.

в. Непродолжительно перемешайте смесь на вортексе. Затем отцентрифугируйте при 1,000 x g в течение 60 секунд для того, чтобы собрать содержимое на дне пробирки.

г. Поместите пробирку на магнитный штатив. Подождите в течение 5 минут, пока магнитные частицы осядут на стенке пробирки.

8.2.2.2. Не снимая пробирку с магнитного штатива, аккуратно выполните следующие действия

а. Удалите супернатант не касаясь наконечником магнитных частиц.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

б. Добавьте 250 мкл свежеприготовленного 70% этанола и инкубируйте 30 секунд.

в. Удалите супернатант, не касаясь наконечником магнитных частиц.

г. Повторите шаги б-в и после второй отмывки полностью удалите остатки спирта со дна пробирки.

д. Высушите пробирку с магнитными частицами при комнатной температуре 3 - 4 минуты.

8.2.2.3. Поместите пробирку в обычный штатив и добавьте 40 мкл буферного раствора lowTE, перемешайте пипетированием и инкубируйте 1 минуту при комнатной температуре.

8.2.2.4. Поместите пробирку на магнитный штатив. Затем подождите 2-3 минуты, пока магнитные частицы не осядут на стенке пробирки. Перенесите 35 мкл супернатанта в новую 1,5 мл пробирку и затем на лед или холодный блок.

ВНИМАНИЕ! Следите за тем, чтобы магнитные частицы не попали в новую пробирку вместе супернатантом.

8.2.3 Количественное определение библиотек

8.2.3.1. Определите концентрацию (нг/мкл) пула библиотек с помощью фотометра «NanoDrop 2000».

Перед началом измерения выберите «DNA-50» и единицы измерения «ng/ul» Добавьте 1 мкл воды без нуклеаз на специальную подложку прибора для разовой калибровки (установления нулевого значения). Опустите плечо прибора и нажмите кнопку «Blank». После этого протрите каплю чистой сухой, безворсовой лабораторной салфеткой. Проделайте эту процедуру еще один раз. Осторожно провортексируйте/перемешайте пипеткой пробирку с пулом библиотек. Затем нанесите 1 мкл пула библиотек на специальную подложку прибора, закройте плечо прибора и нажмите «Measure». Протрите измерительную подложку с помощью сухой, безворсовой лабораторной салфетки, и прибор готов к следующему образцу.

С помощью программного обеспечения к прибору после измерения выдается график измерения и концентрация, основанная на поглощении при длине волны 260 нм. Также программное обеспечение прибора выдает значение 260/280, которое является коэффициентом поглощения при 260 нм и 280 нм. Для ДНК пороговое значение коэффициента обычно 1.8.

Зафиксируйте получившийся результат.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.2.3.2. Используя полученное значение концентрации (нг/мкл) определите молярную концентрацию пула библиотек. Для этого переведите нг/мкл в нМ, умножив значения нг/мкл, полученные на этапе н. п. 8.2.3.1, на 6,06 нмоль/мг.

Пример: Концентрация пула библиотеки составляет 10 нг/мкл.

Молярная концентрация составляет (МКС) 10 нг/мкл (или 10 мг/л) х 6,06 нмоль/мг = 60,6 нмоль /л = 60,6 нМ.

8.2.3.3. Разведите пул библиотек до рабочей молярной концентрации (РМК) 1 нМ.

Примечание: По формуле (МКС * 5) / РМК - 5 = количество воды (мкл) необходимое для добавления к 5 мкл концентрированного пула для разведения в МКС раз и для достижения РМК.

Пример: в предыдущем примере молярная концентрация библиотеки составляет 60,6 нМ. Для разведения пула библиотек до 1 нМ добавьте 298 мкл буферного раствора LowTE к 5 мкл пулированных библиотек. по формуле (60,6 * 5) / 1 – 5 = 298

ВНИМАНИЕ! Разведенные пулы библиотек и неразведенные стоковые растворы пулов библиотек могут храниться в течение 1 недели при температуре 4°С. В случае необходимости мы рекомендуем размораживать отдельные библиотеки и повторно проводить процедуры пулирования, очистки, количественного определения и разведения, начиная с этапа «Пулирование библиотек» 8.1.2.3.8.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.3. Создание программы запуска секвенатора

8.3.1. Информация о запланированных запусках секвенатора

Запланированные запуски содержат информацию о настройках прибора, используемых при секвенировании, включая количество циклов секвенирования, тип используемого набора, баркоды, информацию об образцах. Программы запланированных запусков организуют работу этапов исследования, начиная с подготовки матрицы на станции пробоподготовки и заканчивая этапом секвенирования на секвенаторах «F-Genetics Плюс» и «F-Genetics» и автоматически запускают процедуру анализа данных по запланированному протоколу.

8.3.2. Создание программы запуска секвенатора

8.3.2.1. Зарегистрируетесь на сервере «Torrent Server» через браузер.

8.3.2.2. Нажмите на вкладку **«Plan» (Запланировать)**. Затем выберите вкладку **«Reproductive» (Репродуктивный)** в списке приложений, расположенных в левой части страницы.

8.3.2.3. Выберите **«Ion ReproSeq Aneuploidy - Ion S5 System»** из списка под заголовком **«Template Name» (Название образца).**

8.3.2.4. В основном меню приложения **«Ion ReproSeq Aneuploidy»** имеются автоматически заданные настройки **«Application» (Приложение), «Kits» (Наборы) и «Plugins» (Плагины)**. Основные поля описаны в разделе «Основные поля приложения для создания программы секвенирования» в пункте 8.3.2.7.

Осуществите следующие действия:

а. Введите новое **«Run Plan Name»** (**Название запуска**) (если необходимо).

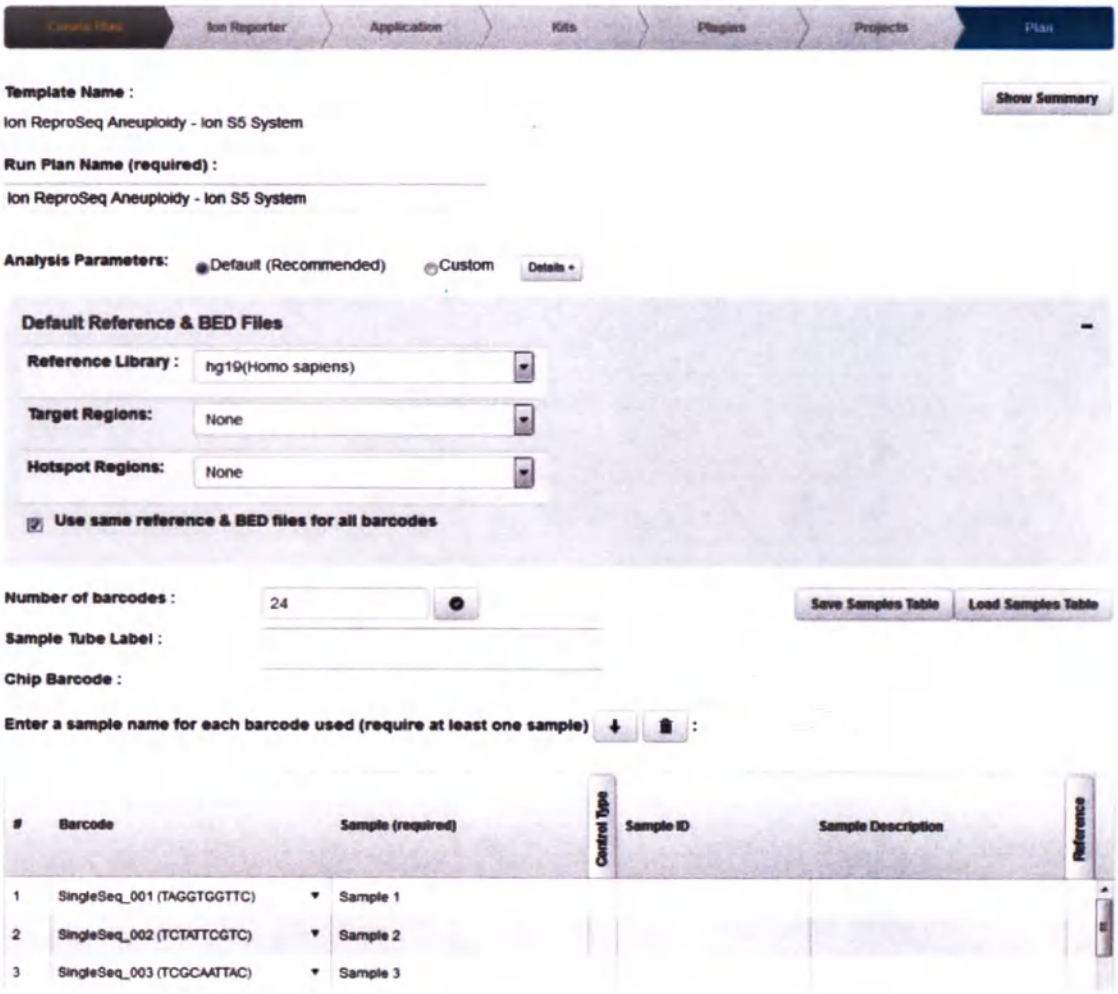
б. Выберите референсную последовательность генома человека (**hg19(Homo sapiens)**) из ниспадающего меню **«Reference Library» (Референс).**

в. Выберите **«None» (Нет)** из выпадающего меню **«Target Regions» (Таргетные участки)** и **«Hotspot Regions» (Горячие регионы).**

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

г. Введите номера баркодов, которые вы использовали при подготовке образцов (Если баркод образца отличается от автоматически предложенного программой, его можно поменять, нажав на стрелочку справа и выбрав нужный номер баркода из выпадающего меню).

д. Введите уникальные названия образцов напротив каждого используемого баркода. Не следует использовать названия, предложенные программой по умолчанию (например, «Образец 1», «Образец 2» и т.д.), поскольку это может затруднить в дальнейшем идентификацию образцов.



ВНИМАНИЕ! Мы настоятельно рекомендуем присваивать уникальные названия каждому образцу и эксперименту. Это позволит в дальнейшем облегчить процедуру идентификации образцов и поиска результатов анализов в программе «Ion Reporter». Не присваивайте одни и те же названия образцам в разных экспериментах.

8.3.2.5. Для того, чтобы создать автоматический анализ с использованием выбранного рабочего процесса, нажмите кнопку «**Ion Reporter».** Затем:

а. Выберите ваш аккаунт.

б. Выберите необходимый рабочий процесс «**Ion ReproSeq»** из выпадающего меню.

6. На этапе «**Kits» (Наборы)** проверьте сделанный выбор и внесите изменения в соответствии с рабочим циклом:

а. Выберите «**Ion S5»** в ниспадающем меню **«Instrument» (Прибор)**, если она не выбрана автоматически.

б. Выберите необходимый тип чипа, который вы используете.

в. Выберите набор «**Ion SingleSeq»** из ниспадающего меню **«Library Kit Type» (Тип наборов библиотек).**

г. Выберите **Ion ReproSeq PGS Kits-Chef** (**Набор для ПГТ Ion ReproSeq Chef**) из ниспадающего меню **«Template Kit» (Набор матриц).**

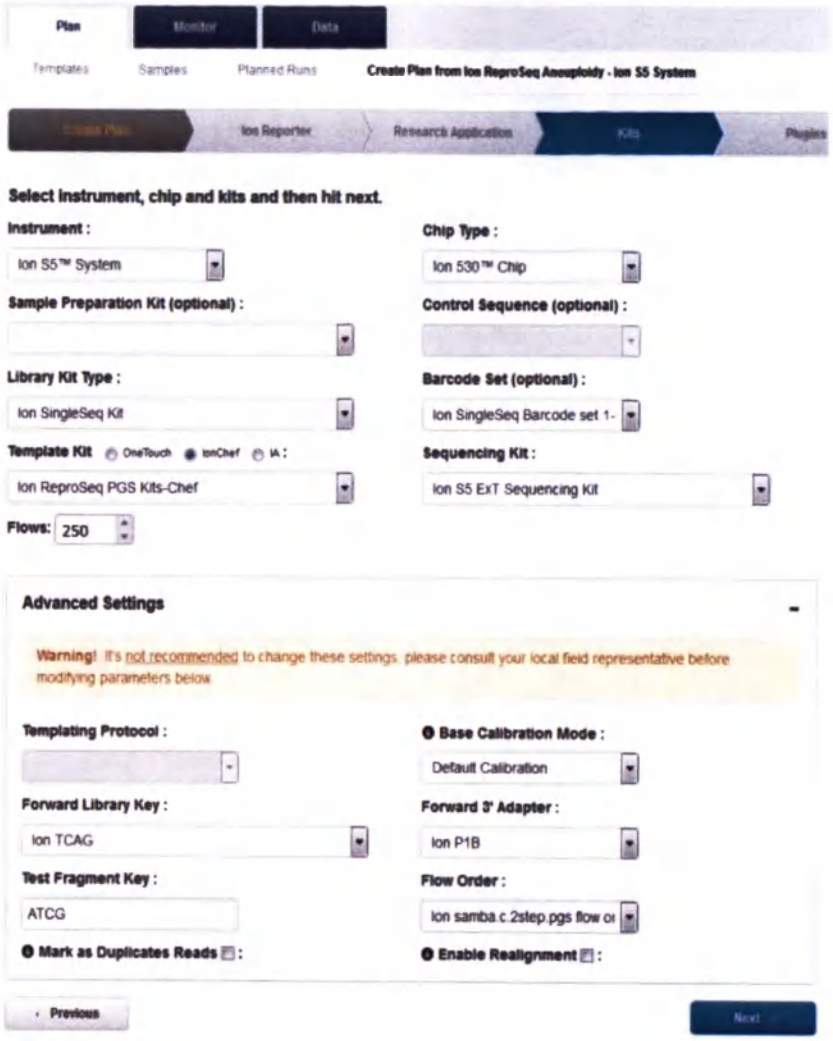
д. Выберите **Ion S5 ExT Sequencing Kit** из ниспадающего меню **«Sequencing Kit» (Набор для секвенирования).**

е. Выберите требуемый набор баркодов:

- **Набор баркодов 1-96 (по умолчанию)**
- **Набор баркодов 1-24**

ж. Выберите значение 250 напротив показателя **«Циклы» («Flows»)** в и нажмите кнопку «**Далее» (Next).**

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



8.3.2.6. Выберите необходимые параметры на этапе **Projects** (Проекты) и нажмите кнопку **Next (Далее).**

8.3.2.7. Во вкладке **«Запланировать» (Plan)** нажмите **«Plan Run» (Запланировать запуск)** в нижнем правом углу для того, чтобы сохранить **Запланированный запуск**. Запуск будет отображён на странице **«Planned Runs» (Запланированные запуски)** под введенным вами названием.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Таблица 27

Основные поля запланированного запуска.

Название поля	Описание
IonReporter	Выберите учетную запись и выберите **ReproSeq PGS w1.1 (выявление анеуплоидии с помощью полного геномного анализа с низким покрытием ReproSeq)** и другие рабочие процессы **Ion ReproSeq** в меню **Existing Workflow** (Текущие рабочие процессы). Для того, чтобы создать новый рабочий процесс, нажмите кнопку **Create New Workflow (Создать новый рабочий процесс).**
Application (Применение)	Выберите опцию **Reproductive (Репродуктивный)**
Library Kit Type (Тип набора библиотек)	Выберите набор **Ion SingleSeq.**
Template Kit (Набор матриц)	Выберите набор для ПГТ **Ion ReproSeq Chef**
Sequencing Kit (Набор для секвенирования)	Выберите набор для секвенирования **Ion S5 ExT**.
Flows (циклы)	Введите необходимое количество циклов для набора для секвенирования и длину прочтения: **250 циклов.**
Chip Type (Тип чипа)	Выберите тип чипа, который вы используете.
Адаптер Forward 3'	Выберите **Ion P1B.**
Flow Order (количество циклов)	Выберите **Ion samba.c.2step.pgs**
Barcode Set (Набор баркодов)	Выберите **баркоды 1-24 Ion SingleSeq** или **баркоды 1-96 Ion SingleSeq**
Project (проект)	Выберите или добавьте проект, в рамках которого вы хотите сгруппировать данные о рабочем цикле.
Run Plan Name (Название запланированного запуска)	Введите название Запланированного запуска.
Reference Library (Эталонная библиотека)	Выберите эталонную библиотеку, загруженную в сервер Torrent: hg19.
Target Regions and Hotspot Regions (Исследуемые и целевые области)	Выберите опцию None (Нет) (по умолчанию)
Введите название образца	Введите название образца, выберите вариант отношения Self и присвойте уникальный идентификационный номер анализа для каждого образца в цикле (количество образцов будет изменяться на основе количества выбранных баркодов). Не используйте названия по умолчанию «Образец 1», «Образец 2» и т.д.
Пороговые значения контроля	Задайте пороговые значения для «Загрузки гранул», «Ключевого сигнала» и «Используемой последовательности». Во вкладке **Monitor ► Runs in Progress (Контроль ► Выполняемые циклы)** появляется предупреждение, если параметры опускаются ниже заданного порогового значения.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.4. Запуск станции пробоподготовки

8.4.1. Действия перед началом работы

Перед началом использования станции пробоподготовки

• Убедитесь в том, что станция пробоподготовки очищена после предыдущего рабочего цикла. В противном случае, очистите станцию перед загрузкой материалов. **Примечание:** Чтобы получить дополнительную информацию о методах очистки, смотрите 8.6.3. Очистка станции пробоподготовки.

• Проверьте пустые отделения для реагентов и растворов на предмет наличия конденсата. Конденсат может собираться в этих отделениях при определенных условиях температуры и влажности. Прежде чем загрузить расходные материалы в изделие, протрите отделения лабораторной салфеткой или абсорбирующей тканью, если необходимо.

• Убедитесь в том, что станция пробоподготовки подключена к серверу «Torrent Server». В главном окне станции нажмите **Settings (Настройки)**, а затем **«Torrent Server»** для того, чтобы проверить статус подключения вашего изделия.

8.4.2. Необходимые материалы

Необходимые материалы

- **Набор материалов для станции пробоподготовки** ((входит в состав набора «РепроЛайн»)
- **Картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки** (входит в состав набора «РепроЛайн»)
- **Картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки** ((входит в состав набора «РепроЛайн»)
- **Чип 510 или 520 или 530** (входит в состав набора «РепроЛайн»)
- Противовес для чипов (входит в состав системы «F-Genetics»)
- Вода без нуклеаз
- Дозаторы 10 мкл и 200 мкл и наконечники с фильтром
- Емкость для отходов

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.4.3. Подготовка расходных материалов

1. Распакуйте картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки за 45 минут перед использованием. Подождите, пока картридж нагреется до комнатной температуры.

ВНИМАНИЕ! Картридж с реагентами должен выдерживаться в течение 45 минут при комнатной температуре перед использованием.

2. Извлеките другие картриджи и материалы из упаковки. Затем разместите их на столе рядом со станцией пробоподготовки.

Подготовьте следующие позиции:

- Противовес и адаптер для чипов
- Штатив с пробирками для модуля обогащения
- Наконечники в штативе
- Планшет с профольгированной крышкой
- Крышки для центрифуг (2 шт.)
- Пробирки (12 шт.)
- Картридж с растворами для амплификации библиотек
- Картридж с реагентами (ПГТ).

ВНИМАНИЕ! Перед использованием, аккуратно постучите по картриджу с реагентами и картриджу с растворами для того, чтобы реагенты переместились на дно пробирки.

Примечание: При хранении в нормальных условиях в некоторых пробирках картриджа с реагентами (ПГТ) может выпадать осадок. Если осадок присутствует, загрузите картридж, как указано в инструкциях. Осадок растворяется, когда реагенты смешиваются во время использования прибора.

8.4.4. Добавление библиотеки в пробирку для образцов библиотек

1. С помощью дозатора перенесите 4 мкл пула библиотек с молярной концентрацией 1 нМ в пробирку для образцов библиотек (пробирка с штрихкодом), находящаяся в положении А на картридже с реагентами (ПГТ). Добавьте 46 мкл воды без нуклеаз, чтобы получить концентрацию 80 пМ. Погружайте и извлекайте дозатор 5 раз, чтобы смешать раствор.
2. Закройте крышкой пробирку с образцами библиотек и храните ее во льду до тех пор, пока вы не будете готовы загрузить пробирку в картридж с реагентами и в станцию пробоподготовки.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.4.5. Загрузка станции пробоподготовки

ВАЖНО! • Режимы номинальной частоты вращения центрифуги предназначены для предоставленных люлек и рекомендованных чипов, пробирок и реагентов для подготовки образцов.

• Центрифуга для загрузки чипа предназначена для работы при указанных частотах вращения, которые подходят для определенных люлек, чипа, адаптера и противовеса для чипов. Центрифуга должна быть сбалансирована по нагрузке. Необходимо предпринять меры, чтобы надлежащим образом загрузить люльку. В случае высокого уровня вибрации, убедитесь в том, что все компоненты правильно установлены и роторы правильно сбалансированы.

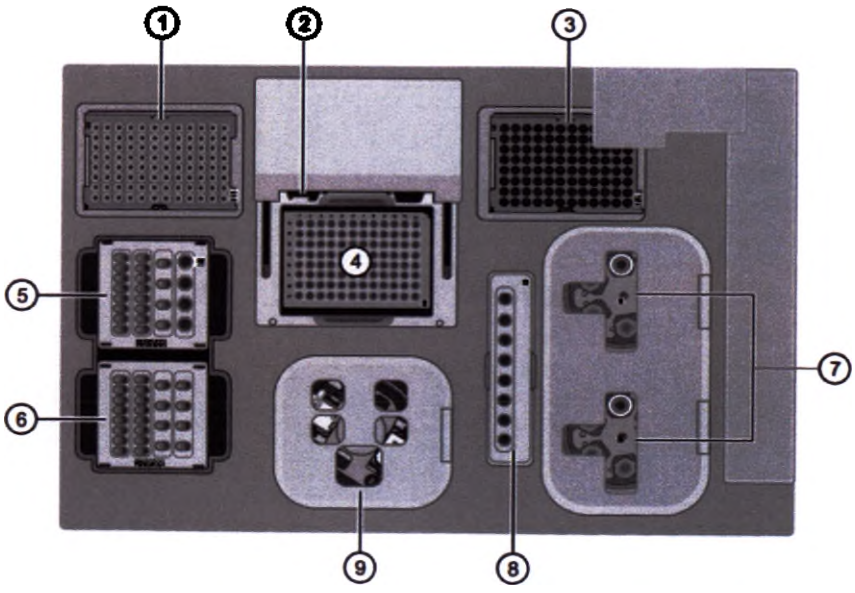
• Используйте только материалы, которые входят в набор реагентов «РепроЛайн», для номинальной частоты вращения центрифуги. Не снимайте или не заменяйте роторы. Проверяйте люльки перед каждым использованием для того, чтобы обеспечить нормальную работу.

• Убедитесь в том, что изделие включено и было очищено после последнего использования.

• Убедитесь в том, что все компоненты очищены и высохли перед загрузкой в станцию пробоподготовки.

• Убедитесь в том, что компоненты станции для реагентов и растворов являются сухими и не содержат конденсата перед загрузкой компонентов.

Выполните нижеописанные процедуры для того, чтобы загрузить станцию пробоподготовки. Полностью загруженная станция показана на рисунке ниже:



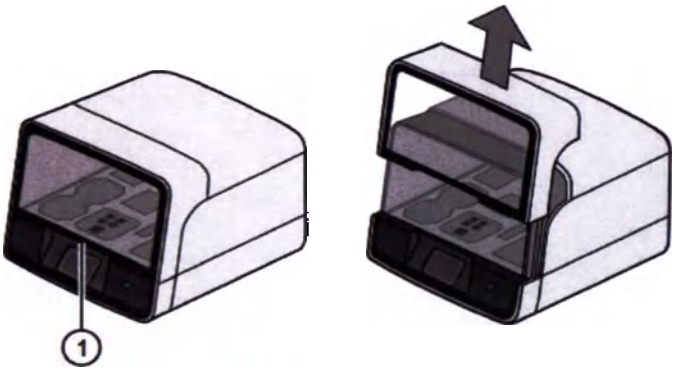
(1) Новый штатив с наконечниками
(2) Профольгированная крышка (установлена)
(3) Штатив для пустых наконечников (перемещен из позиции с новым штативом (1)).
(4) Планшет 96-луночный

(5) Картридж с реагентами (ПГТ)
(6) Картридж с растворами для амплификации библиотек
(7) Центрифуги для регенерации (извлечения образцов): пробирки и крышки для центрифуг
(8) Штатив с пробирками для модуля обогащения
(9) Центрифуга для загрузки чипа: Адаптер/ чип и противовес для чипов.

8.4.5.1. Загрузка штативов с наконечниками и планшета для ПЦР

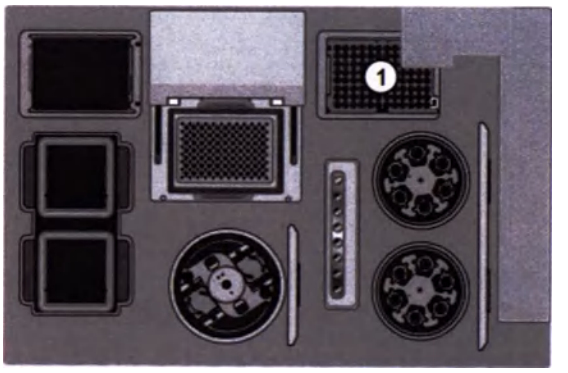
8.4.5.1.1. Нажмите кнопку ⏏ (Открыть дверцу) на сенсорном экране изделия для того, чтобы отрыть дверцу. Затем подождите, пока защелка не откроется.

8.4.5.1.2. Поднимайте дверцу прибора вверх до тех пор, пока не сработает механизм блокировки.



(1) Нажмите здесь, затем поднимите.

8.4.5.1.3. Установите пустой штатив из-под наконечников от предыдущего запуска в положение «Использованные наконечники». Затем смените перчатки.



(1) Положение «Использованные наконечники»

ВНИМАНИЕ!

• Убедитесь, что в пустом штативе, находящимся в положении «Использованные наконечники», нет наконечников. Прибор отменит цикл, если наконечники находятся в положении «использованные».

• Для того, чтобы предотвратить загрязнение, следует незамедлительно менять перчатки после перемещения пустого штатива в положение «Использованные наконечники»

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

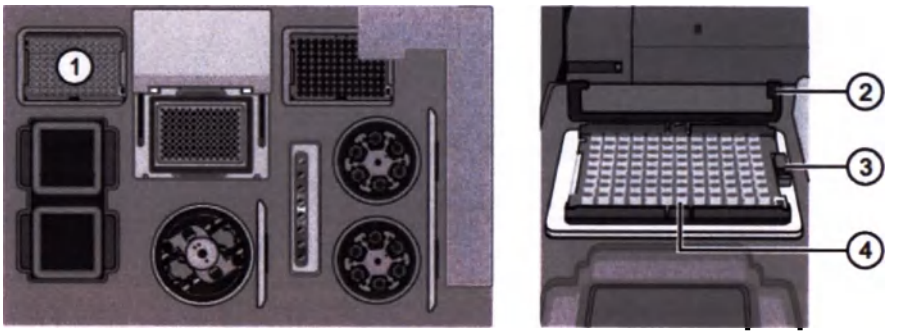
Примечание: Небольшое количество сухого остатка может оставаться в кювете пустого штатива после рабочего цикла. Это не повлияет на последующие циклы в положении «Использованные наконечники».

8.4.5.1.4. Распакуйте новый штатив с наконечниками и снимите крышку для того, чтобы открыть наконечники. Затем установите в положение «Новые наконечники».

Примечание: Два прокалывающих наконечника предварительно устанавливаются в положение G7 и H7 на штативе с наконечниками.

Примечание: Сохраните крышку для дальнейшего использования.

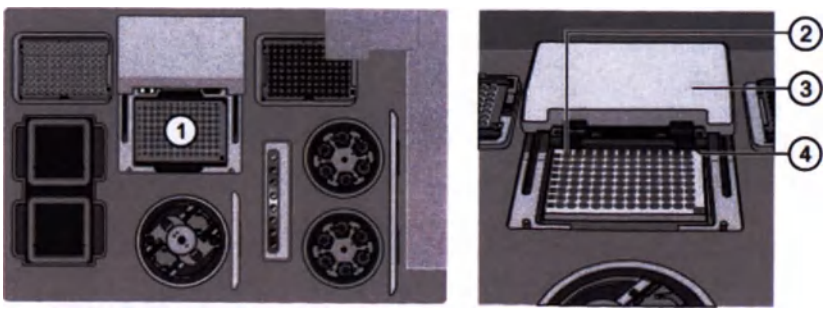
8.4.5.1.5. Переместите защелку вперед для того, чтобы поднять зажимную скобу. Разместите штатив с наконечниками в положение «Новые наконечники». Опустите скобу, затем переведите защелку в заднее положение для того, чтобы зафиксировать штатив в определенном положении.



(1) Положение новых наконечников.
(2) Скоба
(3) Защёлка
(4) Новый штатив с наконечниками

8.4.5.1.6. Загрузите планшет 96-луночный в блок для образцов термоциклера. Затем вставьте новую профольгированную крышку под автоматическую нагреваемую крышку.

ВНИМАНИЕ! Когда профольгированная крышка установлена правильно, ее упоры направлены вверх и контактируют с нагреваемой крышкой.



(1) Блок для образцов термоциклера
(2) Лунка A1
(3) Крышка
(4) Закрепленный угол.

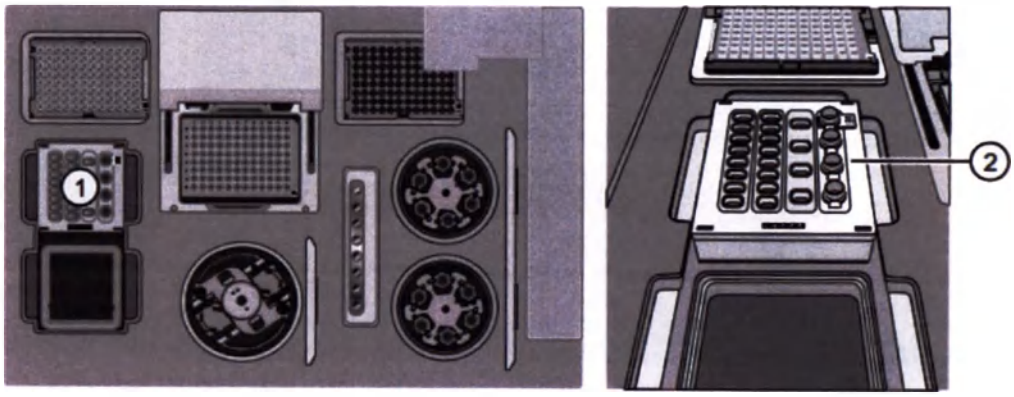
8.4.5.2. Загрузка картриджей с реагентами и растворами

ВНИМАНИЕ! Разморозьте картридж с реагентами (ПГТ) при комнатной температуре в течение 45 минут перед использованием.

8.4.5.2.1. Аккуратно постучите по картриджу с реагентами на столе для того, чтобы реагенты собрались на дне пробирок.

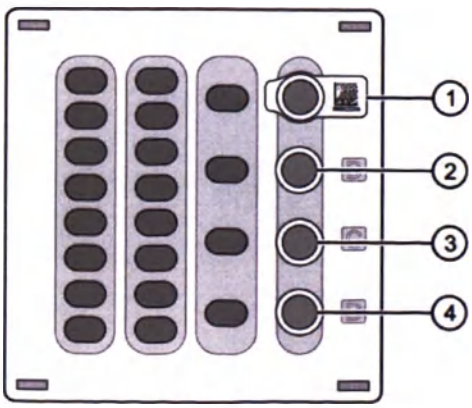
8.4.5.2.2. Загрузите картридж в станцию для реагентов таким образом, чтобы он прочно зафиксировался в необходимом положении и располагался ровно на платформе.

ВНИМАНИЕ! При установке картриджей не применяйте чрезмерное усилие. Для каждого картриджа предусмотрено только одно место и положение на платформе. Если картридж не подходит, убедитесь в том, что вы устанавливаете соответствующие картриджи в правильном положении.



1. Станция для реагентов (4°C)
2. Картридж с реагентами (ПГТ)

8.4.5.2.3. Снимите колпачок с пробирки с образцами библиотек, которая содержит 50 мкл разведенной библиотеки, и установите ее в позицию А на картридже с реагентами.



(1) Позиция А (Пробирка для образцов)
(2) Позиция В (2М NaOH)
(3) Позиция С (Полистирольные частицы)
(4) Позиция D (Пустая пробирка)

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ВНИМАНИЕ! Расположите пробирку с образцами библиотек таким образом, чтобы баркод был виден и ориентирован вправо.

8.4.5.2.4. Снимите колпачок с пробирки 2M NaOH которая находится в позиции B, пробирки, содержащей частицы в позиции C, а также пустой пробирки в позиции D.

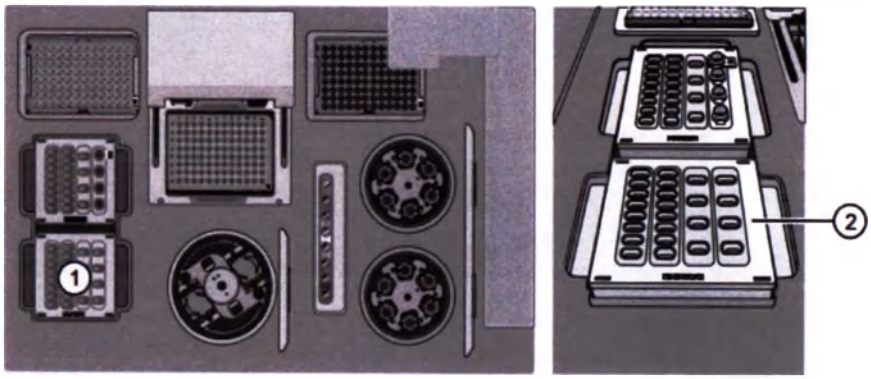
ВНИМАНИЕ! Во время загрузки картриджей с реагентами:

• Прижмите пробирку для образцов библиотек для того, чтобы она прочно зафиксировалась в картридже.

• Убедитесь в том, что со всех четырех пробирок сняты колпачки.

8.4.5.2.5. Аккуратно постучите по картриджу с растворами для того, чтобы реагенты опустились на дно пробирок.

8.4.5.2.6. Установите картридж с растворами в станцию для растворов таким образом, чтобы он был на одном уровне с платформой.

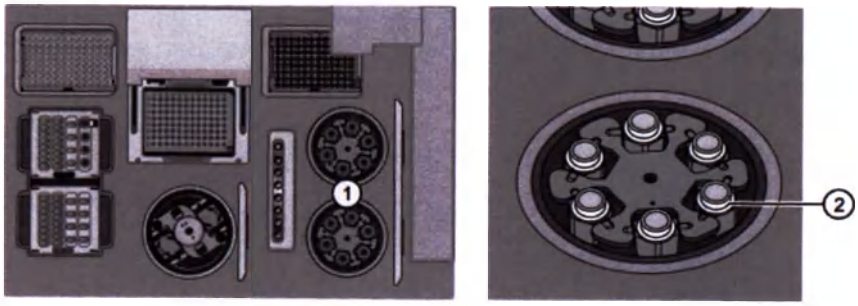


(1) Станция для растворов (комнатная температура)

(2) Картридж с растворами

8.4.5.3. Загрузка пробирок и штатива с пробирками для модуля обогащения

8.4.5.3.1. Установите по шесть пробирок в каждую центрифугу для регенерации (извлечения образцов).



(1) Центрифуга для регенерации (извлечения образцов)

(2) Пробирки

Перед закрытием каждой центрифуги крышкой, проверьте что:

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

• Центрифуга сбалансирована по нагрузке с использованием всех необходимых материалов.

ВНИМАНИЕ! Центрифуга должна быть сбалансирована по нагрузке.

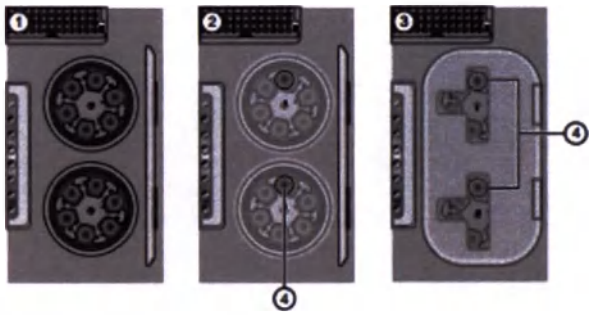
• Люльки надежно закреплены в роторах центрифуги.

• Люльки установлены в правильном положении в центрифуге, и центробежная сила при вращении направлена от центра.

8.4.5.3.2. Установите крышку на каждую центрифугу, отрегулировав положение крепления таким образом, что оно совпадало с углублением на платформе. Затем вставьте ее в нужное положение. Убедитесь в том, что крышки полностью вставлены, слегка нажимая на них вдоль всего периметра.

8.4.5.3.3. Закройте откидную крышку центрифуги для регенерации (извлечения образцов).

. Убедитесь в том, что порт крышки размещен в направлении задней части прибора.



(1) Установленные пробирки

(2) Установленные крышки для центрифуг

(3) Закрытая крышка центрифуги для регенерации (извлечения образцов)

(4) Порт

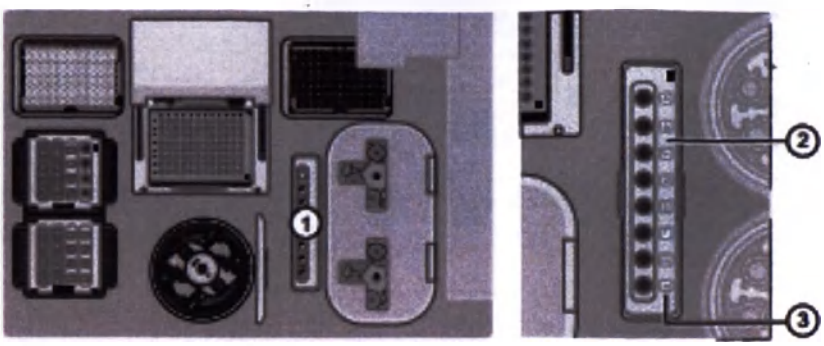
ВНИМАНИЕ! Не ставьте какие-либо предметы на крышку центрифуги.

ВНИМАНИЕ! Используйте только поставленные материалы, включая люльки и расходные материалы для того, чтобы обеспечить работу центрифуги при номинальной частоте вращения. Не снимайте или не заменяйте роторы. Чтобы обеспечить нормальную работу, проверяйте люльки перед каждым использованием.

8.4.5.3.4. Установите штатив с пробирками для модуля обогащения. Затем прижмите штатив для того, чтобы он был на одном уровне с платформой.

ВНИМАНИЕ! Убедитесь в том, штатив с пробирками для модуля обогащения расположен таким образом, что буквенные обозначения находятся с правой стороны штатива.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



(1) Станция для обогащения

(2) Штатив с пробирками для модуля обогащения

(3) Буквенные обозначения

8.4.5.4. Загрузка центрифуги для загрузки чипов

8.4.5.4.1. Установите чип для секвенирования в люльку центрифуги. Затем прикрепите адаптер для чипа к устройству.

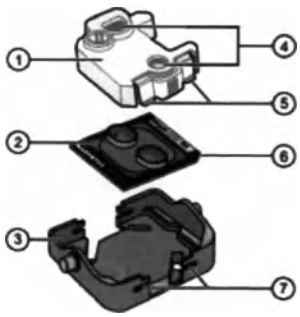
Примечание: (опционально) Пометьте верхнюю сторону чипов для того, чтобы иметь возможность их идентифицировать. Не закрывайте баркод чипа.

а. Разместите чип в люльке для загрузки чипов. Затем выровняйте лунки адаптера для чипа по отношению к лункам чипа, расположив адаптер на чипе в таком положении, чтобы был виден баркод.

б. Разместите адаптер на чипе. Затем вставьте встроенные крепежи на конце адаптера в разъемы люльки.

в. Аккуратно прижимайте гибкие крепежи на другом конце адаптера к разъемам люльки до тех пор, пока адаптер не зафиксируется в определенном положении.

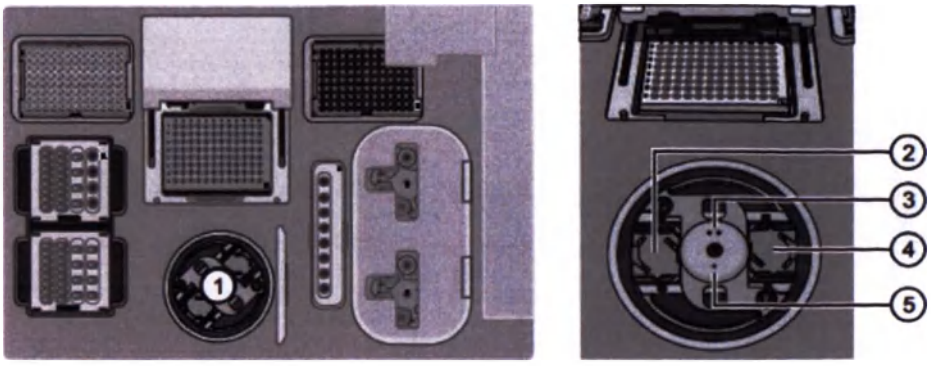
г. Убедитесь в том, что крепежи на всех четырех углах адаптера вставлены в разъемы люльки центрифуги. Установка будет считаться неверной, если адаптер прикреплен непрочно.



1. Адаптер для чипа
2. Чип
3. Люлька
4. Порты (выровнены по отношению к чипу)
5. Крепежи
6. Закрепленный угол (выровнен по отношению к люльке)
7. Разъемы

8.4.5.4.2. Установите конструкцию адаптер /чип/люлька в позицию 1 на центрифуге для загрузки чипов.

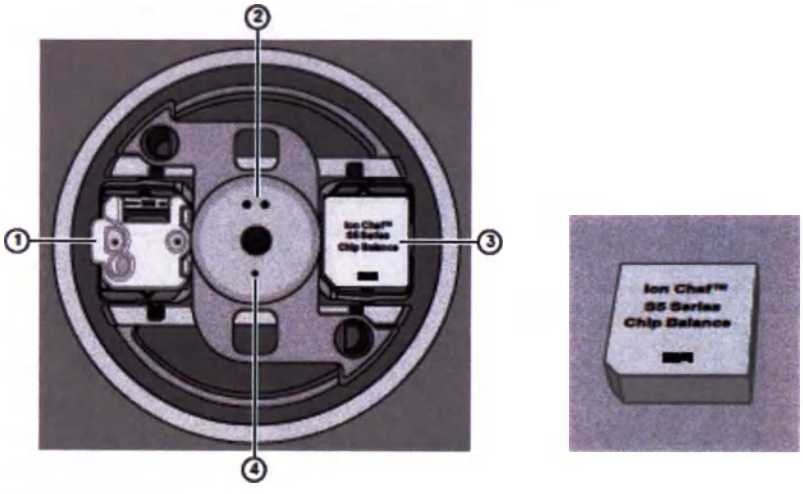
ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



(1) Центрифуга для загрузки чипов
(2) Позиция 1
(3) Позиция 2 отверстия
(4) Позиция 2
(5) Позиция 1 отверстие

Примечание: Позиция 1 на центрифуге для загрузки чипов – это позиция, расположенная при вращении на 90° по часовой стрелке относительно единственного отверстия на крышке люльки ротора в покое. В чип, установленный в позиции 1, загружаются частицы, подготовленные из библиотек ДНК в пробирке для образцов библиотек, размещенной в позиции А на картридже с реагентами.

8.4.5.4.3. Установите противовес для чипа в позицию 3 на центрифуге для загрузки чипов.



(1) Позиция 1 (Чип)
(2) Позиция 2 отверстия
(3) Позиция 2 (Противовес для чипов)
(4) Позиция 1 отверстие

ВНИМАНИЕ! Если центрифуга для загрузки чипов установлена, убедитесь в том, что адаптер для чипа прочно прикреплен к люльке, и каждая люлька прочно закреплен на роторах центрифуги.

8.4.5.4.4. Убедитесь в том, что центрифуга сбалансирована по нагрузке, люльки для чипа прочно закреплены и расположены на центрифуге таким образом, что при

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

соприкосновении они поворачиваются наружу на 90°. Затем закройте крышку центрифуги для загрузки чипа.

ВНИМАНИЕ! Не ставьте какие-либо предметы на крышку.

8.4.5.5. Проверка правильности установки материалов

Прежде чем продолжить работу:

•Убедитесь в том, что каждый картридж находится в правильном месте и имеет верное расположение.

• Нажмите на каждый картридж для проверки надёжности их установки.

• Убедитесь в том, что с пробирок в картридже с реагентами (ПГТ), включая пробирки NaOH в позиции С, сняты колпачки, а сами пробирки надежно закреплены.

• Убедитесь в том, что крышки центрифуги правильно установлены; порт должен быть направлен в сторону задней части изделия.

• Убедитесь в том, что люльки для чипов и пробирок правильно установлены в кронштейнах роторов центрифуг для загрузки чипов и центрифуг для регенерации (извлечения образцов), а также в том, что расходные материалы правильно расположены.

⚠	**ВНИМАНИЕ!** Для того, чтобы обеспечить правильное и безопасное положение необходимо убедиться в том, что все материалы правильно установлены на платформе перед началом рабочего цикла. Станция пробоподготовки не проверяет все нюансы установки материалов перед началом каждого рабочего цикла.

Перечень проверок станции пробоподготовки перед началом работы

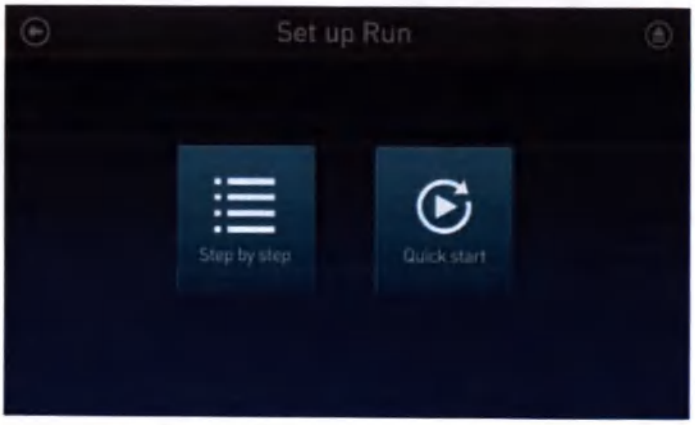
8.4.5.6. Запуск станции пробоподготовки

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.4.5.6.1. Убедитесь в том, что вы загрузили станцию пробоподготовки всеми картриджами, материалами и чипами.

8.4.5.6.2. В главном окне станции нажмите кнопку **«Set up run» (Настройка запуска)**.

8.4.5.6.3. Нажмите кнопку **«Step by Step» (Поэтапно)** для того, чтобы поэтапно настроить станцию или нажмите кнопку **«Quick Start» (Быстрый запуск)** для того, чтобы пропустить окна настройки станции.

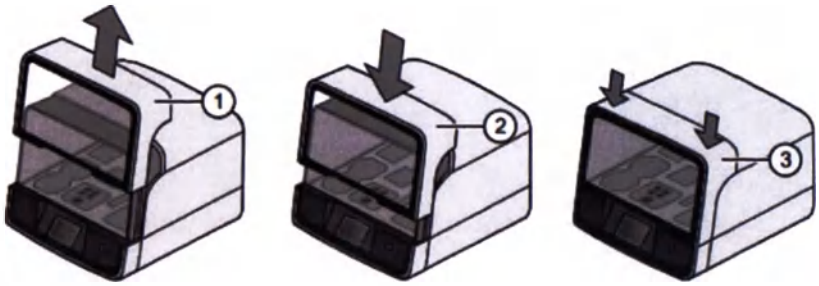


Примечание: Если вы выбрали опцию поэтапной настройки (**Step by Step**), нажмите кнопку **«Template» (Матрица)** в следующем окне для того, чтобы начать обработку матрицы на станции пробоподготовки.

8.4.5.6.4. Следуйте инструкциям на экране. В случае появления соответствующего сообщения, закройте дверцу прибора, сначала подняв ее для разблокировки. Затем опускайте дверцу, пока замок не заблокируется. После закрытия дверцу, активируется система изображения.

ВНИМАНИЕ! Не закрывайте дверцу, просто опустив ее вниз. Вы должны слегка поднять дверцу, прежде чем закрыть ее. Убедитесь в том, что обе стороны дверцы заблокированы после закрытия.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



(1) Сначала поднимите дверцу
(2) Опустите дверцу
(3) Прижмите, чтобы заблокировать

8.4.5.6.5. При появлении соответствующего сообщения, нажмите кнопку **«Start check» (Начать проверку)** для того, чтобы начать сканирование платформы. Прибор сканирует штрих-коды всех расходных материалов и реагентов с целью проверки их наличия и совместимости.

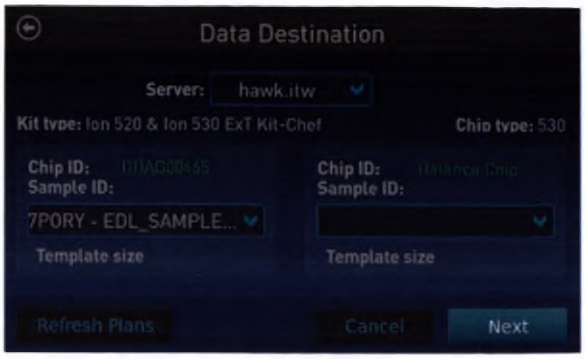
Примечание: Во время сканирования платформы на сенсорном экране появится предупреждение, если станция пробоподготовки определяет отсутствующие или несовместимые расходные материалы. Вы должны устранить все проблемы, указанные в предупреждениях, перед началом работы. После устранения всех проблем, нажмите кнопку **«Yes» (Да)** чтобы продолжить.

ВНИМАНИЕ! Функция сканирования платформы не заменяет ручную проверку реагентов и материалов в станции пробоподготовки перед началом работы. Для того, чтобы обеспечить надлежащую и безопасную работу станции, убедитесь в том, что все материалы установлены правильно, прежде чем продолжить работу.

8.4.5.6.6. По завершении сканирования платформы нажмите кнопку **«Next» (Далее)** для того, чтобы вывести на экран окно **«Data Destination» (Данные для передачи).**

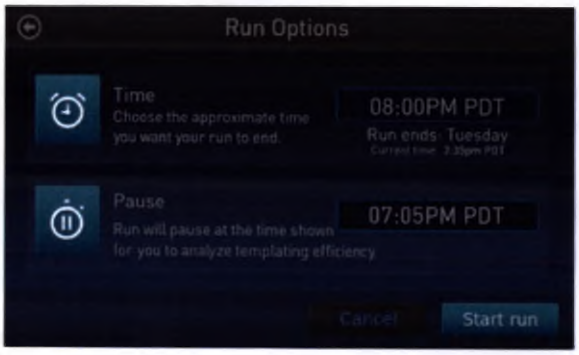
8.4.5.6.7. Убедитесь в том, что прибор отображает верный тип набора, тип чипа, штрих-код чипа, и запланированный запуск. Если на экране не отображается правильный Запланированный запуск, откройте ниспадающее меню ▼, чтобы выбрать необходимый Запланированный запуск. Затем нажмите кнопку **«Next» (Далее).**

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



ВНИМАНИЕ! Если неверно указан тип чипа и набора, подтвердите, что вы используете верный набор и чип. Если вы используете правильный набор или чип, и на экране отображается неверный тип чипа или набора, свяжитесь с Отделом технической поддержки.

8.4.5.6.8. В окне **«Run Options» (Варианты работы)** выберите необходимую опцию. Затем, если необходимо, введите время окончания рабочего цикла после нажатия на правом поле, в котором отображается время рабочего цикла. При этом на экране появится диалоговое окно для ввода времени окончания рабочего цикла.



Станция пробоподготовки предоставляет два варианта получения образцов контроля качества, которые могут использоваться для оценки эффективности подготовки матрицы. В зависимости от выбранной опции образец контроля качества будет доступен во время или после рабочего цикла. В обоих случаях вы можете получить необогащенный образец из пробирки для образцов библиотек, расположенной в позиции А на картридже с реагентами или обогащенный образец в позиции Е на штативе с пробирками для станции обогащения.

Таблица 28

Выбрав	Вы можете получить образцы контроля качества	Приблизительное время после начала цикла
Время	Сразу после завершения рабочего цикла в указанное вами время:	4 часа 50 минут
Пауза	Когда прибор прекращает работу перед загрузкой чипа:	4 часа 15 минут [1]

[1] Для загрузки чипа необходим 1 дополнительный час. Общее время работы увеличивается, так как необходим дополнительный этап конфигурации, если выбрана опция «Пауза»

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Примечание: Выберите опцию **«Pause» (Пауза)**, если вы не уверены в качестве библиотеки и желаете оценить эффективность подготовки матрицы перед загрузкой чипа. Если вы не приостанавливаете рабочий цикл, вы можете собрать образцы контроля качества по завершении данного цикла. Храните образцы до тех пор, пока не завершится секвенирование с целью их использования для поиска и устранения неисправностей.

8.4.5.6.9. В окне **«Run Options» (Опции запуска)** нажмите кнопку **«Start run» (Старт запуска)** для того, чтобы начать запуск.

Примечание: Если вы должны остановить рабочий цикл по какой-либо причине, нажмите кнопку **«Cancel» (Отмена)**, а затем кнопку **«Yes» (Да)** для того, чтобы подтвердить отмену.

Если во время работы станции пробоподготовки возникают проблемы, работа прекращается и на экране появляется ошибка. Если запуск прерван:

1. Уберите расходные материалы с платформы, очистите прибор. Если возможно, сохраните расходные материалы с целью их использования при поиске и устранении неисправностей.

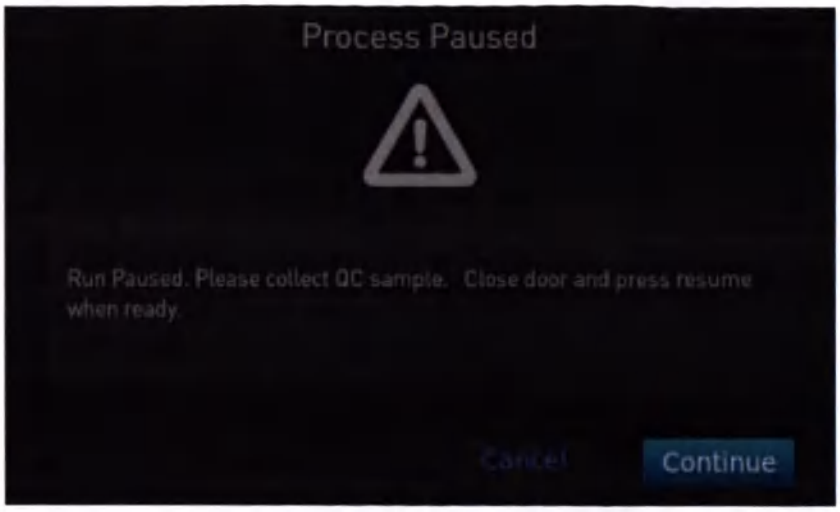
2. Перезапустите станцию и повторно начните запуск. Если при этом запуск не завершится успешно, свяжитесь с Отделом технической поддержки с целью поиска и устранения неисправности, зафиксируйте сообщение об ошибке, сфотографировав сенсорный экран.

8.4.5.6.10. Инициализируйте секвенатор, по меньшей мере, за 50 минут до завершения загрузки чипа в станцию пробоподготовки.

8.4.5.6.11. Если вы приостанавливаете запуск для анализа эффективности подготовки матрицы, уберите тестируемый образец, если появляется соответствующее требование на станции пробоподготовки (приблизительно 4 часа 15 минут).

а. Если появляется соответствующее сообщение, требующее удалить образец контроля качества, откройте дверцу прибора.

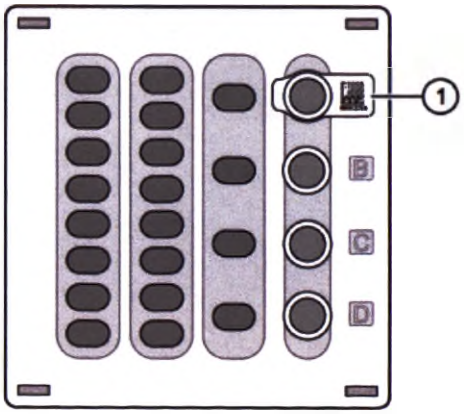
ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



б. Перенесите образец контроля качества (весь объем) с позиции А картриджа с реагентами на платформе прибора в новую промаркированную микроцентрифужную пробирку.

ВНИМАНИЕ! Не снимайте пробирку для образца библиотеки с картриджа с реагентами.

ВНИМАНИЕ! Если вы ненамеренно закрыли дверцу перед получением образцов контроля качества, следует подождать завершения рабочего цикла, прежде чем вы сможете собрать их. Вы не можете приостанавливать запуск или открывать дверцу после того, как она закрывается.



(1) Позиция А (образец контроля качества)

в. Если вы проводите оценку качества обогащенного образца, перенесите образец контроля качества с позиции Е штатива с пробирками для модуля обогащения в новую промаркированную микроцентрифужную пробирку.

г. Проанализировать образец контроля качества можно с использованием методом цитометрии в соответствии с инструкцией по применению прибора.

е. Закройте дверцу прибора и нажмите кнопку **«Continue» (Продолжить)** для того, чтобы завершить запуск.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.4.5.6.12. После завершения запуска, выгрузите станцию пробоподготовки и сразу проведите процедуру секвенирования чипов. Вы можете собрать образцы контроля качества из картриджей с реагентами и/или картриджей для обогащения, если вы этого еще не сделали.

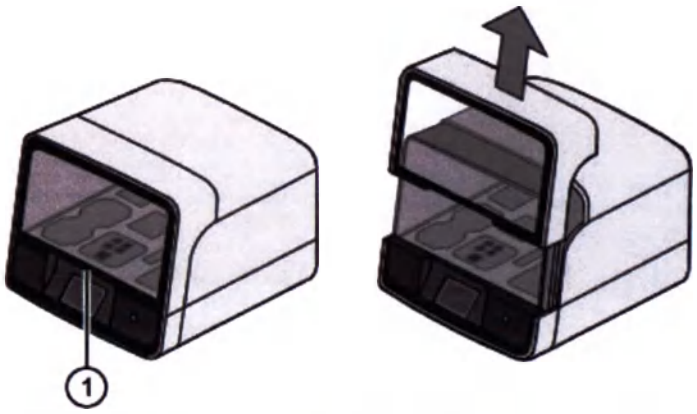
Примечание: вы не можете сразу проводить процедуру секвенирования загруженного чипа. Поместите чип в отдельный контейнер и храните его при температуре 4°C до тех пор, пока вы не будете готовы секвенировать его (максимум до 6-8 часов).

8.4.5.7. Выгрузка чипа для секвенирования

8.4.5.7.1. Откройте дверцу станции:

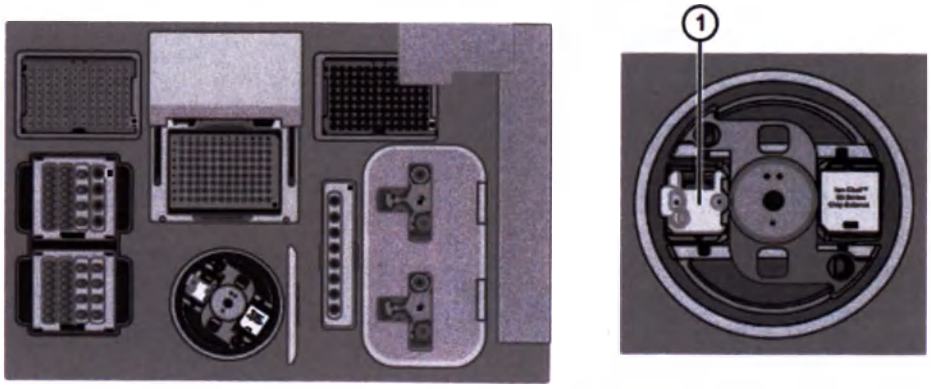
а. На сенсорном экране станции, нажмите ⏏ (Откройте дверцу). Затем подождите, пока защелка не откроется.

б. Поднимайте дверцу станции вверх до тех пор, пока на сработает механизм блокировки.



(1) Нажмите здесь, затем поднимите.

8.4.5.7.2. Откройте крышку центрифуги для загрузки чипа. Затем снимите конструкцию адаптер/чип/люлька со станции пробоподготовки.



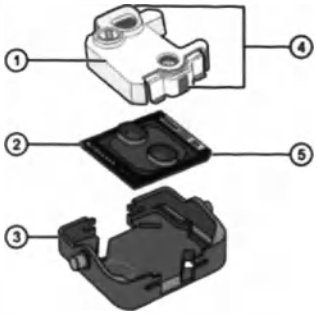
(1) Снимите блок адаптер/чип/люлька

а. Снимите блок адаптер/чип/люлька с центрифуги для загрузки образцов.

б. Прижмите оба конца адаптера для чипа. Затем снимите его.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

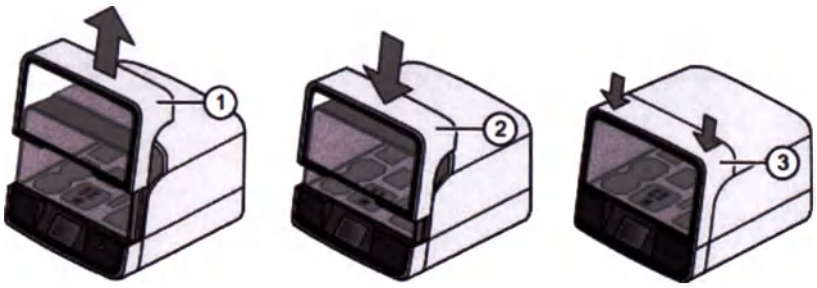
в. Возьмите чип за края, аккуратно выньте его из люльки и положите на чистую поверхность. Затем установите люльку обратно в центрифугу для загрузки чипа.



(1) Адаптер для чипа
(2) Чип
(3) Люлька
(4) Прижмите и снимите адаптер
(5) Аккуратно снимите

8.4.5.7.3. Закройте дверцу станции, сначала слегка подняв ее для разблокировки. Затем опустите дверцу и прижимайте ее до тех пор, пока замок не заблокируется.

ВНИМАНИЕ! Не закрывайте дверцу, просто опустив ее вниз. Вы должны слегка поднять дверцу, прежде чем закрыть ее. Убедитесь в том, что обе стороны дверцы заблокированы после закрытия.



(1) Сначала поднимите дверцу
(2) Опустите дверцу
(3) Прижмите для того, чтобы закрыть

8.4.5.7.4. Загрузите чип в секвенатор и сразу начните процедуру секвенирования.

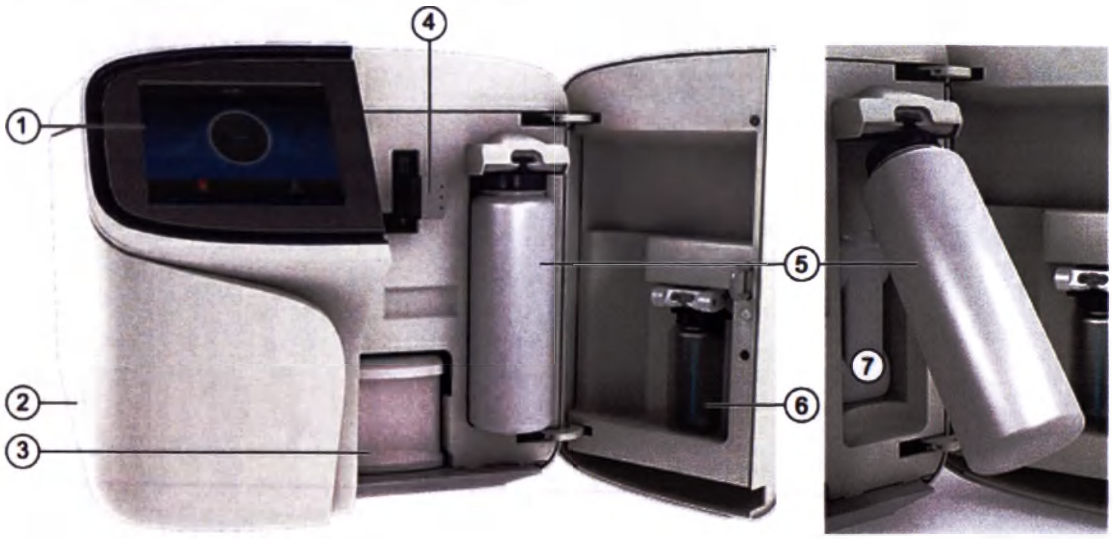
Если вы не можете сразу начать процедуру секвенирования или планируете секвенировать одновременно два чипа, поместите чип в отдельный контейнер и храните при температуре 4°C, пока вы не будете готовы секвенировать его (максимум до 6-8 часов).

ВНИМАНИЕ! Если вы хранили загруженные чипы, достаньте чип из контейнера и поместите его на чистую поверхность в темное помещение для того, чтобы нагреть его до комнатной температуры в течение, минимум, 20 минут перед началом запуска.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.5. Инициализация секвенатора

8.5.1. Положения компонентов секвенатора



(1) Сенсорный экран
(2) Кнопка включения
(3) Картридж с реагентами для секвенирования
(4) Зажим для чипа
(5) Бутыль с промывочным раствором. Емкость для отходов, расположенная за бутылью с промывочным раствором (показано справа)
(6) Бутыль с раствором для очистки
(7) Емкость для отходов

Примечание: в системе используется технология радиочастотной идентификации (РЧИД) для проверки размещения необходимых реагентов в позициях 3, 5 и 6. Если срок годности реагентов истек или счетчик использования выводит ошибку, на экране появится сообщение об ошибке с требованием заменить реагент перед началом запуска.

8.5.2. Действия перед началом работы

Секвенаторы **«F-Genetics Плюс»** и **«F-Genetics»** могут проверять совместимость каждого чипа и расходного материала, которые загружаются во время инициализации и секвенирования, а также срок годности данных компонентов. Для того чтобы предотвратить исключения во время инициализации, проверьте информацию о каждом расходном материале перед загрузкой в прибор.

• Распакуйте картридж с реагентами для секвенирования за 45 минут перед использованием. Подождите, пока картридж нагреется до комнатной температуры.

Не доставайте картридж с реагентами для секвенирования из упаковки, если вы не собираетесь его использовать, чтобы можно было вернуть неиспользуемый картридж в место для хранения в случае отсрочки цикла секвенирования.

• Распакуйте раствор для очистки. Переверните сосуд 5 раз. Затем покрутите сосуд под углом для того, чтобы тщательно смешать содержимое.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

• Снимите красные колпачки с бутылей с промывочным раствором и раствором для очистки непосредственно перед установкой на прибор.

Когда необходима ручная очистка секвенатора.

Секвенаторы «**F-Genetics Плюс**» и «**F-Genetics**» нуждаются в очистке перед инициализацией. Данная очистка обычно осуществляется автоматически после завершения предыдущей процедуры секвенирования. Если проводятся две процедуры секвенирования, следует проводить очистку после второй процедуры секвенирования. Однако, если напротив поля **«Enable post-run clean» (Очистка после секвенирования)** снята галочка для того, чтобы провести второй цикл секвенирования, но при этом второй цикл не проводится, инициализация прибора не будет осуществляться до тех пор, пока не будет проведена ручная очистка. См. Дополнение Б. 2. Ручная очистка секвенатора «Ручная очистка секвенатора» на странице 111, чтобы получить дополнительную информацию о ручной очистке.

Если секвенаторы «**F-Genetics Плюс**» или «**F-Genetics**» выполнили инициализацию, и цикл секвенирования не проводится в течение 24 часов, или если цикл секвенирования не запускается в результате сбоя питания, не осуществляйте ручную очистку. Перед повторной инициализацией необходимо перезапустить прибор. См. «Дополнение Б. 3. Перезапуск прибора с инициализированным и неиспользованным картриджем с реагентами для секвенирования, для того, чтобы получить дополнительную информацию.

8.5.3. Инициализация секвенатора

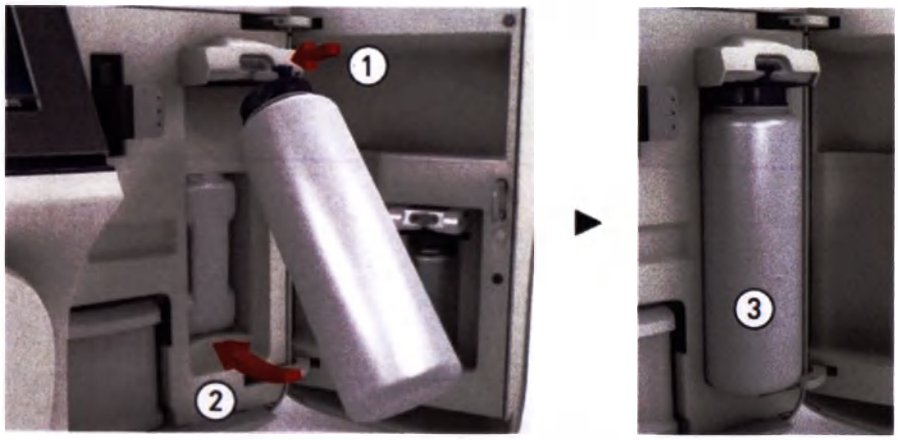
8.5.3.1. В главном меню на сенсорном экране секвенатора нажмите кнопку **«Initialize» (Инициализировать).** При этом открываются зажимы для дверцы, чипа и картриджа с реагентами.

8.5.3.2. В случае появления соответствующего сообщения, снимите бутыль с промывочным раствором для того, чтобы получить доступ к емкости для отходов. Затем опустошите емкость для отходов.

8.5.3.3. Повторно установите пустую емкость для отходов.

8.5.3.4. Замените картридж с реагентами для секвенирования на новый картридж, который нагрет до комнатной температуры.

8.5.3.5. Убедитесь в том, что новая бутыль с промывочным раствором тщательно взболтана. Затем снимите колпачок и установите бутыль.



8.5.3.6. Убедитесь в том, что чип для секвенирования, использованный в предыдущем рабочем цикле, надлежащим образом закреплен в зажиме и вставлен до упора.

8.5.3.7. Если необходимо, установите новую бутыль с раствором для очистки.

Примечание: Бутыль с раствором для очистки содержит объем реагентов, достаточный для проведения 4 процедур очистки.

8.5.3.8. Закройте дверцу и нажмите кнопку **«Next» (Далее).**

Прибор подтверждает, что расходные материалы и чип надлежащим образом установлены, и раствор для очистки содержит достаточный объем реагентов для проведения очистки после процедуры секвенирования. Следуйте всем рекомендациям на экране для того, чтобы обеспечить надлежащую установку необходимых материалов.

ВНИМАНИЕ! После осуществления достаточного количества циклов очистки, на экране прибора может появиться сообщение, предупреждающее пользователя о необходимости заменить бутыль с раствором для очистки.

Примечание: См. Дополнение А. Поиск и устранение неисправностей. Результаты Ion Reporter, если на экране появляется сообщение «Проверка реагента: ошибка».

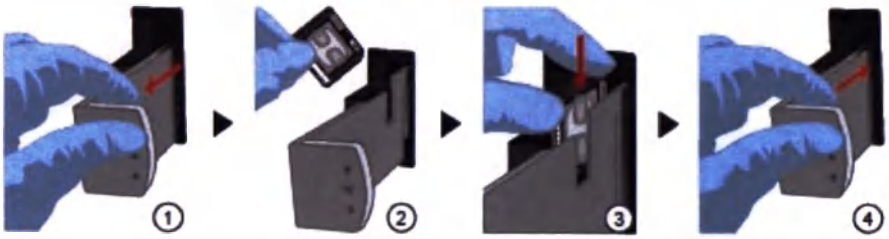
8.5.3.9. После завершения инициализации (приблизительно 50 минут), нажмите кнопку **«Home» (Главный экран).**

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Теперь прибор готов для секвенирования.

8.5.4. Начало процедуры секвенирования

Для того чтобы поместить чип в зажим необходимо:



(1) Выдвинуть зажим для чипа

(2) Вынуть чип, расположенный в зажиме во время инициализации

(3) Поместить чип, загруженный в станции пробоподготовки, а зажим скошенным углом в нижний передний угол зажима

Примечание: Не применяйте силу, когда вставляете чип. Если чип не вставляется легко, убедитесь, что угол чипа ориентирован как показано на рисунке.

(4) Задвинуть зажим до конца, затем закрыть дверцу прибора.

Мы рекомендуем секвенировать загруженные чипы с помощью секвенатора «**F-Genetics Плюс**» и «**F-Genetics**» сразу после завершения инициализации прибора. Однако, успешное секвенирование может осуществляться в течение 24 часов после инициализации прибора.

Примечание:

• Не нажимайте кнопку питания во время работы. Сбой питания прибора во время запуска может привести к прекращению секвенирования или потере образца.

• Мы рекомендуем проверить статус Запланированного запуска перед установкой загруженного чипа. Если Запланированного запуска не присваивается статус «Запланированный» в браузере «Torrent» после успешного завершения рабочего цикла станции пробоподготовки, см. раздел «Запланированному запуску не присваивается статус «Запланированный» на странице 108.

8.5.4.1. После завершения инициализации, нажмите кнопку **«Run» (Запуск)** на сенсорном экране прибора. Дверца и зажим для чипа открываются.

8.5.4.2. Достаньте использованный чип для секвенирования. Затем закрепите чип, загруженный станции пробоподготовки перед данным секвенированием, в зажим.

8.5.4.3. Задвиньте зажим, закройте дверцу и нажмите кнопку **«Next» (Далее).**

Примечание: Не вынимайте чип из зажима до тех пор, пока не закончится запуск. Удаление и повторная установка чипа может привести к образованию воздушных пузырьков в чипе.

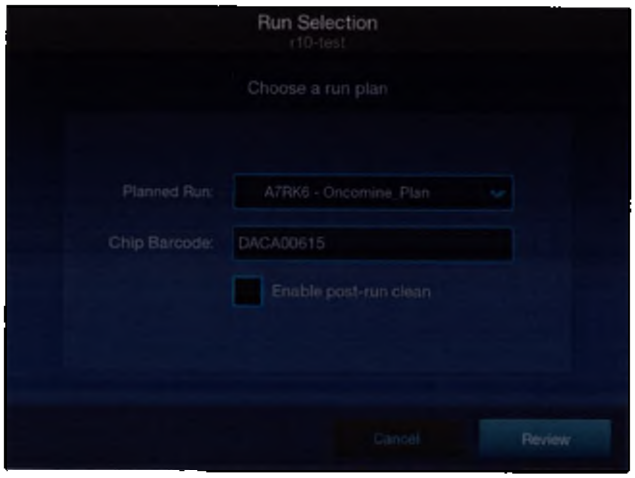
8.5.3.4. Убедитесь в том, что параметры Запланированного запуска заданы автоматически. При проведении первой процедуры секвенирования во время

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

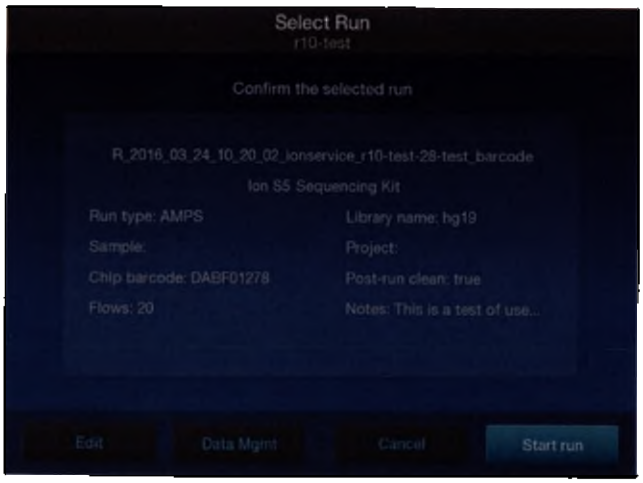
инициализации снимите галочку в поле **«Enable post-run clean» (Провести очистку после запуска)**, затем нажмите **Review (Просмотр)**.

ВНИМАНИЕ!

- Если галочка не снята в вышеуказанном поле, процедура очистки осуществляется автоматически после первого рабочего цикла. При этом второй цикл не проводится.
- Во время начала второго цикла секвенирования в рамках одной инициализации убедитесь в том, что напротив поля **«Enable post-run clean» (Провести очистку после запуска)** установлена галочка для того, чтобы система осуществляла очистку автоматически после секвенирования.



8.5.4.5. Убедитесь в том, что оставшиеся предварительно заданные настройки являются верными и, если необходимо, внесите изменения, используя кнопки и ниспадающие меню.



8.5.4.6. Убедитесь в том, что дверца прибора закрыта. Затем нажмите кнопку **«Start run» (Старт запуска)** для того, чтобы начать цикл секвенирования.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ВНИМАНИЕ! Во время рабочего цикла не открывайте дверцу и не прикасайтесь к ее поверхности. Прикосновение к прибору во время секвенирования может отрицательно сказаться на качестве измерения.

После завершения секвенирования прибор автоматически проводит процедуру очистки, если в поле **«Enable post-run clean» (Провести очистку после рабочего цикла)** стоит галочка. После очистки на сенсорном экране появляется главное меню.

В случае проведения секвенирования второго чипа в рамках одной инициализации начните второй цикл в течение 24 часов с момента начала инициализации.

8.5.5. Обслуживание секвенатора

Необходимые материалы	• Безворсовая ткань • 70% изопропанол • (Дополнительно) 10% раствор гипохлорита натрия
Очистка или дезинфекция секвенатора	В случае утечки или пролива жидкости внутрь прибора, выполните следующие действия. **Примечание:** Все отходы должны утилизироваться в соответствующем контейнере для жидких или твердых отходов. 1. Снимите бутыль с раствором для очистки, затем снимите и опустошите емкость для отходов. 2. Снимите картридж с реагентами для секвенирования. 3. Проверьте емкости для отходов и реагентов на предмет наличия жидкости. 4. Используя абсорбирующую бумагу, соберите столько жидкости, сколько возможно. Затем промойте загрязненную зону 10% раствором гипохлорита натрия. 5. Промойте загрязнённые зоны 70% раствором изопропанола. Затем подождите, пока она не высохнет.

8.6. Очистка станции пробоподготовки

8.6.1. Информация о протоколе очистке

Станция пробоподготовки имеет функцию автоматической очистки, которая должна выполняться после каждого рабочего цикла. Процедура очистки запускается с сенсорного экрана станции пробоподготовки и сводит к минимуму риск загрязнения. Во время очистки станция облучает платформу ультрафиолетовым светом в течение 1 минуты после удаления всех расходных материалов из прибора.

ВНИМАНИЕ! Несмотря на то, что процедура очистки станции пробоподготовки обеспечивает защиту от загрязнения, она не является надлежащей лабораторной

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

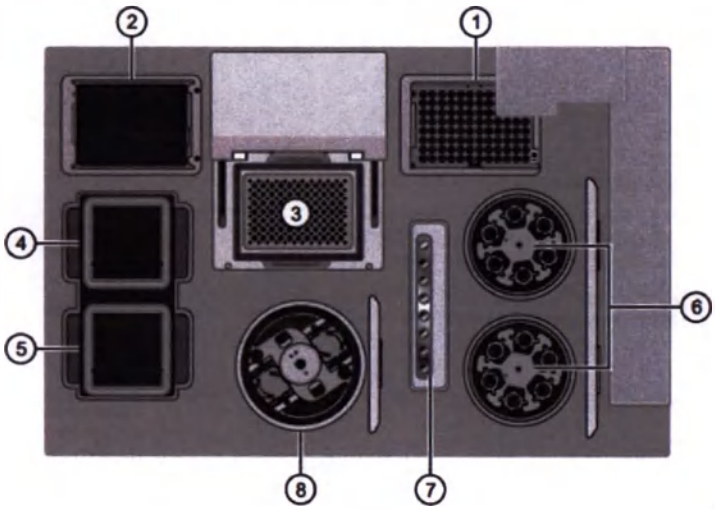
практикой или достаточной мерой предосторожности. Во время подготовки библиотек ДНК к использованию или во время подготовки станции пробоподготовки, соблюдайте все методы стерильной работы в лабораторных условиях с целью обеспечения минимального загрязнения.

8.6.2. Необходимые материалы

- Неопудренные нитриловые перчатки
- 70% изопропиловый спирт
- Безворсовые салфетки

8.6.3. Очистка станции пробоподготовки

ВАЖНО! Очищайте станцию пробоподготовки как описано на страницах ниже после каждого рабочего цикла. Для того, чтобы предотвратить загрязнение, не используйте изделие без предварительной очистки.



Станция пробоподготовки:

(1) Положение использованного наконечника
(2) Пустой картридж: перемещение в станцию с использованными наконечниками
(3) Блок образцов термоциклера
(4) Станция для реагентов
(5) Станция для растворов
(6) Центрифуги для регенерации (извлечения образцов)
(7) Станция для обогащения
(8) Центрифуга для загрузки чипов

8.6.4. Удаление и утилизация использованных расходных материалов

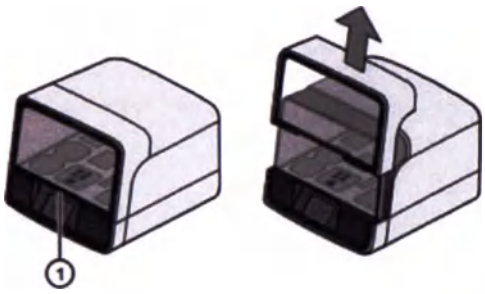
ВАЖНО!

- Не выбрасывайте пустой картридж с наконечниками.
- Перенесите образцы контроля качества, прежде чем снять и выбросить картридж с реагентами.

8.6.4.1. Нажмите кнопку ⏏ (открыть дверцу) на сенсорном экране прибора. Подождите пока защелка не откроется.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.6.4.2. Поднимите дверцу прибора вверх до тех пор, пока не сработает механизм блокировки.

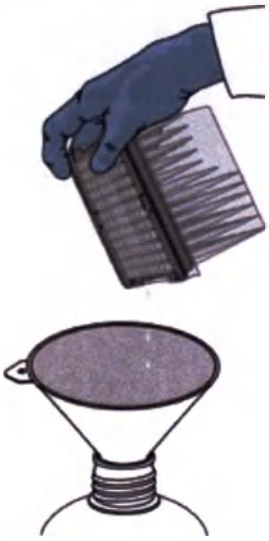


(1) Нажмите здесь, затем поднимите.

8.6.4.3. Снимите планшет 96-луночный с блока для образцов термоциклера.

8.6.4.4. Снимите блок с использованными наконечниками с позиции для пустых наконечников.

ВАЖНО! Аккуратно обращайтесь с одноразовой емкостью, расположенной в позиции для пустых наконечников. Во время рабочего цикла в резервуаре собираются жидкие отходы. Удалите жидкие отходы, слегка наклонив ёмкость и выливая отходы в соответствующий резервуар для сбора отходов:



ВАЖНО! Не используйте штатив с использованными наконечниками повторно. Всегда перемещайте пустой картридж с наконечниками с позиции для новых наконечников в позицию для пустых наконечников.

8.6.4.5. Переместите картридж с пустыми наконечниками в позицию для пустых наконечников.

8.6.4.6. Снимите и удалите

- Картридж с реагентами
- Картридж с растворами
- Штатив с пробирками для модуля обогащения

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.6.4.7. Снимите, а затем удалите материалы с центрифуг для регенерации (извлечения образцов), включая:

- Крышки для центрифуг
- Пробирки

8.6.4.8. Снимите противовес для чипов с центрифуги для загрузки чипов. Не удаляйте его.

8.6.4.9. Закройте крышку центрифуги для загрузки чипов.

8.6.5. Проверка и очистка центрифуг для регенерации (извлечения образцов) и люлек

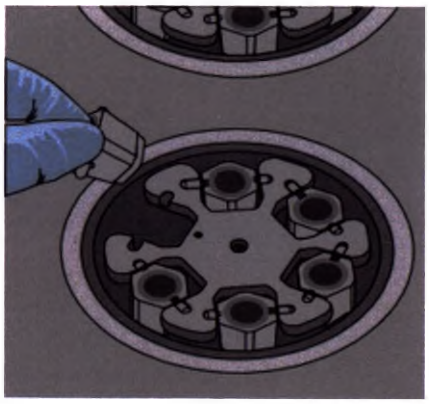
8.6.5.1. Проверьте центрифуги для регенерации (извлечения образцов). Затем очистите компоненты в случае наличия избыточного количества жидкости.

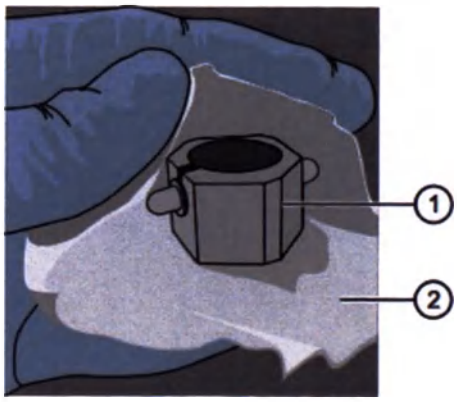
Таблица 24

Присутствует ли жидкость?	Действия
Нет	Перейдите к разделу 8.6.6. «Начало процедуры очистки»
Да	Очистите ротор и люльки нижеописанным способом. **ВАЖНО!** Очищайте центрифуги, только если в роторе и/или люльках заметно избыточное количество жидкости. Вы не должны очищать центрифугу после каждого рабочего цикла.

ВАЖНО! Надевайте неопудренные нитриловые перчатки во время очистки центрифуги для регенерации (извлечения образцов).

8.6.5.2. Выньте адаптеры из центрифуг для регенерации (извлечения образцов). Очистите внешние и внутренние поверхности каждого адаптера, используя безворсовую салфетку. Затем разместите адаптеры на чистой и сухой поверхности во время очистки самой центрифуги.

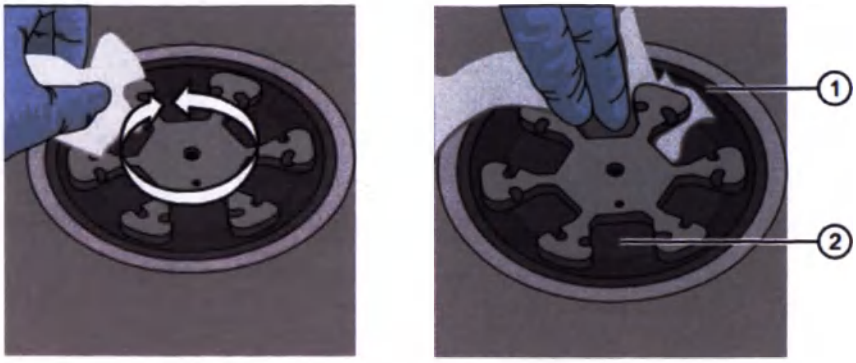




(1) Адаптер
(2) Безворсовая салфетка

8.6.5.3. Используйте безворсовую салфетку для того, чтобы собрать всю жидкость с внутренней части ротора центрифуги.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



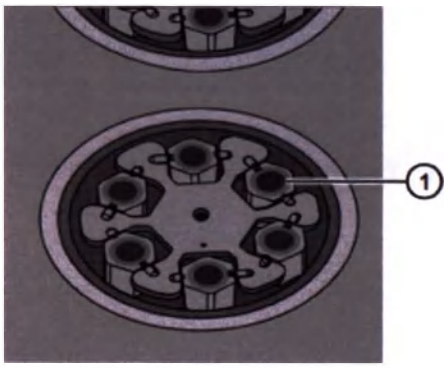
(1) Внутренний обод центрифуги
(2) Дно ротора центрифуги

8.6.5.4. Используйте безворсовые салфетки, смоченные в 70% изопропаноле, для того, чтобы очистить:

- Внутренний обод центрифуги
- Дно ротора центрифуги
- Внутреннюю и внешнюю поверхность роторов центрифуги.

8.6.5.5. Протрите центрифугу и адаптеры безворсовой салфеткой.

8.6.5.6. Установите адаптеры центрифуги. Затем закройте крышку центрифуги для регенерации (извлечения образцов).



(1) Адаптеры (очищенные и установленные)

8.6.6. Начало процедуры очистки

8.6.6.1. Закройте дверцу прибора, сначала слегка подняв ее для разблокировки, а затем опустите вниз до тех пор, пока замок не заблокируется.

ВНИМАНИЕ! Перед закрытием дверцы, убедитесь в том, что крышки центрифуги для регенерации (извлечения образцов) и центрифуги для загрузки чипов закрыты.

8.6.6.2. Для того, чтобы начать процедуру очистки, нажмите кнопку **«Next» (Далее)** на сенсором экране станции для пробоподготовки, который загорается после завершения рабочего цикла.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Примечание: Вы также можете очищать прибор в любое время, выбрав соответствующую опцию на главном экране. Нажмите **Settings ▸Clean Ion Chef (Настройки ▸ Очистка станции пробоподготовки).**

8.6.6.3. Убедитесь в том, что вы удалили все расходные материалы из станции для пробоподготовки, кроме пустого штатива для наконечников, который находится в позиции для пустых наконечников. Затем нажмите кнопку **«Next» (Далее).**

8.6.6.4. Если дверца закрыта, нажмите кнопку **«Start» (Старт)**. Прибор начнет процедуру сканирования платформы перед началом процедуры очистки. Станция для пробоподготовки прекращает вентилирование и облучает ультрафиолетовым светом (УФ) в течение 1 минуты.

ВНИМАНИЕ! Станция для пробоподготовки излучает ультрафиолетовый свет длиной в 254 нм. Необходимо надевать защитные очки, одежду и перчатки во время работы с прибором. Не смотрите на ультрафиолетовый свет во время процедуры очистки прибора.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

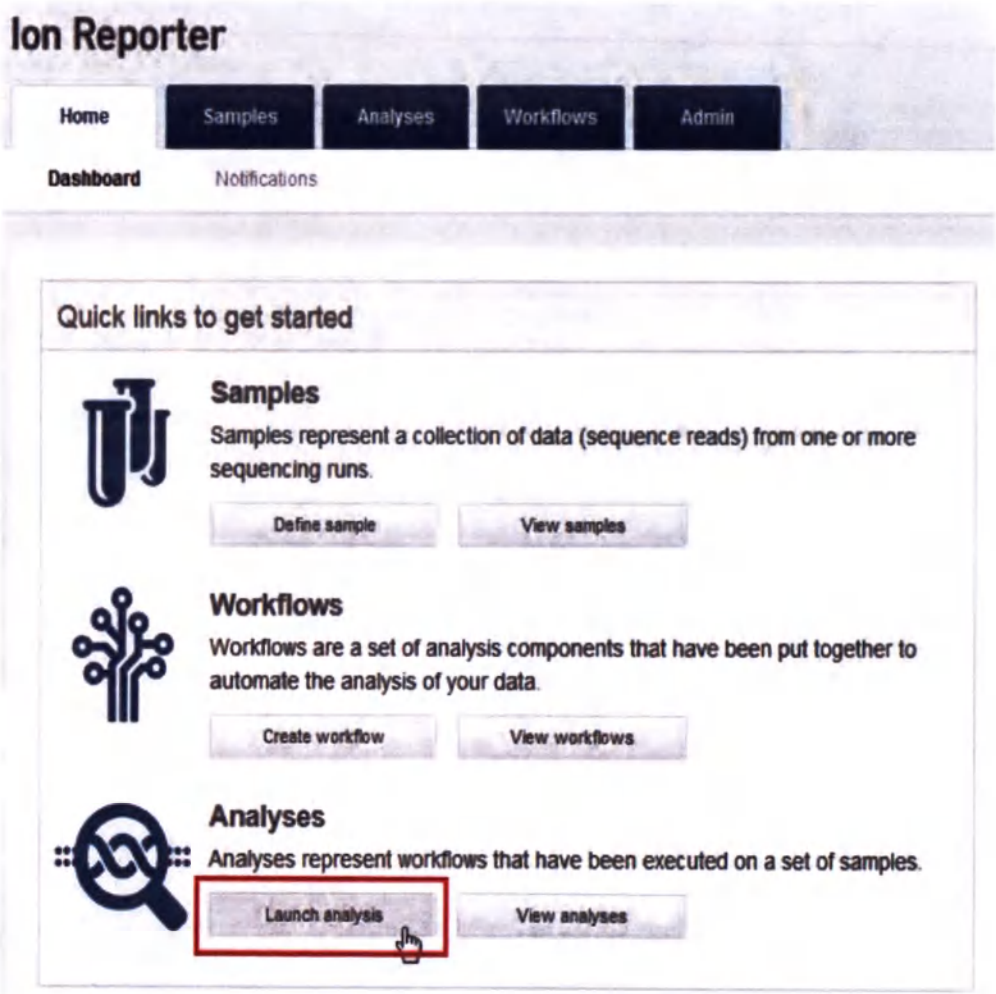
8.7. Анализ результатов секвенирования

8.7.1 Начало анализа с использованием программы «Ion Reporter»

Если вы проводите анализ образцов вручную, следуйте инструкциям ниже. Если вы планируете проводить автоматический анализ с помощью программы «Ion Reporter», перейдите к этапу в п. 8.7.1.6.

8.7.1.1. Импортируйте ваши образцы в программу «Ion Reporter», используя приложение для загрузок «Ion Reporter Uploader».

8.7.1.2. Во вкладке **«Home»** (Главный экран) программы нажмите кнопку **«Launch analysis»** (Начать анализ) после входа в приложение для загрузки «Ion Reporter Uploader».



8.7.1.3. На этапе **«Workflow» (Процесс)** для выбора варианта процесса выявления анеуплоидий выберите опцию **«Reproductive» (Репродуктивный)** в меню **«Application category» (Категория применения)**. Выберите один из четырех возможных процессов и нажмите кнопку **«Next» (Далее)**.

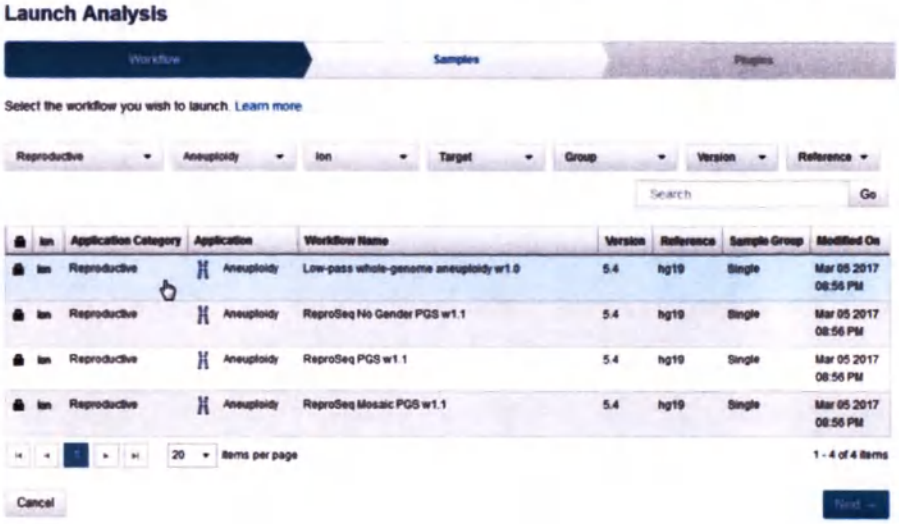
• Low-pass whole-genome aneuploidy w 1(Выявление анеуплоидии с помощью полного геномного анализа с низким покрытием w 1.0)

• ReproSeq No Gender PGS w 1.1 (ПГТ без определения пола w 1.1

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

• ReproSeq PGS w 1.1 (ПГТ w 1.1)

• ReproSeq Mosaic PGS w 1.1 (ПГТ для определения мозаицизма w 1.1)

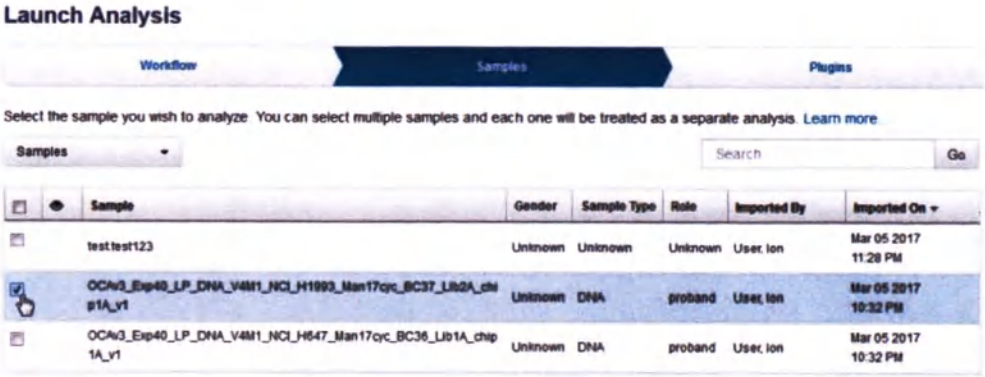


Примечание:

•Исходные данные полногеномного анализа с низким покрытием автоматически загружаются во вкладку «Workflow» (Процесс) для выявления анеуплоидии. Таким образом, нет необходимости в создании кастомизированных исходных данных для исследований с использованием наборов «РепроЛайн».

• Для того, чтобы изменить один из четырех предварительно загруженных процессов выявления анеуплоидии, см. «Копирование и редактирование рабочего процесса, п. 8.7.5.

8.7.1.4. На этапе «**Образец**» выберите образец (образцы) из списка, которые вы хотите проанализировать.



8.7.1.5. Дважды нажмите кнопку **«Next» (Далее)** на этапе «**Plugins**» **(Плагины)** для того, чтобы перейти к шагу **«Confirm & Launch» (Подтверждение и запуск).**

8.7.1.6. На этапе «**Подтверждение и запуск**», введите имя вашего исследования, если вы хотите изменить название, присвоенное по умолчанию. Затем нажмите кнопку **«Launch Analysis» (Запустить анализ).**

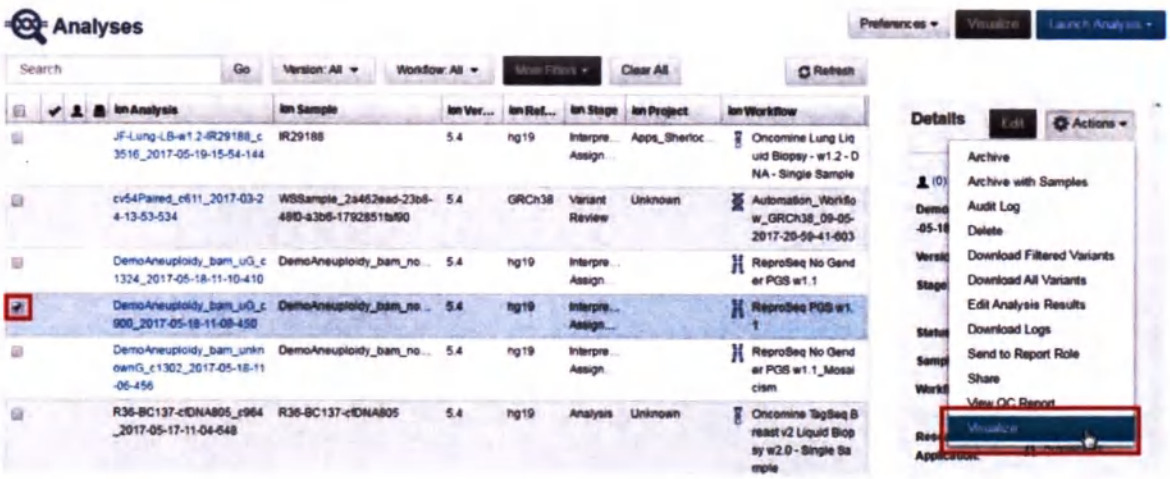
ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.7.1.7. Просмотрите результаты, выбирая их из перечня анализов после входа в **Analysis ▸Overview (Анализ ▸ Просмотр).**

8.7.2. Визуализация результатов с помощью программы «Ion Reporter Genomic Viewer (IRGV)»

Вы можете визуализировать результаты выявления анеуплоидии и создавать отчеты с помощью программы **«Ion Reporter Genomic Viewer».**

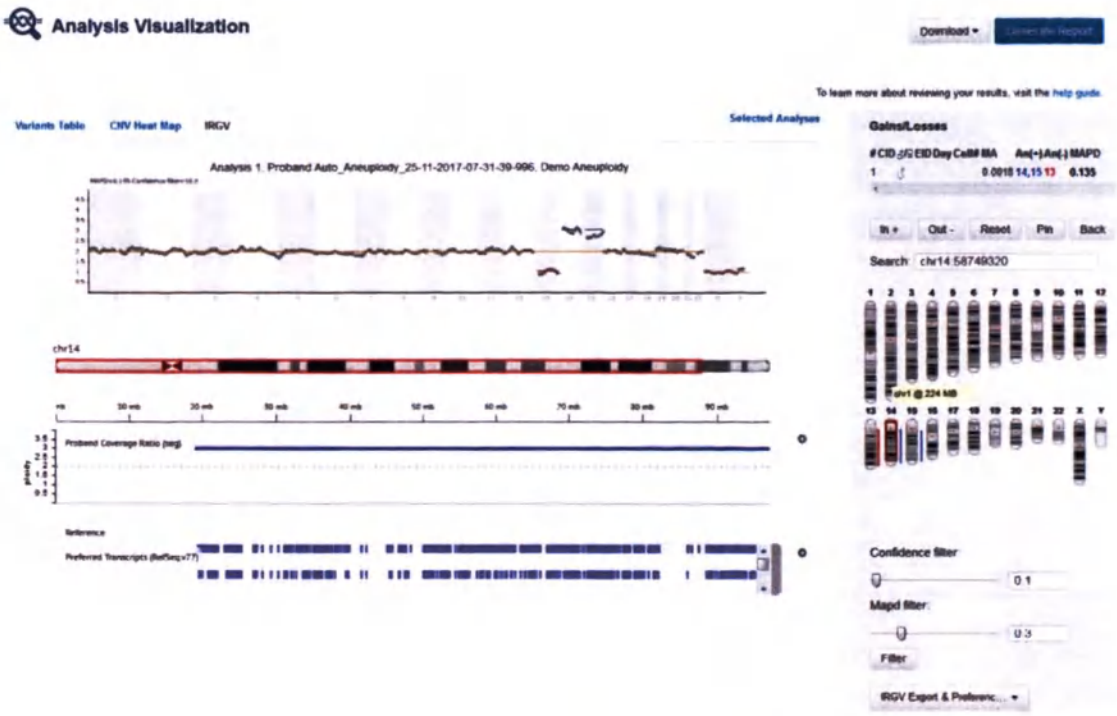
8.7.2.1. На главной странице программы **«Ion Reporter»** войдите в **Analysis ▸Overview** (Анализ ▸ Просмотр).



Примечание: Вы также можете нажать на кнопку **«Visualize» (Визуализировать)** (слева от кнопки **«Launch Analysis» (Запуск анализа))** после выбора одного или нескольких анализов.

8.7.2.2. Во вкладке **IRGV** откроется окно **«Analysis Visualization» (Визуализация результатов анализа).** При этом на экране появится гистограмма числа копий по каждому выбранному анализу вместе с картой плоидностей по выбранным хромосомам или участкам хромосом, а также кариотип, отображающий увеличение и уменьшение числа копий хромосом.

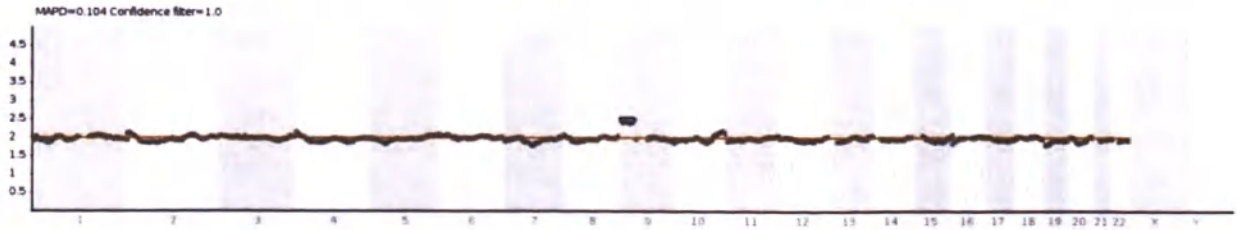
ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



Ось X графика соответствует номеру хромосомы, ось Y – плоидности.

Анализируются и интерпретируются отклонения от базовой линии на определенный уровень копийности по каждой хромосоме: 1 копия целой хромосомы интерпретируется как моносомия; 2 копии целой хромосомы (уровень базовой линии) интерпретируется как норма; 3 копии целой хромосомы интерпретируется как трисомия; уровень копийности в диапазоне между 1 и 2 или 2 и 3 интерпретируется как мозаицизм; 1 копия части хромосомы интерпретируется как делеция; 3 копии части хромосомы интерпретируется как дупликация.

Пример графика IRGV, отображающий нецелочисленную плоидность короткого плеча 9 хромосомы, указывающую на мозаицизм в образце.



Примечание:

• Если вы выбираете множество анализов, которые создаются на основе процессов с различными фильтрами доверительных значений, программа должна использовать наименьший показатель доверительного интервала и применять его ко всей анализируемой группе.

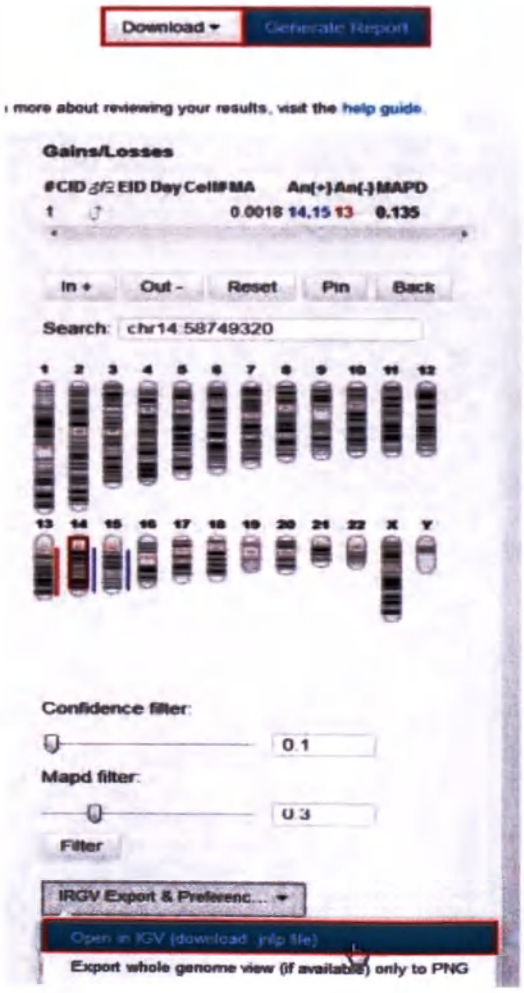
• Вы можете отрегулировать фильтры доверительных значений и фильтры MAPD-метрики с помощью ползунков в нижнем правом углу экрана. MAPD-метрика (Медиана абсолютных значений отклонений от заданного показателя) отображает

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

разницу в покрытии между прилегающими элементами гена. Порог по умолчанию установлен на 0,3; вариация числа копий генов при MAPD выше данного значения может быть неточной из-за высокого уровня помех в образце.

• Смотрите «Высокое значение MAPD (>0,3)» на странице 110 для того, чтобы ознакомиться с необходимыми мерами в случае высокого значения MAPD.

8.7.2.3. Выберите опцию **«Open in IGV»** (**download.jnlp file**) (Открыть в IGV (скачать файл в формате .jnlp) из выпадающего меню **«IRGV/Export&Preferences»** (IRGV/Экспорт и параметры) или нажмите кнопку **«Download»** (Загрузка) в верхнем правом углу для того, чтобы загрузить файл, из которого можно запустить приложение IGV. Вы также можете нажать кнопку **«Generate Report»** (Создать отчет) для того, чтобы создать полный отчет с графиками, который может сохранен в формате PDF.

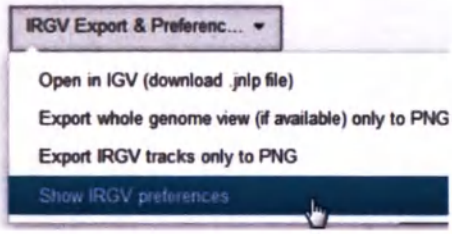


8.7.3. Изменение параметров IRGV

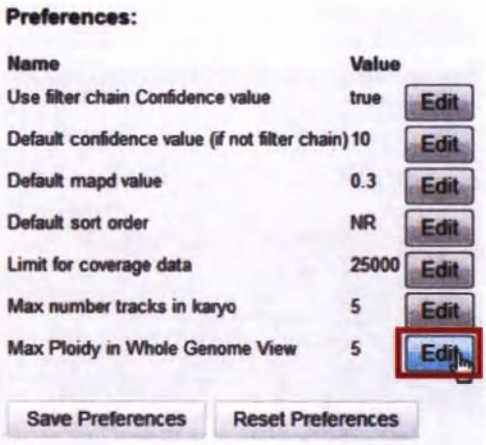
Вы можете изменить параметры IRGV для того, чтобы настроить ваш анализ и отчет. Например, максимальная плоидность в полном геноме (ось y) установлена на 5 по умолчанию. При установке меньшего значения данного параметра,

уменьшается диапазон оси y, что позволяет легче определить и отобразить мозаицизм. Ниже описан метод внесения подобных изменений.

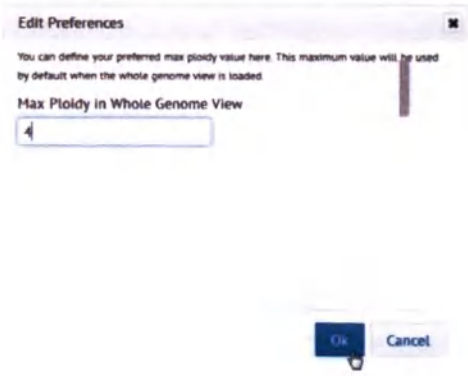
8.7.3.1. Нажмите **«IRGV Export &Preferences»** (Экспорт и параметры IRGV). Затем в выпадающем меню выберите **«Show IRGV Preferences»** (Отобразить параметры IRGV).



8.7.3.2. Нажмите кнопку «Edit» (Изменить) для параметра **«Max Ploidy in Whole Genome View»** (Максимальная плоидность в обзоре полного генома).



8.7.3.3.В диалоговом окне **«Edit Preference»** (Изменение параметров) установите 4 и нажмите кнопку **«Ок».**



8.7.3.4. Нажмите **«Save Preference»** (Сохранить параметры)

Preferences:

Name	Value	
Use filter chain Confidence value	true	Edit
Default confidence value (if not filter chain)	10	Edit
Default mapd value	0.3	Edit
Default sort order	NR	Edit
Limit for coverage data	25000	Edit
Max number tracks in karyo	5	Edit
Max Ploidy in Whole Genome View	4	Edit

Save Preferences Reset Preferences

Вы можете аналогичным образом вносить какие-либо другие изменения в параметры в диалоговом окне «Preferences» (параметры). Нажмите кнопку **«Reset Preferences»** (Сбросить параметры) для того, чтобы сбросить настройки на исходные значения по умолчанию.

8.7.4. Просмотр данных по X и Y хромосомам в образцах с малым числом прочтений.

Результаты исследования наличия анеуплоидий на образцах с малым общим числом прочтений могут быть представлены без отображения плоидности по X и Y хромосомам и определения пола. В этой ситуации есть два способа попробовать визуализировать данные по половым хромосомам. Однако, мы рекомендуем аккуратно интерпретировать какие-либо результаты анализа с высоким значением MAPD.

• Образцы с низким числом прочтений без отображения данных по хромосомам X и Y, могут анализироваться в отдельном процессе выявления анеуплоидии с более низким значением, введенным для параметра «CNV Gender Min Autosomes Count» (CNV Пол минимальная вариация числа копий половых хромосом) (по умолчанию = 25000). Скопируйте текущий процесс ПГТ. Затем измените данный параметр в следующей директории **Parameters ▸ Cnv Finding ▸ Advanced (Параметры – Результаты Cnv - Дополнительные)**.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Gender calling

CNV Gender Caller Enable Flag. (Do not enable for non-Aneuploidy workflows. For other workflows, called gender results may be inaccurate)

Flag to indicate whether Gender caller should be invoked.

True False

CNV Gender Threshold

Specifies threshold ratio of chrY to Autosomes for taking male/female call

0 <= 7

CNV Gender Min Mapping QV

Specifies min mapping qv of reads to consider in gender calling

0 <= 30 <= 255

CNV Gender Min Autosomes Count

Specifies min number of required filtered reads in autosomes

0 <= 25000

CNV CHRM To Autosomes Ratio Min Mapping QV

Specifies min mapping qv of reads to consider in calculating chrM A Ratio

0 <= 30 <= 255

• Создайте рабочий процесс выявления анеуплоидии с активным параметром CNV «Plot Y chromosome for Female or Unknown Gender» (Отображать на графике Y хромосому для женского или неизвестного пола). Скопируйте текущий процесс ПГТ и активируйте данный параметр в директории **Parameters ▸ Cnv Finding ▸ Advanced (Параметры – Результаты Cnv - Дополнительные)** и выберите опцию **«True»** (**верно**) для данного параметра

Analysis

Plot Y chromosome for Female or Unknown Gender?

Plot Y chromosome for Female or Unknown Gender.

True False

Примечание: Если данный параметр активен, во время анализа будут отображаться данные хромосом X и Y, однако при этом пол не будет определяться. Кроме того, программа по умолчанию отображает прочтения хромосом X и Y в виде увеличений числа копии независимо от числа прочтений.

Для того, чтобы получить дополнительную информацию о методах копирования и изменения рабочего процесса выявления анеуплоидии, см. п.8.7.5. «Копирование и изменение рабочего процесса».

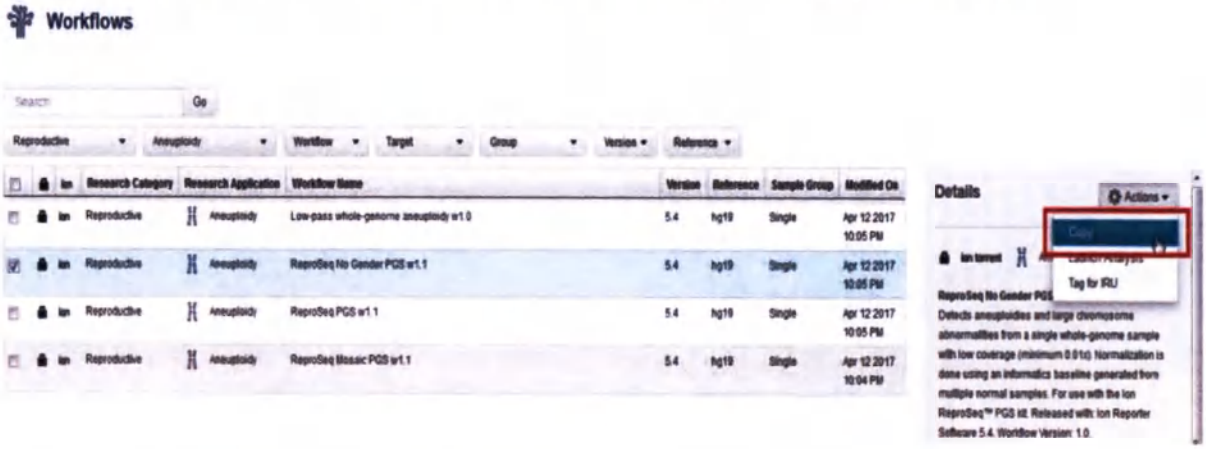
8.7.5. Копирование и изменение рабочего процесса

Вы можете создать новый процесс на основе текущего процесса выявления анеуплоидии путем копирования и редактирования. Например, после копирования процесса «ReproSeq No Gender PGS w 1.1» (ПГТ без определения пола) вы можете активировать функцию выявления мозаицизма (в результате вариация числа копий (CNV) отображается в виде десятичного числа плоидности вместо целых чисел), изменять чувствительность CNV или отключать функцию сглаживания путем

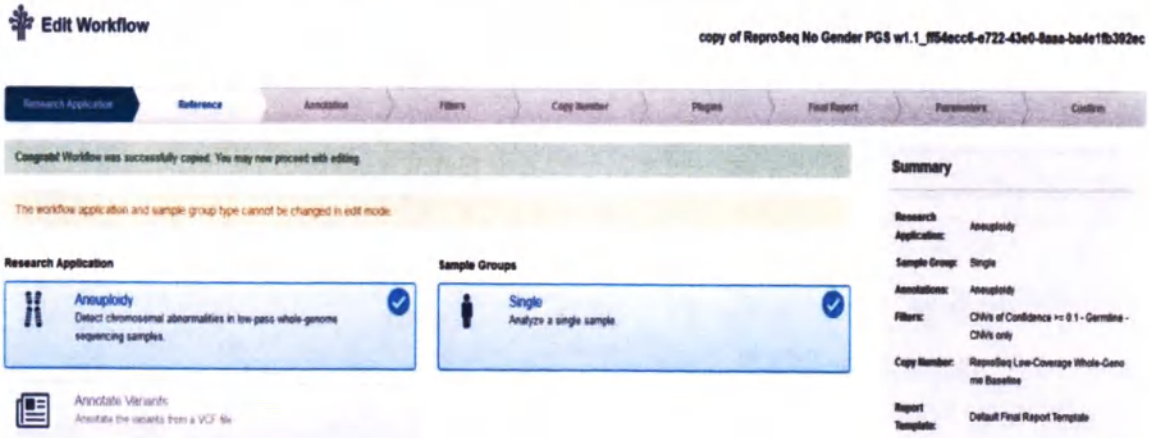
ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

изменения повествующих настроек процесса во вкладке **«Parameters» (Параметры)** и сохранения изменений. Ниже описаны методы изменения и копирования текущего процесса с целью создания нового рабочего процесса анализа.

8.7.5.1. На главной странице нажмите кнопку **«View Workflow»** (Обзор процесса анализа), выберите опцию **«Reproductive»** (Репродуктивный) в выпадающем меню **«Research Category»** (Категория исследования). Затем выберите опцию **«Aneuploidy»** (Анеуплоидия) из выпадающего списка **«Research Application» (Применение исследования)**. Выберите необходимый рабочий процесс, затем нажмите **Copy** (Копировать) в выпадающем меню **Actions** (Действия).



8.7.5.2. Нажмите кнопку **«Next» ->** на каждой странице при внесении каких-либо изменений для того, чтобы перейти к **«Parameters»** (Параметры).



8.7.5.3. Нажмите **«Cnv Finding»** (**Результаты Cnv**), а затем измените настройки **«CNV Sensitivity»** (**Чувствительность CNV**).

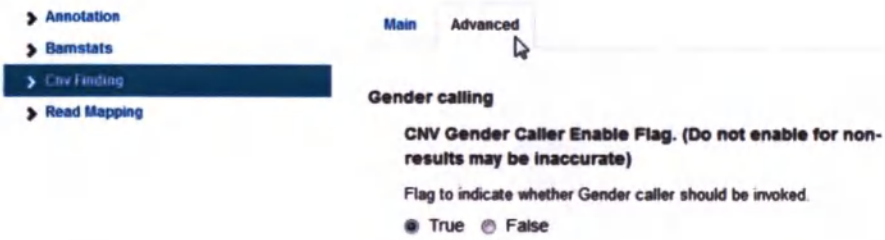
Примечание: Низкая чувствительность приводит к меньшему количеству ложноположительных, но к большему количеству ложноотрицательных результатов. Высокая чувствительность приводит большему количеству как ложноотрицательных, так и ложноположительных результатов.

Высокая чувствительность необходима для обнаружения сегментарных анеуплоидий приблизительно в 20 млн. п.н. Настраиваемая чувствительность

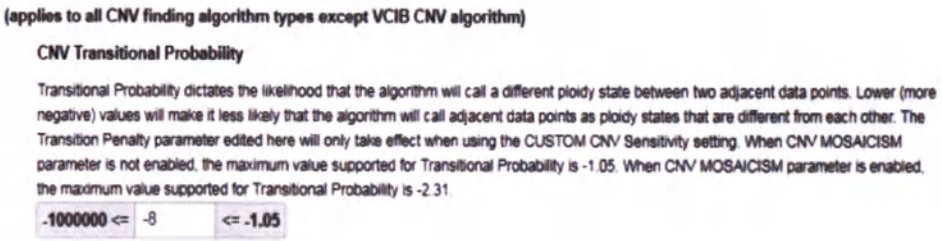
ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

позволяет изменять условную вероятность CNV, что, в свою очередь, позволяет более точно определять начало и конец субхромосомных сегментов.

8.7.5.4. Нажмите вкладку «**Advanced**» (Дополнительно) для того, чтобы получить доступ к дополнительным настройкам параметров анализа.



• Вы можете изменить условную вероятность CNV, если выбрана опция «Индивидуальная чувствительность»



8.7.5.5. Выберите раздел **«Analysis (applies only to Aneuploidy workflows)»** (Анализ (применяется только к процессу анализа анеуплодии)) и внесите необходимые изменения. В этом примере, выберите опцию **«True»** (Верно) под заголовком **«Enable Mosacism Detection»** (Активировать функцию обнаружения мозаицизма) для того, чтобы внести изменения.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Analysis (applies only to Aneuploidy workflows)

Remove Duplicates

Removes duplicate reads

True False

Enable Mosaicism Detection

Enable Mosaicism Detection

True False

Enable Smoothing

Enable Smoothing

True False

Hide called gender

Hide gender called by CNV gender calling

True False

•Для того, чтобы активировать функцию обнаружения мозаицизма и/или сглаживания в процессе «Без определения пола» (No Gender), скопируйте и измените рабочий процесс «ReproSeq No Gender PGS w 1.1» (ПГТ без определения пола w 1.1) как описано ниже. Вы не можете активировать функцию скрытия пола в других рабочих процессах ReproSeq, так как настройка **«Hide called gender»** (скрыть определяемый пол) заблокирована в значении **«False» (Неверно)** (пол отображается) и не может быть установлена как **«True»** (Верно).

Analysis (applies only to Aneuploidy workflows)

Remove Duplicates

Removes duplicate reads

True False

Enable Mosaicism Detection

Enable Mosaicism Detection

True False

Enable Smoothing

Enable Smoothing

True False

Hide called gender

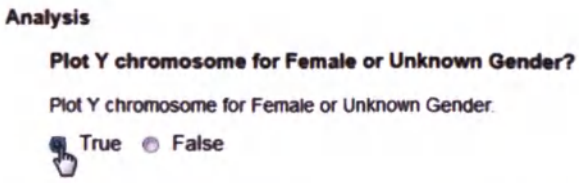
Hide gender called by CNV gender calling

True False

Для того, чтобы отобразить данные Y **хромосомы** для каждого образца, независимо от того, является ли он женского, мужского или неизвестного пола, выберите опцию **True** (Верно) для «**Plot Y chromosome for Female or Unknown Gender»** (Отображать на графике Y хромосому для женского или неизвестного пола).

По умолчанию данная настройка установлена как **«False» (Неверно)**, данные Y хромосомы отображаются, только если образец мужского пола.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



8.7.5.6. Существуют дополнительные параметры рабочего процесса при нажатии ссылок «Annotation», «Bamstats» «Read Mapping» с левой стороны страницы. После завершения внесения изменений, нажмите кнопку **Next -> (Далее),** расположенную в нижней части страницы для того, чтобы перейти к опции «**Confirm**» (Подтвердить).

Примечание: Не изменяйте настройки по умолчанию, если вы не знаете, как изменение может повлиять на анализ.

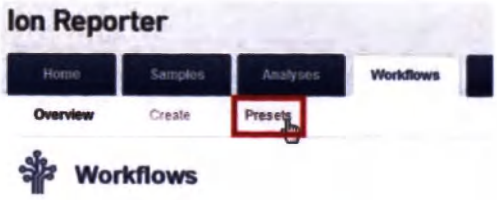
8.7.5.7. Измените название процесса и нажмите кнопку **«Save Workflow»** (Сохранить рабочий процесс)

Рабочий процесс анализа появится в перечне рабочих процессов.

8.7.6. Создание и добавление новой цепи фильтров

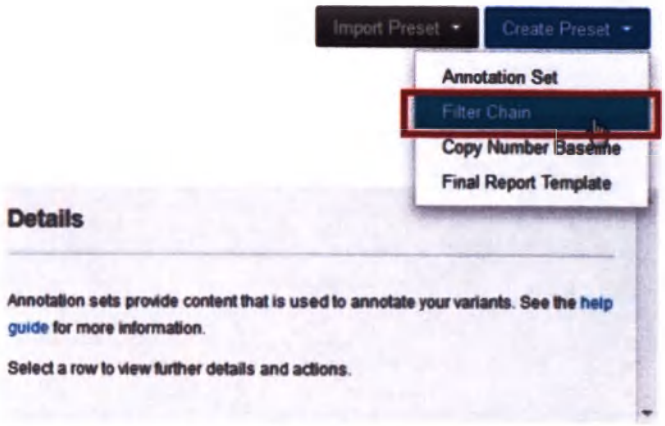
Диапазон достоверности обнаружения CNV по умолчанию установлен на значения 0,1-1,0E7. Чтобы задать другой диапазон для более (1,0-1,0E7) или менее (0,01-1,0E7) строгого фильтрования вероятности обнаружения CNV, необходимо сначала создать новую Цепь фильтров, а затем добавить ее в процесс.

8.7.6.1. Во вкладке **«Workflow» (процесс)** программы нажмите кнопку **«Presets» (Предварительные настройки).**

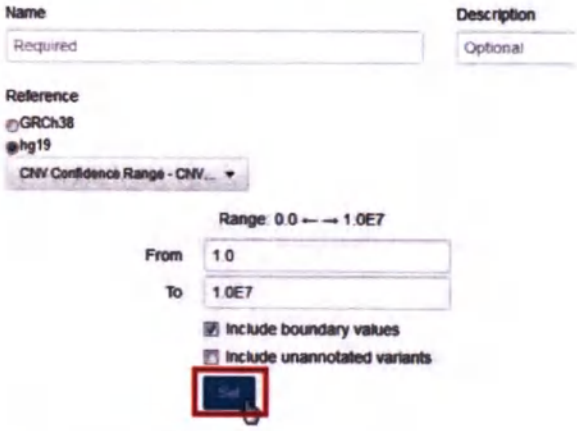


8.7.6.2. В выпадающем меню **«Create Preset» (Создать предварительную настройку)** выберите **«Filter Chain» (Цепь фильтров)**

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

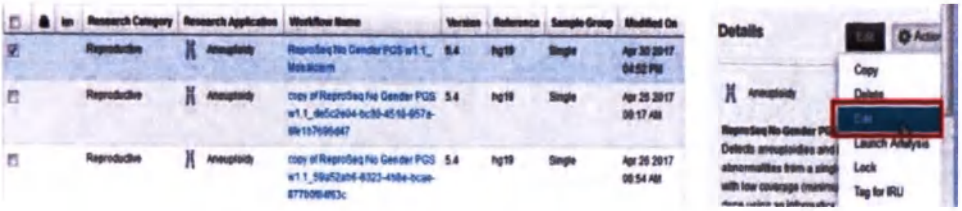


8.7.6.3. В диалоговом окне выпадающего меню слева выберите опцию **«CNV Confidence Range – CNVs Only»** (Диапазон достоверности **CNV** - Только **CNV**) и укажите необходимые значения. Затем нажмите кнопку **«Set» (Установить).**

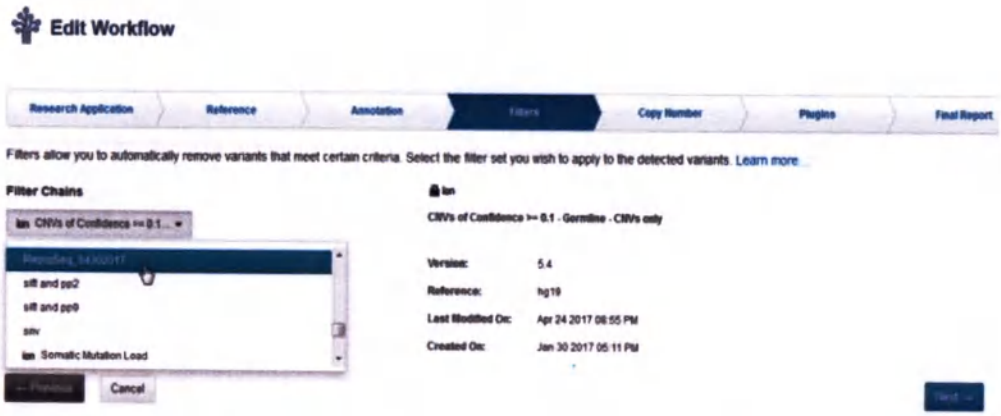


8.7.6.4. Введите название Цепи фильтров и нажмите кнопку **«Save»** (Сохранить)

8.7.6.5. Выберите процесс, в который вы хотите добавить новую Цепь фильтров, из списка во вкладке **«Workflows»** программы, нажмите кнопку **«Edit» (Изменить)** в выпадающем меню **«Actions ▼» (Действия).**



8.7.6.6. Во вкладке **«Filter» (фильтр)** мастера настройки **процесса (Edit Workflow wizard),** выберите свою Цепь фильтров из выпадающего меню и нажмите кнопку **«Next» (Далее).**



8.7.6.7. Выполните оставшиеся шаги мастера настройки для того, чтобы внести дополнительные изменения, присвойте название измененному процессу на этапе **«Confirm» (Подтвердить).** Затем нажмите кнопку **«Save Workflow» (Сохранить процесс).**

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

9.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температурах, указанных в таблице ниже всеми видами крытых транспортных средств, компоненты набора №1, 4, 6 транспортировать в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Время транспортирования не ограничено при условии соблюдения температурного режима. Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

Таблица 30

	Компонент набора	Условия транспортирования
1	набор для приготовления библиотек ДНК	от -30 до -10^{0}С
2	набор материалов для станции пробоподготовки	от +15 до + 30^{0}С
3	картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	от +15 до + 30^{0}С
4	картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки	от -30 до -10^{0}С
5	набор растворов для секвенирования	от +15 до + 30^{0}С
6	картридж с реагентами для секвенирования	от -30 до -10^{0}С
7	набор полупроводниковых чипов	от +15 до + 30^{0}С

9.3. Хранение

Набор хранить при температурах, указанных в таблице ниже в течение всего срока годности набора.

Таблица 31

	Компонент набора	Условия хранения
1	набор для приготовления библиотек ДНК	от -30 до -10^{0}С
2	набор материалов для станции пробоподготовки	от +15 до + 30^{0}С
3	картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	от +15 до + 30^{0}С
4	картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки	от -30 до -10^{0}С
5	набор растворов для секвенирования	от +15 до + 30^{0}С
6	картридж с реагентами для секвенирования	от -30 до -10^{0}С
7	набор полупроводниковых чипов	от +15 до + 30^{0}С

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

10. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОГРАММНОМ ОБЕСПЕЧЕНИИ

Доступ к ПО, установленному на сервере "Ion Reporter", входящему в состав системы "F-Genetics", осуществляется по локальной сети.

Информация о защите от несанкционированного доступа к ПО: доступ к ПО осуществляется при введении логина и пароля, индивидуального для каждого пользователя.

Программное обеспечение набора «Ion Reporter» имеет версию не ниже 5.10 и характеристики, указанные в таблице 32:

Таблица 32

Показатель	Методы контроля
Функциональные возможности	
Доступ к ПО	Доступ к ПО, установленному на сервере "Ion Reporter", входящему в состав системы "F-Genetics", осуществляется по локальной сети.
Обновление ПО	Обновление ПО производит квалифицированный представитель производителя посредством внешнего носителя. Запустить ПО. При наличии обновления загрузить его. После завершения обновления запустить обновленное ПО.
Импорт данных	Данные импортируются автоматически или вручную с помощью приложение для загрузок «Ion Reporter Uploader».
Запуск анализа данных	Запустить ПО. Во вкладке **«Home»** (Главный экран) программы нажать кнопку **«Launch analysis»** (Начать анализ). Анализ успешно запущен.
Визуализация результатов	Во вкладке **Analysis ▸Overview** (Анализ ▸ Просмотр) выбрать вкладку **IRGV**, в которой откроется окно **«Analysis Visualization» (Визуализация результатов анализа).** При этом на экране появится гистограмма числа копий по каждому выбранному анализу вместе с картой плоидностей по выбранным хромосомам или участкам хромосом, а также кариотип, отображающий увеличение и уменьшение числа копий хромосом.
Формирование отчета	Во вкладке **IRGV** выбрать опцию **«Generate Report»** (Создать отчет) для того, чтобы создать полный отчет с графиками, который может быть сохранен в формате PDF.
Изменение параметров	Нажать **«IRGV Export &Preferences»** (Экспорт и параметры IRGV). Затем в выпадающем меню выбрать **«Show IRGV Preferences»** (Отобразить параметры IRGV). Нажать кнопку «Edit» (Изменить) для параметра **«Max Ploidy in Whole Genome View»** (Максимальная плоидность в обзоре полного генома). В диалоговом окне **«Edit Preference»** (Изменение параметров) установить 4 и нажмите кнопку **«Ок».** Нажать **«Save Preference»** (Сохранить параметры). Аналогичным образом вносить какие-либо другие изменения в параметры в диалоговом окне «Preferences» (параметры). Нажать

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

	кнопку **«Reset Preferences»** (Сбросить параметры) для того, чтобы сбросить настройки на исходные значения по умолчанию. После изменения параметров закрыть ПО, затем запустить ПО повторно и проверить, сохранились ли внесенные параметры во вкладке «Параметры».
Копирование и изменение рабочего процесса	На главной странице нажать кнопку **«View Workflow»** (Обзор процесса анализа), выбрать опцию **«Reproductive»** (Репродуктивный) в выпадающем меню **«Research Category»** (Категория исследования). Затем выбрать опцию **«Aneuploidy»** (Анеуплоидия) из выпадающего списка **«Research Application» (Применение исследования)**. Выбрать необходимый рабочий процесс, затем нажать **Copy** (Копировать) в выпадающем меню **Actions** (Действия). Нажать кнопку **«Next» ->** на каждой странице при внесении каких-либо изменений для того, чтобы перейти к **«Parameters»** (Параметры). Изменить необходимые параметры и нажать кнопку **«Save Workflow»** (Сохранить рабочий процесс). Процесс успешно скопирован и изменен.
Надежность	
Стабильность работы	В ходе проведения верификации отслеживать количество отказов и ошибок.
Устойчивость к ошибкам	Запустить ПО. Импортировать данные, запустить анализ, визуализировать результаты, сформировать отчет. Проверить наличие сообщений об ошибках.
Практичность	
Понятность ПО	Проверить наличие необходимой информации для работы с ПО в инструкции по эксплуатации.
Эффективность	
Эффективность	Во вкладке **Analysis ▸Overview** (Анализ ▸ Просмотр) выбрать вкладку **IRGV**, в которой откроется окно **«Analysis Visualization» (Визуализация результатов анализа).** При этом на экране появится гистограмма числа копий по каждому выбранному анализу вместе с картой плоидностей по выбранным хромосомам или участкам хромосом, а также кариотип, отображающий увеличение и уменьшение числа копий хромосом.
Мобильность	
Мобильность	Провести установку и запуск ПО не менее чем на 3 различных персональных компьютерах с версией операционной системы Windows 7 и выше.

11. МАРКИРОВКА

Маркировка внутренней (индивидуальной) упаковки компонентов Набора реагентов содержит:

- наименование производителя;
- сокращенное наименование Набора реагентов;
- наименование компонента;
- объем/количество компонента;
- номер по каталогу;

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

- номер серии;
- срок годности;
- условия хранения;
- символ «Медицинское изделие для диагностики in vitro»;
- символы опасности и сигнальное слово (на этикетке буфера для экстракции нуклеиновых кислот, буфера для реакции лизиса, преамплификационного буфера, ферментов для реакции преамплификации, амплификационного буфера, картриджа с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки, картриджа с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки, картриджа с реагентами для секвенирования).

Маркировка внешней (потребительской) упаковки Набора реагентов содержит:
- наименование производителя;
- адрес, телефон и сайт производителя;
- полное и сокращенное наименование Набора реагентов;
- состав Набора реагентов;
- номер по каталогу;
- номер серии;
- дата производства;
- срок годности;
- условия хранения;
- символ «Медицинское изделие для диагностики in vitro»;
- символ «Обратитесь к инструкции по применению»;
- символы опасности, сигнальное слово, список опасных компонентов, входящих в состав реагента, предупреждения об опасности (для набора для приготовления библиотек ДНК, картриджа с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки, картриджа с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки и картриджа с реагентами для секвенирования);
- номер «Технических условий»;
- номер и дата регистрационного удостоверения.

Маркировка транспортной упаковки содержит:
- наименование Набора реагентов;
- наименование и адрес производителя;
- номер по каталогу;
- номер серии;
- дату изготовления Набора реагентов (год, месяц включительно);

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

- срок годности Набора реагентов (год, месяц включительно);

- требования к условиям хранения и транспортирования изделия;

- предупреждения и меры предосторожности в отношении изделия, которые необходимо исполнять при транспортировании, манипуляционные надписи;

- число единиц потребительской упаковки изделий;

- масса нетто и масса брутто.

Таблица 33

Расшифровка символов маркировки

	Изготовитель
	Дата изготовления
	Использовать до
LOT	Код партии
IVD	Изделие для in vitro диагностики
REF	Номер в каталоге
	Символ опасности
	Опасность возгорания
	Опасность для здоровья
	Опасность коррозии
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Объем

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

12. УПАКОВКА

12.1. Внутренняя (потребительская) упаковка должна представлять собой индивидуальные коробки из картона коробочного по ГОСТ 33781, в которые помещены компоненты Набора реагентов №№1-7, паспорт качества и краткое руководство по применению набора.

12.2. Следующие компоненты Набора (№№ 1, 4, 6), хранящиеся при температуре -30 – -10^{0}С, должны быть совместно упакованы в совместную внешнюю упаковку (потребительскую тару) в пакеты из пленки полиэтиленовой по ГОСТ 10354:

Вариант исполнения «РепроЛайн 96»:

1.набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1) – 4 шт.;

2. картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки – 4 шт.;

3. картридж с реагентами для секвенирования – 4 шт.

Вариант исполнения «РепроЛайн 24»:

1.набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1) – 1 шт.;

2. картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки – 4 шт.;

3. картридж с реагентами для секвенирования – 4 шт.

Вариант исполнения «РепроЛайн 16»:

1.набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 2) – 3 шт.;

2. картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки – 4 шт.;

3. картридж с реагентами для секвенирования – 4 шт.

Потребительская тара упаковывается в транспортную упаковку - термоконтейнер с хладоэлементами.

12.3. Следующие компоненты набора (№№ 2, 3, 5, 7), хранящиеся при температуре 15 – 30^{0}С, должны быть совместно упакованы в совместную внешнюю упаковку (потребительскую тару) в пакеты из пленки полиэтиленовой по ГОСТ 10354:

Вариант исполнения «РепроЛайн 96»:

1.набор материалов для станции пробоподготовки – 4 шт.;

2. картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки – 4 шт.;

3. набор растворов для секвенирования;

4. набор полупроводниковых чипов 530.

Вариант исполнения «РепроЛайн 24»:

1.набор материалов для станции пробоподготовки – 4 шт.;

2. картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки – 4 шт.;

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

3. набор растворов для секвенирования;

4. набор полупроводниковых чипов 520.

Вариант исполнения «РепроЛайн 16»:

1.набор материалов для станции пробоподготовки – 4 шт.;

2. картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки – 4 шт.;

3. набор растворов для секвенирования;

4. набор полупроводниковых чипов 510.

Потребительская тара упаковывается в транспортную упаковку – ящик из картона гофрированного.

12.4. Транспортная упаковка представляет собой ящик из картона гофрированного.

12.5. Транспортная упаковка оклеена упаковочной лентой общего назначения (скотчем) на полимерной или тканевой основе шириной не менее 45 мм. На каждую транспортную упаковку нанесена этикетка с транспортной маркировкой.

12.6 Термоконтейнеры с хладоэлементами для транспортирования компонентов набора №1, 4, 6 должны соответствовать требованиям, указанным в таблице 34.

Таблица 34

Транспортная тара и вспомогательные материалы	Требования и нормы
Термоконтейнер одноразового использования	внутренний объем до 92 л, толщина стенок не менее 40 мм
Термоконтейнер многоразового использования	внутренний объем до 80 л, толщина стенок не менее 40 мм
Хладоэлементы	для поддержания температуры внутри термоконтейнера от -30 до -10°С при воздействии положительной температуры внешней среды

Массогабаритные характеристики набора указаны в Таблице 35.

Таблица 35

Вариант исполнения	Комплект реагентов/материалов/ картриджей/чипов	Масса*	Габаритные размеры**	Кол-во упаковок
Вариант исполнения «РепроЛайн 96»	1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1)	137 г	135 x 90 x 70 мм	4
	2) набор материалов для станции пробоподготовки	444 г	165 x 145 x 170 мм	4
	3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки (4 шт. в упаковке)	620 г	195 x 125 x 105 мм	1
	4) картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки (4 шт. в упаковке)	550 г	195 x 125 x 105 мм	1
	5) набор растворов для	7,4 кг	295 x 295 x 370 мм	1

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Вариант исполнения	Комплект реагентов/материалов/ картриджей/чипов	Масса*	Габаритные размеры**	Кол-во упаковок
	секвенирования			
	6) картридж с реагентами для секвенирования (4 шт. в упаковке)	2,20 кг	295 x 245 x 230 мм	1
	7) набор полупроводниковых чипов 530 (4 чипа в упаковке)	57,3 г	85 x 85 x 85 см	1
Вариант исполнения «РепроЛайн 24»	1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1)	137 г	135 x 90 x 70 мм	1
	2) набор материалов для станции пробоподготовки	444 г	165 x 145 x 170 мм	4
	3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки (4 шт. в упаковке)	620 г	195 x 125 x 105 мм	1
	4) картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки (4 шт. в упаковке)	550 г	195 x 125 x 105 мм	1
	5) набор растворов для секвенирования	7,4 кг	295 x 295 x 370 мм	1
	6) картридж с реагентами для секвенирования (4 шт. в упаковке)	2,20 кг	295 x 245 x 230 мм	1
	7) набор полупроводниковых чипов 520 (4 чипа в упаковке)	57,3 г	85 x 85 x 85 см	1
Вариант исполнения «РепроЛайн 16»	1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 2)	137 г	135 x 90 x 70 мм	3
	2) набор материалов для станции пробоподготовки	444 г	165 x 145 x 170 мм	4
	3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки (4 шт. в упаковке)	620 г	195 x 125 x 105 мм	1
	4) картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки (4 шт. в упаковке)	550 г	195 x 125 x 105 мм	1
	5) набор растворов для секвенирования	7,4 кг	295 x 295 x 370 мм	1
	6) картридж с реагентами для секвенирования (4 шт. в упаковке)	2,20 кг	295 x 245 x 230 мм	1
	7) набор полупроводниковых чипов 510 (4 чипа в упаковке)	57,3 г	85 x 85 x 85 см	1

* - допустимое отклонение должно составлять ±10 %;
** - допустимое отклонение должно составлять ±5 %.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

13. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора «РепроЛайн» направлять в адрес производителя АО «Ферст Генетикс»: 143026, Россия, г. Москва, территория Инновационного центра «Сколково», Большой бульвар, 42, стр. 1, помещения №№ 619, 620, 621 и 622, тел. (499) 673-02-88, e-mail: info@f-genetics.com.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в Российской Федерации – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте Производителя: www.f-genetics.com.

14. БИБЛИОГРАФИЯ

1. Joep Geraedts and Karen Sermon. Preimplantation genetic screening 2.0: the theory. Molecular Human Reproduction, Vol. 22, No. 8, pp. 539-544, 2016.

2. Hsin-Fu Chen, Shee-Uan Chen, Gwo-Chin Ma, at al. Preimplantation genetic diagnosis and screening: Current status and future challenges. Journal of the Formosan Medical Association (2018) 117, 94-100.

3. Jenna Friedenthal, M.D., Susan M. Maxwell, M.D., Santiago Munne, Ph.D., at al. Next generation sequencing for preimplantation genetic screening improves pregnancy outcomes compared with array comparative genomic gibridization in single thawed euploid embryo transfer cycles. Fertility and Sterility, Vol 109, No. 4, April 2018

4. N. Aleksandrova, E. Shubina, A. Ekimov, at al. Comparison of the results of preimplantation genetic screening obtained by a-CGH and NGS methods from the same embryos. Gynecological Endocrinology, 2016; 32(S2): S1-S4.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

15. ПЕРЕЧЕНЬ НАЦИОНАЛЬНЫХ НОРМАТИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ/ СТАНДАРТОВ

Таблица 36

Обозначение	Наименование
Приказ Минздрава России № 4н от 06.06.2012 г.	Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий
ГОСТ Р 50444-92	Приборы, аппараты и оборудование медицинские. Общие технические условия.
ГОСТ Р 51088-2013	Медицинские изделия для диагностики ин витро. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.
ГОСТ Р 51352-2013	Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний.
ГОСТ Р ЕН 13612-2010	Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro
ГОСТ Р ИСО 23640-2015	Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro
ГОСТ Р ИСО/МЭК 9126-93	Информационная технология. Оценка программной продукции. Характеристики качества и руководства по их применению
ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем(маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.
ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014	Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
ГОСТ 14192-96	Маркировка грузов
ОСТ 29.1-2001	Этикетки, отпечатанные способами офсетной и флексографской печати. Издательско-полиграфическое оформление. Общие технические условия
ГОСТ 10354-82	Пленка полиэтиленовая. Технические условия
ГОСТ 33781-2016	Упаковка потребительская из картона, бумаги и комбинированных материалов. Общие технические условия
ГОСТ Р 52901-2007	Картон гофрированный для упаковки продукции. Технические условия
СанПиН 2.1.7.2790-10	Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами
ГОСТ Р 15.301-2016	Система разработки и постановки продукции на производство. Продукция производственно-технического назначения. Порядок разработки и постановки продукции на производство
ГОСТ 15.309-98	Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции. Основные положения
ГОСТ 3885-73	Реактивы и особо чистые вещества. Правила приемки, отбор проб, фасовка, упаковка, маркировка, транспортирование и хранение
ГОСТ 24297-2013	Верификация закупленной продукции. Организация проведения и методы контроля
ГОСТ 1770-74	Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия
ГОСТ 166-89	Штангенциркули. Технические условия
ГОСТ Р 53228-2008	Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания
ГОСТ 17.2.3.02-2014	Правила установления допустимых выбросов загрязняющих веществ промышленными предприятиями
ГОСТ 17.2.3.01-86	Охрана природы (ССОП). Атмосфера. Правила контроля качества воздуха населенных пунктов
ГН 2.1.6.3492-17	Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе городских и сельских поселений
ГН 2.2.5.3532-18	Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Обозначение	Наименование
СП 2.2.2.1327-03	Гигиенические требования к организации технологических процессов, производственному оборудованию и рабочему инструменту
СанПиН 2.1.7.1322-03	Гигиенические требования к размещению и обезвреживанию отходов производства и потребления
ГОСТ Р 51352-2013	Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний.

16. УТИЛИЗАЦИЯ

16.1. Утилизация набора реагентов должна проводиться специализированными службами согласно правилам и нормативам СанПиН 2.1.7.2790 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

16.2. Неиспользованные наборы реагентов, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные наборы реагентов и упаковка должны быть утилизированы как отходы класса Г в соответствии с СанПин 2.1.7.2790 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

16.3. Биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, должны быть утилизированы как отходы класса Б, в соответствии с СанПин 2.1.7.2790 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

16.4. Удаление ПО с персонального компьютера не требуется, поскольку ПО на персональный компьютер не устанавливается (доступ к ПО осуществляется по локальной сети).

17. ТРЕБОВАНИЯ К ОХРАНЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

17.1. В процессе производства Набора реагентов для предотвращения загрязнения атмосферы и охраны окружающей среды должны выполняться требования ГОСТ 17.2.3.02 и ГОСТ 17.2.3.01.

17.2. Набор реагентов не является источником загрязнения окружающей среды и соответствуют требованиям ГН 2.1.6.3492 и ГН 2.2.5.3532.

17.3. В процессе производства Набора реагентов должны выполняться требования СП 2.2.2.1327.

17.4. Накопление и утилизация производственных отходов осуществляется в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.1322.

17.5. Материалы, из которых изготовлен Набор реагентов, не обладают способностью образовывать токсичные соединения в воздушной среде и сточных водах в присутствии других веществ при температуре окружающей среды.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ДОПОЛНЕНИЕ А Поиск и устранение неисправностей

Таблица А1

Подготовка библиотек

Наблюдаемое отклонение	Возможная причина	Рекомендованные действия
Недостаточное количество библиотеки	Геномная ДНК была недостаточно амплифицирована	Используйте real time ПЦР с целью мониторинга амплификации.
		Проверьте качество и количество образца библиотек после амплификации путем использования 10 мкл аликвот в 2% агарозных гелях.
	Количество исходного материала было недостаточным из-за потери или неверной подготовки клеток.	Увеличьте количество клеток в вашем образце
		Держите клетки на льду
		Не опускайте носик дозатора в образец - клетка (клетки) могут прилипать к носику после добавления реагента.
	Реагент «Agencourt AMPure XP» был пересушен во время очистки	Не высушивайте реагент более 4 минут.
	Процентное содержание этанола в промывочном реагенте «Agencourt AMPure XP» было меньше 70%	Приготовьте 70% этанол из свежеоткрытой емкости со спиртом.
		Если раствор приготавливается из емкости для этанола, которая часто используется, и, возможно, впитал влагу из воздуха, увеличьте процентное отношение спирта в растворе с 70% до 75%.
Неверный баланс баркодов в пуле	Вариация входящей геномной ДНК в пуле образцов была слишком высокой	Не объединяйте образцы, содержащие одну клетку, с образцами из нескольких клеток: объединяйте образцы с одной клеткой в один пул, а образцы с несколькими клетками в другой пул.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Таблица А2

Настройка и эксплуатация станции пробоподготовки

Наблюдаемое отклонение	Возможная причина	Рекомендованные действия
При включении на экране прибора не появляется главное окно.	Возможны различные причины	1. Выключите прибор, подождите 30 секунд, затем повторно включите пробор. 2. Если главное окно все еще не появляется, свяжитесь с Отделом технической поддержки.
Дверца прибора не открывается	Существует помеха на дверце или рядом с дверцей	Устраните помеху, блокирующую дверцу, затем продолжите работу прибора в нормальном режиме.
	Ошибка в работе оборудования и программного обеспечения.	Свяжитесь с отделом технической поддержки, чтобы сообщить о проблеме и получить помощь.
Прибор останавливается во время работы	Внутренняя ошибка прибора	1. Зафиксируйте ошибку, отображаемую на дисплее прибора. Затем нажмите кнопку «ОК» 2. Свяжитесь с Отделом технической поддержки для того, чтобы сообщить о проблеме и получить помощь.
	Материал был неверно загружен.	Убедитесь в том, что все материалы загружены в соответствии с представленными инструкциями.
Остаточная жидкость присутствует в центрифуге для регенерации (извлечения образцов) после запуска.	Во время нормальной работы прибора в роторе и люльках центрифуги скапливается жидкость после нескольких повторяющихся запусков.	Удалите все остатки влаги, как указано в разделе 8.6.3. «Очистка станции пробоподготовки»
Прибор не начинает запуск	Прибор отображает ошибку сканирования платформы (один или несколько расходных материалов отсутствуют или загружены неверно)	1. Убедитесь в том, что на сенсорном экране отсутствуют какие-либо предупредительные сообщения об ошибке сканирования платформы. В случае наличия тревожных сообщений, зафиксируйте отображаемую ошибку, замените недостающие расходные материалы, нажмите «No» (Нет) в случае появления соответствующего сообщения на экране либо «Next» (Далее) для того, чтобы отменить запуск. После возвращения в главное окно, начните заново запуск. 2. Если ошибка все еще не устранена, убедитесь в следующем: • Все адаптеры в роторе центрифуги для для регенерации (извлечения образцов) и центрифуги для загрузки чипов установлены правильно. •Все картриджи правильно установлены и выровнены по отношению к платформе прибора. • Баркоды пробирок для образцов Ion Chef™ видимы и правильно ориентированы. • Все пробирки с реагентами для

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

		секвенирования (пробирки с библиотеками образцов, NaOH, а также пустые пробирки) установлены, крышки сняты. 3. Если после проверки материалов на платформе прибора ошибка все еще присутствует, осуществите следующее: • Если вы уверены в том, что прибор станция пробоподготовки правильно настроена, и вы можете игнорировать предупреждающие сообщения, нажмите кнопку «Yes» (Да) после сканирования платформы для того, чтобы начать запуск. • Если прибор не запускает цикл, для получения помощи свяжитесь с Отделом технической поддержки.
Прибор не начинает запуск	Прибор обнаружил внутреннюю ошибку	1. Зафиксируйте ошибку, отображаемую на дисплее прибора. Затем нажмите кнопку «OK» 2. Свяжитесь с Отделом технической поддержки для того, чтобы сообщить о проблеме и получить помощь.
Во время работы прибор выводит на дисплей одно или несколько предупреждающих сообщений	Прибор обнаружил одну или несколько проблем во время запуска	После окончания запуска свяжитесь с Отделом технической поддержки. **ВАЖНО!** Обнаруженная проблема может повлиять на результат секвенирования.
	• Обрыв сетевого соединения с сервером. • Неверное имя пользователя или пароль.	1. Нажмите кнопку отображения статуса прибора для того, чтобы просмотреть предупреждающие сообщения. 2. В окне статуса прибора убедитесь в том, что название соединения с сервером «Torrent Server» подсвечивается красным цветом. 3. Обратитесь к сетевому администратору, чтобы он проверил следующее: • Torrent Server доступен через сетевой порт, используемый прибором Ion Chef™. В противном случае осуществите процедуру поиска и устранения ошибок сетевого соединения. • Имя пользователя и пароль, используемые прибором Ion Chef™, являются верными. В противном случае свяжитесь с администратором сервера для того, чтобы обновить идентификацию. 4. В случае наличия предупреждающих сообщений, свяжитесь с Отделом технической поддержки, чтобы получить дополнительную помощь.
Статус запланированного запуска не меняется на Planned («Запланирован»). Статус успешно завершенного запуска остается как «Reserved» (Зарезервирован) в браузере Torrent.	Связь между станцией пробоподготовки и программой Torrent Suite была временно потеряна или прервана	Вручную поменяйте статус запуска на **Planned («Запланирован»).** 1. Зарегистрируйтесь на сервере Torrent через браузер Torrent 2. Во вкладе Plan (План) нажмите кнопку Planned Runs (Запланированные запуски). 3. Для необходимого запланированного рабочего цикла нажмите ⚙ ▸**Completed on Chef (Завершено на станции).** При этом статус меняется на Planned (Запланированный).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Таблица А3

Предупреждающие сообщения и события секвенатора

Наблюдаемое отклонение	Возможная причина	Рекомендованные действия
Красные иконки сообщений «Alarms» (Предупреждения) и/или «Events» (События) в главном меню.	• Обнаружены доступные обновления для программного обеспечения • Обнаружены проблемы соединения • Прибор не обнаружил необходимые файлы или оборудование	Нажмите красную иконку **«Alarms»** (Предупреждения) для того, чтобы увидеть подробные сообщения. • Если в сообщении сказано «Доступно обновление программного обеспечения»: **ВАЖНО!** После установки обновлений прибор должен быть перезапущен. а. В главном меню нажмите **Setting ▸Check for Update** (Настройка▸ Проверка наличия обновлений) б. Поставьте галочку в поле **«Released Updates» (Выпущенные обновления).** Затем нажмите кнопку **«Update» (Обновление).** в. После завершения установки следуйте экранным подсказкам для того, чтобы перезапустить прибор. **Примечание:** В некоторых случаях прибор перезапускается автоматически после установки программного обеспечения. •Если появляется сообщение «Нет связи с сервером Torrent», «нет связи с ftp сервером» или «Сетевой администратор не подключен», отключите и повторно подключите сетевой кабель. Убедитесь в том, что роутер работает надлежащим образом, и убедитесь в том, что сеть находится в работоспособном состоянии. • В случае появления каких-либо других сообщений: **а.** Выключите прибор: В главном окне выберите **Settings ▸ System Tools▸ Shut Down ▸ Shut Down** (Настройка ▸ Инструменты системы ▸Выключить ▸Выключить) б. Подождите 30 секунд, затем нажмите кнопку на стенке прибора для того, чтобы его включить. • Если в главном окне все еще присутствуют красные сообщения «Alarms» (Предупреждения) и/или «Events» (события), свяжитесь с Отделом технической поддержки.

Таблица А4

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Инициализация - общие ошибки

Наблюдаемое отклонение	Возможная причина	Рекомендованные действия
Не прошла проверка протекания сосудов	• Сосуд закрыт негерметично • Сосуд поврежден или имеет дефект	1. Закрутите крышку сосуда 2. Если сосуд все еще протекает, замените его. 3. Если проверка на предмет утечки продолжает выдавать ошибку, свяжитесь с Отделом технической поддержки.

Таблица А5

Результаты программы «Ion Reporter»

Наблюдаемое отклонение	Возможная причина	Рекомендованные действия
Высокое значение MAPD (>0,3)	Малое количество прочтений библиотеки (< 50 000 прочтений на образец)	Проведите секвенирование плохо прочитанных образцов с большим покрытием путем увеличения их пропорциональной концентрации в образце с пулированной библиотекой.
		Уменьшите количество циклов секвенирования на один чип.
	Количество прочтений библиотеки было достаточным (> 100 000 прочтений на образец), однако качество библиотек было неудовлетворительным.	Повторно приготовьте библиотеки образцов
Данные хромосом X и Y отсутствуют на графиках IRGV, что не позволяет определить пол. Эти образцы также демонстрируют высокое значение MAPD. См. «Просмотр данных X и Y хромосом в образцах с малым числом прочтений» п. 8.7.4., чтобы получить дополнительную информацию	Образцы представлены очень низким количеством прочтений, в результате чего данные о хромосомах X и Y не отображаются	Проведите секвенирования плохо прочитанных образцов с большим покрытием
		Уменьшите количество циклов секвенирования на один чип.
		Войдите в раздел **Parameters ▸ CNV Finding ▸Advanced ▸ Gender** (Параметры ▸ Результаты CNV ▸Дополнительно ▸ Пол) и уменьшите значение параметра «CNV Gender Min Autosomes Count» (CNV пол минимальное число аутосом)
		Войдите в **Parameters ▸ CNV Finding ▸Advanced ▸ Analysis** (Параметры ▸ Результаты **CNV** ▸ Дополнительно ▸ Анализ) и выберите опцию **«True»** (верно) в параметре «Plot Y chromosome for Female or Unknown Gender» (Отображать на графике хромосому Y для женского или неизвестного пола).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

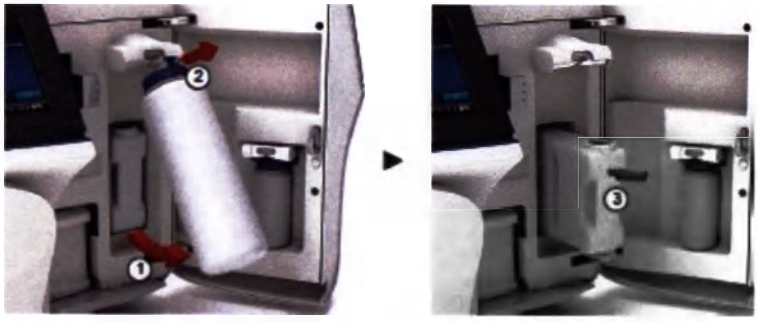
ДОПОЛНЕНИЕ Б Дополнительные процедуры

1. Ручная очистка секвенатора

Протокол очистки обычно осуществляется автоматически после завершения каждого цикла секвенирования. Если очистка необходима, повторите следующие шаги:

1.1. В главном окне выберите опцию **Settings ▸ Clean Instrument** (Настройка ▸Очистка прибора). Дверца прибора открывается, обеспечивая доступ к расходным материалам.

1.2. Достаньте бутыль с промывочным раствором для того, чтобы получить доступ к емкости для отходов. Затем снимите и слейте использованную жидкость с емкости.



1.3. Повторно установите пустой резервуар для отходов и использованную бутыль с промывочным раствором.

1.4. Убедитесь в том, что картридж с реагентами для секвенирования и бутыль с промывочным раствором установлены правильно.

ВАЖНО!: Проведите очистку с использованным картриджем с реагентами и установленной бутылью с промывочным раствором. При очистке, раствор для очистки попадает в бутыль с промывочным раствором и картридж с реагентами, что делает их непригодными для секвенирования.

1.5. Установите использованный чип для секвенирования в специальный зажим и задвиньте его до упора.

1.6. Закройте дверцу прибора и нажмите кнопку «Next» (Далее).

Цикл очистки занимает приблизительно 35 минут. После очистки дверца прибора открывается, и зажимы для чипа и картриджа выходят из зацепления.

1.7. Перейдите к разделу 8.5 «Инициализация секвенатора».

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

2. Перезапуск прибора с инициализированным и неиспользованным картриджем с реагентами для секвенирования

Очистка обычно проводится автоматически после завершения цикла секвенирования. Если секвенатор F-Genetics и F-Genentics Плюс инициализируется и

• цикл секвенирования не проводится в течение 24 часов после инициализации или

• секвенирование не завершается из-за сбоя питания или прерывания процесса и перед остановкой число циклов < 200.

Необходимо перезапустить устройство для того, чтобы обеспечить правильную очистку перед повторной инициализацией. Не проводите ручную очистку с неиспользованным и инициализированным картриджем с реагентами для секвенирования.

Примечание:

• В случае сбоя питания или остановки работы во время второго рабочего цикла после однократной инициализации, достаточно провести ручную очистку (страница 93).

• Если количество циклов перед сбоем питания или прерыванием работы неизвестно, перезапустите прибор.

Для того, чтобы перезапустить прибор, осуществите нижеописанную процедуру перед повторной инициализацией:

2.1. В главном меню на сенсорном экране прибора нажмите кнопку «Run» (Запуск).

Дверца прибора разблокируется, и защелка зажима для чипа выйдет откроется.

2.2. Убедитесь в том, что использованный чип для секвенирования находится в зажиме. Затем полностью задвиньте зажим для чипа.

2.3. Закройте дверцу прибора и нажмите кнопку **«Next»** (Далее).

2.4. Если на экране появится соответствующая инструкция, выберите опцию **«Planned Run (none)» (Запланированный запуск (нет))**.

2.5. В окне **«Select Run»** (Выбрать Запуск) нажмите кнопку «Edit» (Изменить). В окне **«Detail»** (Подробная информация) установите число циклов на 200. Убедитесь в том, что поле **«Post-Run/Clean»** (Очистка после рабочего цикла) отмечено галочкой, затем нажмите кнопку **«Close»** (Закрыть).

2.6. Нажмите кнопку **«Start run»** (Запуск рабочего цикла). Затем нажмите кнопку **«Accept»** (Принять) чтобы подтвердить активацию процедуры очистки после рабочего цикла и начать рабочий цикл.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

После завершения процедуры перезапуска прибора, последний автоматически выполнит процедуру очистки. После очистки на сенсорном экране появится главное окно.

3. Обслуживание станции пробоподготовки

3.1. Установка обновлений программы

Для того, чтобы обеспечить надлежащую работу станции пробоподготовки, мы рекомендуем периодически проверять актуальность программного обеспечения, на котором работает устройство. Мы периодически выпускаем обновления для программного обеспечения прибора, которые включают важные изменения в работе станции пробоподготовки. Для того, чтобы ваш станция работала на наиболее актуальном программном обеспечении, проверьте текущую версию программы, как описано ниже.

Проверьте программное обеспечение станции пробоподготовки.

3.1.1. На сенсорном экране станции пробоподготовки нажмите кнопку «Settings» (Настройки)

3.1.2. На экране **«Settings»** (Настройки) нажмите кнопку **«Check for update»** (Проверка обновлений).

3.1.3. В окне **«Software Update»** (обновление программного обеспечения) нажмите кнопку **«Release»** для того, чтобы найти обновления для ПО станции пробоподготовки.

Примечание: Пользователи также могут получить информацию об имеющемся в наличии программном обеспечении в окне **«Notifications»** (Уведомления).

3.1.4. Выберите обновление компонента, нажмите кнопку **«Update»** (Обновление). Затем подождите, пока прибор не завершит процесс обновления.

Примечание: Если станция пробоподготовки работает в изолированной сети и не может получить доступ к веб-сайту, вы должны установить обновление программного обеспечения вручную. Обновление ПО производит квалифицированный представитель производителя посредством внешнего

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

носителя. Вставьте внешний носитель в USB порт, расположенный в задней части прибора. Нажмите кнопку **«USB»** в окне **«Software Update»** (Обновление программного обеспечения), выберите необходимый компонент из перечня обновлений. Затем нажмите кнопку «Update» (Обновление).

По завершении, станция пробоподготовки отображает статус обновления.

3.1.5. Выключите и включите питание на станции пробоподготовки для того, чтобы завершить обновление.

ВАЖНО! Если вы обновляете программу вручную, извлеките USB носитель перед включением станции пробоподготовки.

3.2. Изменение названия прибора

Ниже указаны способы изменения названия, используемого для идентификации станции пробоподготовки в сети, и данных, которые он отрабатывает.

3.2.1. В главном экране станции пробоподготовки нажмите кнопку **«Settings»** (Настройка).

3.2.2. В окне «Settings» (Настройка) нажмите кнопку **«Instrument Settings»** (Настройки прибора).

3.2.3. В окне **«Settings»** (Настройка) нажмите **«Set Instrument Name»** (Указать название прибора». Нажмите на поле названия и введите новое название прибора, используя экранную клавиатуру. Затем наж

мите кнопку **«Save»** (Сохранить).

Примечание: Используйте только алфавитные знаки. Не используйте специальные знаки или пробелы во время ввода названия.

3.2.4. В следующем окне снова нажмите кнопку **«Save»** (Сохранить). Выключите и включите станцию пробоподготовки для того, чтобы название изменилось.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Лист регистрации изменений

Изм.	Номера листов				Всего листов в документе	Номер извещения об изменении	Подпись	Дата
	изменённых	заменённых	новых	аннулированных				
1	-	113	-	-	114	03569019.02.02-2019		30.10.19
2	-	115	-	-	115	03569019.02.10-2020		16.03.20

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Пронумеровано, прошито и скреплено печатью на _____ 117 _____листах

Начальник Городнова Е.А.

Пронумеровано, прошито и скреплено
117 лист (а/ов)
Генеральный директор
Акционерного общества
«Ферст Генетикс»

_____Н. А. Кузнецов

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Ферст Генетикс»
_____ Н.А. Кузнецов
16 марта 2020г.

ИЗВЕЩЕНИЕ № 03569019.02.10-2020

об изменении инструкции по применению набора реагентов «РепроЛайн» для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics»

СОГЛАСОВАНО
Директор по регистрации медицинских изделий
_____ О.А. Свиридова
16 марта 2020г.

Заместитель заведующего лабораторией
_____ Н.И. Исаева
16 марта 2020г.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

АО «Ферст Генетикс»	Извещение	Обозначение	Причина	Код	Лист	Листов
	03569019.02.10-2020	Инструкция по применению набора реагентов «РепроЛайн»	Запрос РОСЗДРАВНАДЗОРа дополнительных сведений по итогам экспертизы качества, эффективности и безопасности регистрационного досье на набор	7	2	9

Лаборатория	Дата выпуска	16.03.2020	Срок изм.	16.03.2020	Обозначение ПИ (ДПИ, ПР)	–	Срок действия ПИ	–
Указание о заделе	Задела нет.						Указание о внедрении	—

Изм.	Содержание изменения	Применяемость
1	**Титульный лист** АО "Ферст Генетикс", Россия, 115162, г. Москва, ул. Шухова, д.14, стр.9, ~~офис~~ пом. 7, тел. (499) 673-02-88, e-mail: info@f-genetics.com Изменение ввести заменой титульного листа **Раздел «1.1. Наименование и состав», стр. 4-5** **«Набор реагентов «РепроЛайн» для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics»»** по ТУ 21.20.23-002-03569019-2018 Варианты исполнения: **1. ~~Набор реагентов~~ «РепроЛайн 96» ~~в составе:~~** Состав: 1) Набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1), 4 шт.:	ТУ 21.20.23-002-03569019-2018, Шаблон паспорта качества, Макеты этикеток, Транспортная маркировка

Разослать
РОСЗДРАВНАДЗОР (Управление организацией государственного контроля и регистрации МИ), Испытательный центр ООО «Центр контроля качества БиоЛайф», Центр клинических исследований департамента организации научной деятельности ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России
Приложение
—

	Составил	Согласовал	Н. контроль	Утвердил
Должность	Заместитель заведующего лабораторией	Директор по регистрации медицинских изделий	Директор по регистрации медицинских изделий	Генеральный директор
Ф.И.О.	Исаева Н.И.	Свиридова О.А.	Свиридова О.А.	Кузнецов Н.И.
Подпись				
Дата	16.03.2020	16.03.2020	16.03.2020	16.03.2020

Изменения внес	Директор по регистрации медицинских изделий	Свиридова О.А.	

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

- буфер для экстракции нуклеиновых кислот – 480 мкл, 1 пробирка;
- буфер для реакции лизиса – 460,8 мкл, 1 пробирка;
- смесь ферментов для лизиса клеток – 19,2 мкл, 1 пробирка;- преамплификационный буфер – 460,8 мкл, 1 пробирка;
- ферменты для реакции преамплификации –19,2 мкл, 1 пробирка;
- амплификационный буфер –864 мкл, 3 пробирки;
- ферменты для амплификации – 48 мкл, 1 пробирка;
- вода без нуклеаз – 432 мкл, 1 пробирка;
- набор баркодов 1-96.

2) Набор материалов для станции пробоподготовки, 4 шт.:
- планшет 96-луночный;
- профольгированная крышка;
- наконечники одноразовые (96 шт. в штативе);
- пробирки (12 шт. в упаковке);
- крышки для центрифуг (2 шт.);
- штатив с пробирками для модуля обогащения;
- адаптер для чипа.

3) Картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки - 4 шт.
4) Картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки - 4 шт.
5) Набор растворов для секвенирования:
- промывочный раствор, бутыль 1,5 л – 4 шт.;
- раствор для очистки, бутыль 250 мл – 1 шт.

6) Картридж с реагентами для секвенирования – 4 шт.
7) Набор полупроводниковых чипов 530 (4 чипа в упаковке).
8) Программное обеспечение «Ion Reporter», версия 5.10.
9) Краткое руководство по применению.
10) Паспорт качества.

2. ~~Набор реагентов~~ «РепроЛайн 24» ~~в составе:~~

Состав:

1) Набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1), 1 шт.:
- буфер для экстракции нуклеиновых кислот – 480 мкл, 1 пробирка;
- буфер для реакции лизиса – 460,8 мкл, 1 пробирка;
- смесь ферментов для лизиса клеток – 19,2 мкл, 1 пробирка;
- преамплификационный буфер – 460,8 мкл, 1 пробирка;
- ферменты для реакции преамплификации –19,2 мкл, 1 пробирка;
- амплификационный буфер –864 мкл, 3 пробирки;
- ферменты для амплификации – 48 мкл, 1 пробирка;
- вода без нуклеаз – 432 мкл, 1 пробирка;

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

- набор баркодов 1-96.
2) Набор материалов для станции пробоподготовки, 4 шт.:
- планшет 96-луночный;
- профольгированная крышка;
- наконечники одноразовые (96 шт. в штативе);
- пробирки (12 шт. в упаковке);
- крышки для центрифуг (2 шт.);
- штатив с пробирками для модуля обогащения;
- адаптер для чипа.
3) Картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки - 4 шт.
4) Картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки - 4 шт.
5) Набор растворов для секвенирования:
- промывочный раствор, бутыль 1,5 л – 4 шт.;
- раствор для очистки, бутыль 250 мл – 1 шт.
6) Картридж с реагентами для секвенирования – 4 шт.
7) Набор полупроводниковых чипов 520 (4 чипа в упаковке).
8) Программное обеспечение «Ion Reporter», версия 5.10.
9) Краткое руководство по применению.
10) Паспорт качества.

3. ~~Набор реагентов~~ «РепроЛайн 16» ~~в составе:~~

Состав:
1) Набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 2) - 3 шт.:
- буфер для экстракции нуклеиновых кислот – 120 мкл, 1 пробирка;
- буфер для реакции лизиса – 115,2 мкл, 1 пробирка;
- смесь ферментов для лизиса клеток – 4,8 мкл, 1 пробирка;
- преамплификационный буфер – 115,2 мкл, 1 пробирка;
- ферменты для реакции преамплификации – 4,8 мкл, 1 пробирка;
- амплификационный буфер – 648 мкл, 1 пробирка;
- ферменты для амплификации – 12 мкл, 1 пробирка;
- вода без нуклеаз – 432 мкл, 1 пробирка;
- набор баркодов 1-24.
2) Набор материалов для станции пробоподготовки, 4 шт.:
- планшет 96-луночный;
- профольгированная крышка;
- наконечники одноразовые (96 шт. в штативе);
- пробирки (12 шт. в упаковке);
- крышки для центрифуг (2 шт.);

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

- штатив с пробирками для модуля обогащения;
- адаптер для чипа.

3) Картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки - 4 шт.
4) Картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки - 4 шт.
5) набор растворов для секвенирования:
- промывочный раствор, бутыль 1,5 л – 4 шт.;
- раствор для очистки, бутыль 250 мл – 1 шт.

6) Картридж с реагентами для секвенирования – 4 шт.
7) Набор полупроводниковых чипов 510 (4 чипа в упаковке).
8) Программное обеспечение набора «Ion Reporter», версия 5.10.
9) Краткое руководство по применению.
10) Паспорт качества.

Изменение ввести заменой стр. 4-5.

Введен раздел «Сокращения, используемые в тексте», стр. 6
«Набор реагентов «РепроЛайн» для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics»» по ТУ 21.20.23-002-03569019-2018, далее по тексту:
Набор реагентов «РепроЛайн» для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics» *или*
Набор реагентов «РепроЛайн» *или*
Набор реагентов «РепроЛайн 96» *или*
Вариант исполнения ««РепроЛайн 96» *или*
Набор реагентов «РепроЛайн 24» *или*
Вариант исполнения ««РепроЛайн 24» *или*
Набор реагентов «РепроЛайн 16» *или*
Вариант исполнения ««РепроЛайн 16» *или*
Набор «РепроЛайн» *или*
Набор реагентов *или*
Набор.

ПГТ-А – преимплатационное генетическое тестирование на количественные хромосомные изменения (анеуплоидии).

Изменение ввести заменой стр. 6.

Раздел «1.2. Назначение», стр. 6
Добавлена информация:
Область применения: Преимплатационная генетическая диагностика, репродуктивная медицина.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Изменение ввести заменой стр. 6.

Раздел «1.3. Потенциальный потребитель», стр. 7

Высокопроизводительное секвенирование полного генома (NGS) с использованием Набора реагентов должна проводиться квалифицированными специалистами (врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник), прошедшими предварительное обучение в области методов молекулярной диагностики и соблюдающими правила работы в клинико-диагностической лаборатории.

~~Категория пациентов, для которых выполняются исследования: пациенты, планирующие процедуру экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), для выявления наличия хромосомных анеуплоидий и хромосомных аберраций.~~

Изменение ввести заменой стр. 7.

Раздел «1.4. Описание целевого аналита», стр. 7

Целевым аналитом является ДНК, выделенная из клеток трофэктодермального происхождения ~~(внешнего слоя клеток) на стадии бластоцисты (5-6 день развития эмбриона)~~ для проведения преимплантационного генетического тестирования с целью выявления хромосомных аномалий (ПГТ-А).

Изменение ввести заменой стр. 7.

Раздел «1.7. Показания к применению», стр. 7

~~Проведение преимплантационного генетического тестирования (ПГТ) в рамках процедуры экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) для выявления наличия хромосомных анеуплоидий и хромосомных аберраций эмбриона.~~

Набор реагентов используется в преимплантационной диагностике для профилактики невынашивания беременности и рождения детей с хромосомной патологией при принятии решения о целесообразности имплантации эмбриона в полость матки. Целевым аналитом является ДНК, выделенная из клеток трофэктодермального происхождения, для проведения преимплантационного генетического тестирования с целью выявления хромосомных аномалий (ПГТ-А).

Изменение ввести заменой стр. 7.

Раздел «1.11.3. Клиническая значимость исследования», стр. 11-12

Высокий уровень анеуплоидий у ранних эмбрионов человека, возникающих как в результате нарушения сегрегации хромосом во время мейоза, так и в ходе первых делений дробления эмбриона, служит причиной остановки развития эмбрионов, приводит к спонтанным абортам и рождению детей с хромосомной патологией.

Преимплатационное генетическое тестирование (ПГТ-А) при применении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) помогает снизить риск переноса в полость матки генетически нездорового эмбриона, значительно повышая шансы женщины не только на наступление беременности, но и на вынашивание.

Набор реагентов «РепроЛайн» для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics» используется в преимплантационной диагностике **для профилактики невынашивания беременности и рождения детей с хромосомной патологией** при принятии решения о целесообразности имплантации эмбриона в полость матки.

Использование набора реагентов «Репролайн» позволяет выбирать и переносить в полость матки только те эмбрионы, которые не имеют хромосомных аномалий, таким образом снизить риск переноса в полость матки генетически нездорового эмбриона, значительно повышая шансы женщины не только на

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Изменение ввести заменой стр. 6.

Раздел «1.3. Потенциальный потребитель», стр. 7

Высокопроизводительное секвенирование полного генома (NGS) с использованием Набора реагентов должна проводиться квалифицированными специалистами (врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник), прошедшими предварительное обучение в области методов молекулярной диагностики и соблюдающими правила работы в клинико-диагностической лаборатории.

~~Категория пациентов, для которых выполняются исследования: пациенты, планирующие процедуру экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), для выявления наличия хромосомных анеуплоидий и хромосомных аберраций.~~

Изменение ввести заменой стр. 7.

Раздел «1.4. Описание целевого аналита», стр. 7

Целевым аналитом является ДНК, выделенная из клеток трофэктодермального происхождения ~~(внешнего слоя клеток) на стадии бластоцисты (5-6 день развития эмбриона)~~ для проведения преимплантационного генетического тестирования с целью выявления хромосомных аномалий (ПГТ-А).

Изменение ввести заменой стр. 7.

Раздел «1.7. Показания к применению», стр. 7

~~Проведение преимплантационного генетического тестирования (ПГТ) в рамках процедуры экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) для выявления наличия хромосомных анеуплоидий и хромосомных аберраций эмбриона.~~

Набор реагентов используется в преимплантационной диагностике для профилактики невынашивания беременности и рождения детей с хромосомной патологией при принятии решения о целесообразности имплантации эмбриона в полость матки. Целевым аналитом является ДНК, выделенная из клеток трофэктодермального происхождения, для проведения преимплантационного генетического тестирования с целью выявления хромосомных аномалий (ПГТ-А).

Изменение ввести заменой стр. 7.

Раздел «1.11.3. Клиническая значимость исследования», стр. 11-12

Высокий уровень анеуплоидий у ранних эмбрионов человека, возникающих как в результате нарушения сегрегации хромосом во время мейоза, так и в ходе первых делений дробления эмбриона, служит причиной остановки развития эмбрионов, приводит к спонтанным абортам и рождению детей с хромосомной патологией.

Преимплатационное генетическое тестирование (ПГТ-А) при применении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) помогает снизить риск переноса в полость матки генетически нездорового эмбриона, значительно повышая шансы женщины не только на наступление беременности, но и на вынашивание.

Набор реагентов «РепроЛайн» для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics» используется в преимплантационной диагностике **для профилактики невынашивания беременности и рождения детей с хромосомной патологией** при принятии решения о целесообразности имплантации эмбриона в полость матки.

Использование набора реагентов «Репролайн» позволяет выбирать и переносить в полость матки только те эмбрионы, которые не имеют хромосомных аномалий, таким образом снизить риск переноса в полость матки генетически нездорового эмбриона, значительно повышая шансы женщины не только на

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

наступление беременности, но и на ее вынашивание, снизить риск рождения детей с хромосомной патологией.

~~Хромосомные аномалии являются наиболее частой причиной невынашивания беременности, могут привести к врожденным порокам развития и/или умственной отсталости у родившихся детей. В зависимости от возраста женщины и наличия аномалий у сперматозоида возрастает риск аномалии (наличия неправильного хромосомного набора) у эмбрионов. Преимплантационное генетическое тестирование на хромосомные аномалии (ПГТ) используется при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) с целью обнаружения аномальных эмбрионов с дополнительными или недостающими хромосомами. Полученная при проведении ПГТ информация помогает врачу-эмбриологу и пациентам решить, какой эмбрион переносить в полость матки в цикле ЭКО.~~ Результаты, полученные при использовании набора, следует рассматривать и интерпретировать врачу-генетику или врачу-репродуктологу в сочетании с данными анамнеза и других инструментальных и лабораторных исследований.

Изменение ввести заменой стр. 11-12.

Раздел «2.1. Варианты исполнения, состав и комплектность», стр. 20
Таблица 13, столбец 1 «Вариант исполнения»:
Вариант исполнения ~~1: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 96»
Вариант исполнения ~~2: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 24»
Вариант исполнения ~~3: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 16»
Изменение ввести заменой стр. 20.

Таблица 14, строки, содержащие наименование варианта исполнения, стр. 21, 22 и 24
Вариант исполнения ~~1: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 96» ~~в составе:~~
Вариант исполнения ~~2: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 24» ~~в составе:~~
Вариант исполнения ~~3: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 16» ~~в составе:~~
Изменение ввести заменой стр. 21, 22 и 24.

Раздел «12. Упаковка», стр. 102-103
Таблица 35, столбец 1 «Вариант исполнения»:
Вариант исполнения ~~1: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 96»
Вариант исполнения ~~2: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 24»
Вариант исполнения ~~3: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 16»
Изменение ввести заменой стр. 102-103.

Раздел «Оглавление», стр. 2-3
ОГЛАВЛЕНИЕ
1.ОПИСАНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ **Ошибка! Закладка не определена.**
1.1. НАИМЕНОВАНИЕ И СОСТАВ **Ошибка! Закладка не определена.**
1.2. НАЗНАЧЕНИЕ **Ошибка! Закладка не определена.**
1.3. ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ПОТРЕБИТЕЛЬ **Ошибка! Закладка не определена.**
1.4. ОПИСАНИЕ ЦЕЛЕВОГО АНАЛИТА **Ошибка! Закладка не определена.**

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

1.5. УСЛОВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ **Ошибка! Закладка не определена.**
1.6. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ **Ошибка! Закладка не определена.**
1.7. ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ **Ошибка! Закладка не определена.**
1.8. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ **Ошибка! Закладка не определена.**
1.9. ВОЗМОЖНЫЕ ПОБОЧНЫЕ ДЕЙСТВИЯ **Ошибка! Закладка не определена.**
1.10. РИСКИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11. КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.1. Обоснованность метода **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.2. Принцип метода **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.3. Клиническая значимость исследования **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4. Функциональные характеристики набора **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4.1. Типы выявляемых хромосомных аномалий **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4.2. Аналитические характеристики набора **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4.2.1. Аналитическая чувствительность **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4.2.2. Предел обнаружения **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4.2.3. Аналитическая специфичность **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4.2.4. Предел обнаружения уровня мозаицизма в многоклеточных образцах **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4.2.5. Повторяемость и воспроизводимость **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4.3. Процент позитивного согласия и процент негативного согласия набора **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4.4. Биоинформатические характеристики набора **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4.4.1 Длина прочтения, количество прочтений, количество прочтений на один образец **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4.4.2. Точность прочтения **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4.4.3. Средняя глубина покрытия референсного генома **Ошибка! Закладка не определена.**
1.11.4.4.4. Медиана абсолютных значений всех парных отклонений (показатель MAPD, Median of the Absolute values of all Pairwise Differences) **Ошибка! Закладка не определена.**
2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА **Ошибка! Закладка не определена.**
2.1. Варианты исполнения, состав и комплектность **Ошибка! Закладка не определена.**
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА **Ошибка! Закладка не определена.**
3.1. Внутренний контроль качества **Ошибка! Закладка не определена.**
4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ **Ошибка! Закладка не определена.**
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ **Ошибка! Закладка не определена.**
6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ **Ошибка! Закладка не определена.**
7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ **Ошибка! Закладка не определена.**
8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ **Ошибка! Закладка не определена.**
8.1. Подготовка и пулирование библиотек **Ошибка! Закладка не определена.**
8.2. Пулирование, очистка и количественное определение библиотек **Ошибка! Закладка не определена.**
8.3. Создание программы запуска секвенатора **Ошибка! Закладка не определена.**

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

8.4. Запуск станции пробоподготовки **Ошибка! Закладка не определена.**
8.5. Инициализация секвенатора **Ошибка! Закладка не определена.**
8.6. Очистка станции пробоподготовки **Ошибка! Закладка не определена.**
8.7. Анализ результатов секвенирования.....82
9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА **Ошибка! Закладка не определена.**
10. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОГРАММНОМ ОБЕСПЕЧЕНИИ **Ошибка! Закладка не определена.**
11. МАРКИРОВКА **Ошибка! Закладка не определена.**
12. УПАКОВКА **Ошибка! Закладка не определена.**
13. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ **Ошибка! Закладка не определена.**
14. БИБЛИОГРАФИЯ **Ошибка! Закладка не определена.**
15. ПЕРЕЧЕНЬ НАЦИОНАЛЬНЫХ НОРМАТИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ/ СТАНДАРТОВ **Ошибка! Закладка не определена.**
16. УТИЛИЗАЦИЯ.....106
17. ТРЕБОВАНИЯ К ОХРАНЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ.....106
ДОПОЛНЕНИЕ А Поиск и устранение неисправностей **Ошибка! Закладка не определена.**
ДОПОЛНЕНИЕ Б Дополнительные процедуры **Ошибка! Закладка не определена.**

Изменение ввести заменой стр. 2-3.

Версия документа

Изменена версия документа в нижнем колонтитуле: с 30.10.19 на 16.03.20.

Изменение ввести заменой стр. 1-115

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Пронумеровано, прошито и скреплено
_9_ лист (а/ов)
Генеральный директор
Акционерного общества
«Ферст Генетикс»

Н. А. Кузнецов

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

АО «Ферст Генетикс»

_____ Н.А. Кузнецов

16.03.2020

НАБОР РЕАГЕНТОВ «РЕПРОЛАЙН» ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ В ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТКАХ НА СИСТЕМЕ «F-GENETICS»

Краткое руководство по применению

Лист утверждения

СОГЛАСОВАНО

Заместитель заведующего

лабораторией

АО «Ферст Генетикс»

_____ Н.И. Исаева

16.03.2020

Подпись и дата	Инв. № дубл.	Взамен инв.№	Подпись и дата	Инв. № подл.

Изм.	Лист	№ докум.	Подпись	Дата

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

IVD

F GENETICS
First complex decisions

Краткое руководство

по применению набора реагентов **«РепроЛайн»** для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics»

ВНИМАНИЕ!

Перед использованием набора реагентов необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению. Инструкция размещена в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.f-genetics.com.

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

клетки трофэктодермального происхождения

REF **ПГТ-96, ПГТ-24, ПГТ-16**

АО "Ферст Генетикс", Россия, 115162,
г. Москва, ул. Шухова, д.14, стр.9, пом. 7,
тел. (499) 673-02-88,
e-mail: info@f-genetics.com

СОСТАВ

Вариант исполнения	Комплект реагентов/материалов/картриджей/чипов	Кол-во, шт.
Вариант исполнения «РепроЛайн 96»	1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1)	4
	2) набор материалов для станции пробоподготовки	4
	3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	4
	4) картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки	4
	5) набор растворов для секвенирования	1
	6) картридж с реагентами для секвенирования	4
	7) набор полупроводниковых чипов 530 (4 чипа в упаковке)	1
Вариант исполнения «РепроЛайн 24»	1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1)	1
	2) набор материалов для станции пробоподготовки	4
	3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	4
	4) картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки	4
	5) набор растворов для секвенирования	1
	6) картридж с реагентами для секвенирования	4
	7) набор полупроводниковых чипов 520 (4 чипа в упаковке)	1
Вариант исполнения «РепроЛайн 16»	1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 2)	3
	2) набор материалов для станции пробоподготовки	4
	3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	4
	4) картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки	4
	5) набор растворов для секвенирования	1
	6) картридж с реагентами для секвенирования	4
	7) набор полупроводниковых чипов 510 (4 чипа в упаковке)	1

КОМПЛЕКТНОСТЬ

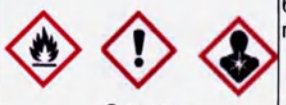
Компонент	Формат	Количество
Набор реагентов (вариант исполнения)	–	-
Инструкция по применению набора	в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.f-genetics.com	1
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в бумажном виде	1
Программное обеспечение «Ion Reporter», версия 5.10	Доступ к ПО, установленному на сервере "Ion Reporter", входящему в состав системы "F-Genetics", осуществляется по локальной сети	1

ХРАНЕНИЕ

	Компонент набора	Условия хранения
1	набор для приготовления библиотек ДНК	-30 - -10^{0}C
2	набор материалов для станции пробоподготовки	15 - 30^{0}C
3	картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	15 - 30^{0}C
4	картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки	-30 - -10^{0}C
5	набор растворов для секвенирования	15 - 30^{0}C
6	картридж с реагентами для секвенирования	-30 - -10^{0}C
7	набор полупроводниковых чипов	15 - 30^{0}C

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Состав набора

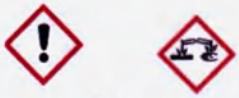
Компонент набора	Реагент/картридж	Объем	Количество	Описание
Вариант исполнения «РепроЛайн 96»				
1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1)[1], 4 шт.: **Опасно**	буфер для экстракции нуклеиновых кислот	480 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся зеленой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	буфер для реакции лизиса	460,8 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся фиолетовой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	смесь ферментов для лизиса клеток	19,2 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся желтой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	преамплификационный буфер	460,8 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся красной крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	ферменты для реакции преамплификации	19,2 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся белой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	амплификационный буфер	864 мкл	3 пробирки	Пробирка с закручивающейся оранжевой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	ферменты для амплификации	48 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся голубой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	вода без нуклеаз	432 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся бесцветной крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	набор баркодов 1-96	-	1 планшет	Профольгированный 96-луночный планшет, каждая из 96 лунок содержит прозрачную бесцветную жидкость объемом 20 мкл
2) набор материалов для станции пробоподготовки, 4 шт.:	планшет 96-луночный	-	1 планшет	Планшет 96-луночный из прозрачного пластика размером 12x8 см
	профольгированная крышка	-	1 крышка	Крышка профольгированная размером 13,3 x 9,3 см
	наконечники одноразовые (96 шт. в штативе)	-	1 штатив	Штатив с наконечниками (96 шт., в том числе 54 наконечника объемом 1000 мкл, 40 наконечников объемом 200 мкл, 2 прокалывателя)
	пробирки	-	12 штук в упаковке	Пробирки для разбивания эмульсии объемом 2 мл
	крышки для центрифуг	-	2 штуки	Крышки для центрифуг станции для пробоподготовки диаметром 12 см
	штатив с пробирками для модуля обогащения	-	1 штатив	В штативе 8 пробирок объемом 1,5 мл
	адаптер для чипа		1 адаптер	Адаптер для чипа
3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки[1], 4 шт.:  **Опасно**	картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	-	4 картриджа	Картридж содержит 24 профольгированные лунки, из них 8 лунок объемом 5 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость объемом 4 мл и 15 лунок объемом 2 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость объемом 1,5 мл, 1 лунка объемом 2 мл (третья в первом ряду) содержит прозрачную жидкость объемом 1 мл с осадком коричневого цвета

[1] Реагенты содержат опасные вещества. Информацию по опасным веществам и мерам предосторожности при работе с реагентами см. в разделе инструкции «Меры предосторожности и предупреждения».

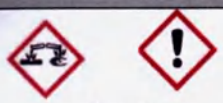
ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU
Версия 16.05.20

Компонент набора	Реагент/картридж	Объем	Количество	Описание
4) картридж с реактивами (ПГТ) для станции пробоподготовки[1], 4 шт.: **Опасно**	картридж с реактивами (ПГТ) для станции пробоподготовки	-	4 картриджа	Картридж содержит 20 профольгированных лунок, из них 4 лунки объемом 5 мл пустые, 15 лунок объемом 2 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость, 1 лунка (первая во втором ряду) содержат прозрачную розовую жидкость, а также 4 лунки с вставленными пробирками: позиция A: пустая прозрачная пробирка для образцов объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой; позиция B: прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся красной крышкой, содержащей 2M NaOH; позиция C: прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой, содержащая белый порошок; позиция D: пустая прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой.
5) набор растворов для секвенирования:	промывочный раствор, бутыль	1,5 л	4 бутыли	Бутыль из белого пластика, запаянная в фольгу, содержащая бесцветную жидкость
	раствор для очистки, бутыль	250 мл	1 бутыль	Бутыль из прозрачного пластика, содержащая бесцветную жидкость
6) картридж с реагентами для секвенирования[1], 4 шт.: **Опасно**	картридж с реагентами для секвенирования	-	4 картриджа	Картридж содержит 5 лунок фиолетового, черного, синего, зеленого и красного цветов, каждая из которых сообщается с отдельной емкостью с реагентами.
7) набор полупроводниковых чипов 530	чип полупроводниковый 530	-	4 чипа	Чипы, запаянные в индивидуальные фольгированные упаковки
К набору реагентов прилагаются краткое руководство по применению набора и паспорт качества				
Вариант исполнения «РепроЛайн 24»				
1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 1)[1], 1 шт.: **Опасно**	буфер для экстракции нуклеиновых кислот	480 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся зеленой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	буфер для реакции лизиса	460,8 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся фиолетовой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	смесь ферментов для лизиса клеток	19,2 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся желтой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	преамплификационный буфер	460,8 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся красной крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	ферменты для реакции преамплификации	19,2 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся белой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	амплификационный буфер	864 мкл	3 пробирки	Пробирка с закручивающейся оранжевой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	ферменты для амплификации	48 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся голубой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	вода без нуклеаз	432 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся бесцветной крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Компонент набора	Реагент/картридж	Объем	Количество	Описание
	набор баркодов 1-96	-	1 планшет	Профольгированный 96-луночный планшет, каждая из 96 лунок содержит прозрачную бесцветную жидкость объемом 20 мкл
2) набор материалов для станции пробоподготовки, 4 шт.:	планшет 96-луночный	-	1 планшет	Планшет 96-луночный из прозрачного пластика размером 12x8 см
	профольгированная крышка	-	1 крышка	Крышка профольгированная размером 13,3 x 9,3 см
	наконечники одноразовые (96 шт. в штативе)	-	1 штатив	Штатив с наконечниками (96 шт., в том числе 54 наконечника объемом 1000 мкл, 40 наконечников объемом 200 мкл, 2 прокалывателя)
	пробирки	-	12 штук в упаковке	Пробирки для разбивания эмульсии объемом 2 мл
	крышки для центрифуг	-	2 штуки	Крышки для центрифуг станции для пробоподготовки диаметром 12 см
	штатив с пробирками для модуля обогащения	-	1 штатив	В штативе 8 пробирок объемом 1,5 мл
	адаптер для чипа		1 адаптер	Адаптер для чипа
3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки, 4 шт.[1] **Опасно**	картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	-	4 картриджа	Картридж содержит 24 профольгированные лунки, из них 8 лунок объемом 5 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость объемом 4 мл и 15 лунок объемом 2 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость объемом 1,5 мл, 1 лунка объемом 2 мл (третья в первом ряду) содержит прозрачную жидкость объемом 1 мл с осадком коричневого цвета
4) картридж с реактивами (ПГТ) для станции пробоподготовки[1], 4 шт.  **Опасно**	картридж с реактивами (ПГТ) для станции пробоподготовки	-	4 картриджа	Картридж содержит 20 профольгированных лунок, из них 4 лунки объемом 5 мл пустые, 15 лунок объемом 2 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость, 1 лунка (первая во втором ряду) содержат прозрачную розовую жидкость, а также 4 лунки с вставленными пробирками: позиция A: пустая прозрачная пробирка для образцов объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой; позиция B: прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся красной крышкой, содержащей 2M NaOH; позиция C: прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой, содержащая белый порошок; позиция D: пустая прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой.
5) набор растворов для секвенирования:	промывочный раствор, бутыль	1,5 л	4 бутыли	Бутыль из белого пластика, запаянная в фольгу, содержащая бесцветную жидкость
	раствор для очистки, бутыль	250 мл	1 бутыль	Бутыль из прозрачного пластика, содержащая бесцветную жидкость
6) картридж с реагентами для секвенирования[1], 4 шт. **Опасно**	картридж с реагентами для секвенирования	-	4 картриджа	Картридж содержит 5 лунок фиолетового, черного, синего, зеленого и красного цветов, каждая из которых сообщается с отдельной емкостью с реагентами.
7) набор полупроводниковых чипов 520	чип полупроводниковый 520	-	4 чипа	Чипы, запаянные в индивидуальные фольгированные упаковки

Компонент набора	Реагент/картридж	Объем	Количество	Описание
К набору реагентов прилагаются краткое руководство по применению набора и паспорт качества				
Вариант исполнения «РепроЛайн 16»				
1) набор для приготовления библиотек ДНК (вариант 2)[1], 3 шт.: **Опасно**	буфер для экстракции нуклеиновых кислот	120 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся зеленой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	буфер для реакции лизиса	115,2 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся фиолетовой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	смесь ферментов для лизиса клеток	4,8 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся желтой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	преамплификационный буфер	115,2 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся красной крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	ферменты для реакции преамплификации	4,8 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся белой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	амплификационный буфер	648 мкл	3 пробирки	Пробирка с закручивающейся оранжевой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	ферменты для амплификации	12 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся голубой крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	вода без нуклеаз	432 мкл	1 пробирка	Пробирка с закручивающейся бесцветной крышкой, содержащая прозрачную бесцветную жидкость.
	набор баркодов 1-96	-	1 планшет	Профольгированный 96-луночный планшет, каждая из 96 лунок содержит прозрачную бесцветную жидкость объемом 20 мкл
2) набор материалов для станции пробоподготовки, 4 шт.:	планшет 96-луночный	-	1 планшет	Планшет 96-луночный из прозрачного пластика размером 12x8 см
	профольгированная крышка	-	1 крышка	Крышка профольгированная размером 13,3 x 9,3 см
	наконечники одноразовые (96 шт. в штативе)	-	1 штатив	Штатив с наконечниками (96 шт., в том числе 54 наконечника объемом 1000 мкл, 40 наконечников объемом 200 мкл, 2 прокалывателя)
	пробирки	-	12 штук в упаковке	Пробирки для разбивания эмульсии объемом 2 мл
	крышки для центрифуг	-	2 штуки	Крышки для центрифуг станции для пробоподготовки диаметром 12 см
	штатив с пробирками для модуля обогащения	-	1 штатив	В штативе 8 пробирок объемом 1,5 мл
	адаптер для чипа		1 адаптер	Адаптер для чипа
3) картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки[1], 4 шт.: **Опасно**	картридж с растворами для амплификации библиотек для станции пробоподготовки	-	4 картриджа	Картридж содержит 24 профольгированные лунки, из них 8 лунок объемом 5 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость объемом 4 мл и 15 лунок объемом 2 мл содержат прозрачную бесцветную жидкость объемом 1,5 мл, 1 лунка объемом 2 мл (третья в первом ряду) содержит прозрачную жидкость объемом 1 мл с осадком коричневого цвета
4) картридж с реактивами (ПГТ) для станции пробоподготовки[1], 4 шт.:	картридж с реактивами (ПГТ) для станции пробоподготовки	-	4 картриджа	Картридж содержит 20 профольгированных лунок, из них 4 лунки объемом 5 мл пустые, 15 лунок объемом 2 мл содержат прозрачную

Компонент набора	Реагент/картридж	Объем	Количество	Описание
 **Опасно**				бесцветную жидкость, 1 лунка (первая во втором ряду) содержат прозрачную розовую жидкость, а также 4 лунки с вставленными пробирками: позиция A: пустая прозрачная пробирка для образцов объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой; позиция B: прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся красной крышкой, содержащей 2M NaOH; позиция C: прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой, содержащая белый порошок; позиция D: пустая прозрачная пробирка объемом 1,5 мл с закручивающейся белой крышкой.
5) набор растворов для секвенирования:	промывочный раствор, бутыль	1,5 л	4 бутыли	Бутыль из белого пластика, запаянная в фольгу, содержащая бесцветную жидкость
	раствор для очистки, бутыль	250 мл	1 бутыль	Бутыль из прозрачного пластика, содержащая бесцветную жидкость
6) картридж с реагентами для секвенирования[1], 4 шт.: **Опасно**	картридж с реагентами для секвенирования	-	4 картриджа	Картридж содержит 5 лунок фиолетового, черного, синего, зеленого и красного цветов, каждая из которых сообщается с отдельной емкостью с реагентами.
7) набор полупроводниковых чипов 510	чип полупроводниковый 510	-	4 чипа	Чипы, запаянные в индивидуальные фольгированные упаковки
К набору реагентов прилагаются краткое руководство по применению набора и паспорт качества				

...ы ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

1. Работа должна проводиться в лаборатории, ...полняющей молекулярно-биологические (ПЦР) ...следования биологического материала.

2. При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор строго по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов анализа.

- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ следует проводить в отдельных помещениях (зонах) для пре-ПЦР и пост-ПЦР этапов инструкции. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Утилизировать и дезинфицировать реагенты и образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с внутренними правилами лаборатории по утилизации и дезинфекции.

- Утилизировать неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку[2], биологический материал[3], включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

ВНИМАНИЕ! При удалении отходов (пробирок и картриджей, содержащих продукты ПЦР и секвенирования) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

- Набор предназначен для однократного применения для проведения исследования указанного количества образцов (см. раздел «Варианты исполнения, состав и комплектность»).

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке.

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

- Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не смешивать реагенты разных серий.

- Не использовать набор по истечении срока годности.

- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.

- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.

- При контакте немедленно промыть пораженное место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь, рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

---

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

[3] Биологический материал, включая инструменты и предметы, загрязненные материалом, относятся к классу опасности медицинских отходов Б.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ТРАКЦИЯ И АМПЛИФИКАЦИЯ ОМНОЙ ДНК

стракция геномной ДНК

Подготовьте в пробирках 0,2 мл образцы исследуемого материала (от 1 до 10 клеток), помещенные в специализированный PBS буфер, общий объем которых составляет 2,5 мкл.
Отцентрифугируйте пробирки при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок.
2. Добавьте 2,5 мкл буфера для экстракции нуклеиновых кислот (пробирка с зеленой крышкой) в каждую пробирку, чтобы довести общий объем до 5 мкл.
3. Подготовьте отрицательные контрольные образцы (ОКО), поместив их в 2,5 мкл буфера для экстракции нуклеиновых кислот.
4. Приготовьте в пробирке объемом 0,6 мл (для наборов «РепроЛайн 16» и «РепроЛайн 24») и 1,5 мл (для набора «РепроЛайн 96») мастер-микс для экстракции в соответствии с таблицей, приведенной ниже. Для этого определите необходимый объем реагентов с учетом количества образцов (N) и ОКО. Непродолжительно вортексируйте содержимое пробирки с мастер-миксом. Затем отцентрифугируйте при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирки.

Компонент набора	Объем для одной реакции	Объем для N количества реакций[1]
Буфер для реакции лизиса (фиолетовая крышка)	4,8 мкл	N x 4,8 мкл x 1,1
Смесь ферментов для лизиса клеток (жёлтая крышка)	0,2 мкл	N x 0,2 мкл x 1,1

[1] Коэффициент 1,1 вводится с целью увеличения на 10% объема реагентов для компенсации ошибки пипетирования.

5. Добавьте 5 мкл мастер-микса для экстракции в каждую пробирку, содержащую образец (конечный объем должен составить 10 мкл).
6. Закройте плотно крышки пробирок. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок.
7. Инкубируйте образцы в термоциклере, используя следующую программу:

Температура	Время
75 °C	10 минут
95 °C	4 минуты
22 °C	хранение

8. Достаньте пробирки из термоциклера. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок. Поместите пробирки на лед или в блок для охлаждения.

Предварительная амплификация геномной ДНК

1. Приготовьте в предварительно помещенной на лед пробирке объемом 0,6 мл (для наборов «РепроЛайн 16» и «РепроЛайн 24») и 1,5 мл (для набора «РепроЛайн 96») мастер-микс для предварительной амплификации в соответствии с прописью, приведенной ниже. Необходимый объем реагентов рассчитайте с учетом количества образцов (N) и ОКО по таблице.

Компонент набора	Объем для одной реакции	Объем для N количества реакций [1]
Преампликационный буфер (красная крышка)	4,8 мкл	N x 4,8 мкл x 1,1
Ферменты для реакции преампрификации (белая крышка)	0,2 мкл	N x 0,2 мкл x 1,1

[1] Коэффициент 1,1 вводится с целью увеличения на 10% объема реагентов для компенсации ошибки пипетирования.

Непродолжительно перемешайте на вортексе мастер-микс для предварительной амплификации. Затем центрифугируйте при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирки.
2. Добавьте 5 мкл мастер-микса для амплификации в каждую пробирку (конечный объем должен составить 15 мкл).
3. Закройте плотно крышки пробирок. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок.
4. Инкубируйте образцы в термоциклере с нагреваемой крышкой, используя следующую программу:

Этап	Температура	Время [1]	Количество циклов
1	95°C	2 минуты	1
2	95°C	15 секунд	12
	15°C	50 секунд	
	25°C	40 секунд	
	35°C	30 секунд	
	65°C	40 секунд	
	75°C	40 секунд	
3	4°C	хранение	1

[1] Время программы составляет приблизительно 1 час.

5. Достаньте пробирки из термоциклера. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок. Положите пробирки на лед или в блок для охлаждения.

...лификация библиотек

...сли вы выбрали вариант ПЦР без режима ...льного времени - сразу перейдите к п 2. и вместо ...еси красителей, используйте воду без нуклеаз.

...Если вы выбрали вариант проведения ПЦР в ...ежиме реального времени – перейдите к п. 1.

1. Для проведения ПЦР в режиме реального времени, подготовьте смесь красителей SYBR Green I/ROX, 25 мкМ.

Для приготовления смеси красителей:

а. Приготовьте десятикратный рабочий раствор 10xSYBR Green I. Для этого разведите стоковый раствор в буфере lowTE, из расчета 1 часть SYBR Green I к 1000 частей воды без нуклеаз.

б. Смешайте рабочие растворы SYBR Green I и референсного красителя ROX, 25 мкМ в соответствии с таблицей, приведенной ниже:

Компонент	Объем для одной реакции	Объем для N количества реакций [1]
Десятикратный рабочий раствор SYBR Green I	0,5 мкл	N x 0,5 мкл x 1,1
Референсный краситель ROX, 25 мкМ	1,0 мкл	N x 1,0 мкл x 1,1
Вода без нуклеаз (прозрачная крышка)	1,0 мкл	N x 1,0 мкл x 1,1

[1] Коэффициент 1,1 вводится с целью увеличения на 10% объема реагентов для компенсации ошибки пипетирования.

2. Подготовьте планшеты с набором баркодов 1-24 или 1-96. Для этого:

а. Разморозьте планшет в течение 10 минут при комнатной температуре.

б. Затем отцентрифугируйте его при 1 000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне лунки.

в. Обработайте герметизирующую фольгу на планшете 70% этанолом. Затем подождите, пока она высохнет.

3. Приготовьте в предварительно помещенной на лед пробирке объемом 5 мл мастер-микс для амплификации в соответствии с таблицей, приведенной ниже. Необходимый объем реагентов рассчитайте с учетом количества образцов (N) и ОКО по таблице.

Компонент набора	Объем для одной реакции	Объем для N количества реакций [1]
Амплификационный буфер (оранжевая крышка)	27 мкл	N x 27 мкл x 1,1
Ферменты для амплификации (синяя крышка)	0,5 мкл	N x 0,5 мкл x 1,1
Смесь красителей SYBR Green I/ ROX, 25 мкМ[2]	2,5 мкл	N x 2,5 мкл x 1,1

[1] Коэффициент 1,1 вводится с целью увеличения на 10% объема реагентов для компенсации ошибки пипетирования.

[2] При выборе варианта амплификации с помощью ПЦР с анализом по конечной точке - замените эти реагенты на воду без нуклеаз.

Непродолжительно перемешайте мастер-микс для амплификации на вортексе. Затем отцентрифугируйте при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирки.

4. Откройте крышки пробирок с образцами, затем добавьте 30 мкл мастер-микса для амплификации в каждую пробирку (конечный объем реакции должен составить 45 мкл).

5. Проткните наконечником фольгу над необходимыми лунками планшета с набором баркодов. С помощью нового наконечника отберите 5 мкл раствора с соответствующим баркодом для каждого образца, меняя наконечники дозатора после каждого образца (конечный объем реакции составит 50 мкл).

ВНИМАНИЕ! В рамках одного запуска номера баркодов не должны повторяться!

6. Установите дозатор на 30 мкл и перемешайте пипетированием содержимое пробирок (меняя наконечники дозатора после каждого образца). Следите за тем, чтобы в образцах не образовывались пузырьки воздуха.

7. Закройте плотно крышки пробирок. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок.

8. Инкубируйте образцы в термоциклере с нагреваемой крышкой, используя следующую программу:

Этап	Температура	Время [1]	Количество циклов
1	95°C	3 минуты	1
2	95°C	20 секунд	4
	50°C	25 секунд	
	72°C	40 секунд	
3[2] детекция флуоресценции	95°C	20 секунд	12
	72°C	55 секунд	
4	4°C	хранение	1

[1] Время амплификации составляет приблизительно 30 минут.

[2] Если амплификация осуществляется с детекцией в реальном времени.

9. Выньте пробирки из термоциклера. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок. Положите пробирки на лед или в блок для охлаждения.

ВНИМАНИЕ! Продолжите работу в пост-ПЦР Зоне.

10. Необходимо провести анализ проверки качества амплифицированных библиотек с помощью электрофореза. Для этого нанесите на 2 % агарозный гель по 10 мкл каждой амплифицированной библиотеки и проанализируйте.

ВНИМАНИЕ: Образцы библиотек могут храниться при температуре от - 30°C до -10°C перед переходом к следующему этапу.

ИРОВАНИЕ, ОЧИСТКА И ИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЛИОТЕК

Примечание: Мы рекомендуем вам проводить процедуры пулирования, очистки пула и количественной оценки полученной библиотеки в один день. Продукты полногеномной амплификации могут храниться на -30 - -10.

Пулирование библиотек

1. Действие по пулированию библиотек зависит от того, какой был выбран ранее метод амплификации:

Если вы используете	Действие
Стандартную ПЦР с анализом по конечной точке	Непродолжительно перемешайте пробирки с образцами на вортексе. Затем отцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок. Пулируйте в новой пробирке 0,2 мл (для наборов «РепроЛайн 16» и «РепроЛайн 24») или в 0,6 мл (для набора «РепроЛайн 96») образцы, для этого внесите по 5 мкл каждой приготовленной библиотеки (конечный объем должен составлять 5*N мкл) Непродолжительно перемешайте пробирку на вортексе. Затем отцентрифугируйте при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирки.
ПЦР в режиме реального времени	Непродолжительно перемешайте пробирки с образцами на вортексе. Затемотцентрифугируйте их при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирок. Пулируйте в новой пробирке 0,2 мл (для наборов «РепроЛайн 16» и «РепроЛайн 24») или 0,6 мл (для набора «РепроЛайн 96») образцы, для этого рассчитайте среднее значение C_t для всех библиотек, которые вы хотите пулировать и скорректируйте объемы библиотек, которые отклоняются от среднего значения C_t, следуя следующим инструкциям: • Библиотеки, для которых отклонение C_t от среднего составляет не больше единицы, следует внести в пробирку в количестве 5 мкл (стандартный объем). • Библиотеки, для которых отклонение C_t от среднего составляет >3, должны быть исключены из пула. • Библиотеки, для которых отклонение C_t от среднего находится в диапазоне $\geq$1 до $\leq$3, следует добавлять в количестве 10 мкл (в два раза больше стандартного объема). • Не корректируйте более 25% библиотек в пуле (кроме библиотек, которые отклоняются на > 3 C_t s от среднего значения). Если более 25% библиотек отклоняются от среднего значения на 1 или большее значение C_t s, скорректируйте библиотеки с более существенными отклонениями C_t до тех пор, пока не будет достигнут порог 25%. Непродолжительно перемешайте пробирку на вортексе. Затем отцентрифугируйте при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирки.

2. Перенесите 40 мкл пула библиотек в пробирку 0,2 мл для проведения процедуры очистки.

Примечание 1: При пулировании менее 8 библиотек, объем пула составляет менее 40 мкл. В этом случае добавьте необходимое количество воды без нуклеаз, чтобы довести окончательный объем до 40 мкл до начала очистки пула библиотек.

Примечание 2: Сохраните пробирки из п. с образцами после отбора необходимого количества каждой библиотеки (для восстановления из этой точки).

Очистка пула библиотек

1. Инкубируйте пробирку с пулом библиотек в термоциклере с нагреваемой крышкой, используя следующую программу:

Этап	Температура	Время	Количество циклов
1	70°C	2 минуты	1
2	22°C	хранение	1

2. По окончании инкубации отцентрифугируйте при 1,000 x g в течение 30 секунд для того, чтобы собрать жидкость на дне пробирки. Затем перенесите пул библиотек в новую 1,5 мл пробирку.
3. Добавьте к пулу библиотек однократный объем 40 мкл магнитных частиц «AMPure XP», предварительно нагретых до комнатной температуры.
4. Непродолжительно перемешайте смесь на вортексе. Затем инкубируйте при комнатной температуре 5 минут.
5. Поместите пробирку на магнитный штатив. Подождите в течение 5 минут, пока магнитные частицы осядут на стенке пробирки.
6. Не снимая пробирку с магнитного штатива, аккуратно выполните следующие действия:

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

удалите супернатант не касаясь наконечником магнитных частиц.
г. добавьте 250 мкл свежеприготовленного 70% этанола и инкубируйте 30 секунд.
д. удалите супернатант, не касаясь наконечником магнитных частиц.
е. повторите шаги б-в и после второй отмывки полностью удалите остатки спирта со дна пробирки.
д. высушите пробирку с магнитными частицами при комнатной температуре 3 - 4 минуты.
5. Поместите пробирку в обычный штатив и добавьте 40 мкл буферного раствора lowTE, перемешайте пипетированием и инкубируйте 1 минуту при комнатной температуре.
6. Поместите пробирку на магнитный штатив. Затем подождите 2-3 минуты, пока магнитные частицы не осядут на стенке пробирки. Перенесите 35 мкл супернатанта в новую 1,5 мл пробирку и затем на лед или холодный блок.

Количественное определение библиотек

1. Определите концентрацию (нг/мкл) пула библиотек с помощью фотометра «NanoDrop 2000».
2. Перед началом измерения выберите «DNA-50» и единицы измерения «ng/ul» Добавьте 1 мкл воды без нуклеаз на специальную подложку прибора для разовой калибровки (установления нулевого значения). Опустите плечо прибора и нажмите кнопку «Blank». После этого протрите каплю чистой сухой, безворсовой лабораторной салфеткой. Проделайте эту процедуру еще один раз. Осторожно провортексируйте/перемешайте пипеткой пробирку с пулом библиотек. Затем нанесите 1 мкл пула библиотек на специальную подложку прибора, закройте плечо прибора и нажмите «Measure». Протрите измерительную подложку с помощью сухой, безворсовой лабораторной салфетки, и прибор готов к следующему образцу.
3. С помощью программного обеспечения к прибору после измерения выдается график измерения и концентрация, основанная на поглощении при длине волны 260 нм. Также программное обеспечение прибора выдает значение 260/280, которое является коэффициентом поглощения при 260 нм и 280 нм. Для ДНК пороговое значение коэффициента обычно 1.8.
4. Зафиксируйте получившийся результат.
5. Используя полученное значение концентрации (нг/мкл) определите молярную концентрацию пула библиотек. Для этого переведите нг/мкл в нМ, умножив значения нг/мкл на 6,06 нмоль/мг.
6. Разведите пул библиотек до рабочей молярной концентрации (РМК) 1 нМ.

ВНИМАНИЕ! Разведенные пулы библиотек и неразведенные стоковые растворы пулов библиотек могут храниться в течение 1 недели при температуре 4°C.

СОЗДАНИЕ ПРОГРАММЫ ЗАПУСКА СЕКВЕНАТОРА

1. Зарегистрируетесь на сервере «Torrent Server» через браузер.
2. Нажмите на вкладку **«Plan» (Запланировать)**. Затем выберите вкладку **«Reproductive» (Репродуктивный)** в списке приложений, расположенных в левой части страницы.
3. Выберите **«Ion ReproSeq Aneuploidy - Ion S5 System»** из списка под заголовком **«Template Name» (Название образца).**
4. На этапе **«Plan» (Запланировать)** осуществите следующие действия:
а. Введите новое **«Run Plan Name»** (**Название запуска**) (если необходимо).
б. Выберите референсную последовательность генома человека (**hg19(Homo sapiens)**) из ниспадающего меню **«Reference Library» (Референс).**
в. Выберите **«None» (Нет)** из выпадающего меню **«Target Regions» (Таргетные участки)** и «**Hotspot Regions» (Горячие регионы).**
г. Введите номера баркодов, которые вы использовали при подготовке образцов (если баркод образца отличается от автоматически предложенного программой, его можно поменять, нажав на стрелочку справа и выбрав нужный номер баркода из выпадающего меню).
д. Введите уникальные названия образцов напротив каждого используемого баркода. Не следует использовать названия, предложенные программой по умолчанию (например, «Образец 1», «Образец 2» и т.д.), поскольку это может затруднить в дальнейшем идентификацию образцов.
5. На этапе «**Kits» (Наборы)** проверьте сделанный выбор и внесите изменения в соответствии с рабочим циклом:
а. Выберите «**Ion S5»** в ниспадающем меню **«Instrument» (Прибор)**, если она не выбрана автоматически.
б. Выберите необходимый тип чипа, который вы используете.
в. Выберите набор «**Ion SingleSeq»** из ниспадающего меню **«Library Kit Type» (Тип наборов библиотек).**
г. Выберите **Ion ReproSeq PGS Kits-Chef** (**Набор для ПГТ Ion ReproSeq Chef**) из ниспадающего меню **«Template Kit» (Набор матриц).**
д. Выберите **Ion S5 ExT Sequencing Kit** из ниспадающего меню **«Sequencing Kit» (Набор для секвенирования).**
е. Выберите требуемый набор баркодов:
- **Набор баркодов 1-96 (по умолчанию)**
- **Набор баркодов 1-24**

ж. Выберите значение 250 напротив показателя **«Циклы» («Flows»)** в и нажмите кнопку «**Далее» (Next).**
з. Выберите необходимые параметры на этапе **Projects** (Проекты) и нажмите кнопку **Next (Далее).**
6. Во вкладке **«Запланировать» (Plan)** нажмите **«Plan Run» (Запланировать запуск)** в нижнем правом углу для того, чтобы сохранить **Запланированный запуск**. Запуск будет отображён на странице **«Planned Runs» (Запланированные запуски)** под введенным вами названием.

ЗАПУСК СТАНЦИИ ПРОБОПОДГОТОВКИ

Подготовка расходных материалов

1. Распакуйте картридж с реагентами (ПГТ) для станции пробоподготовки за 45 минут перед использованием. Подождите, пока картридж нагреется до комнатной температуры.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

МАНИЕ! Картридж с реагентами должен рживаться в течение 45 минут при комнатной пературе перед использованием.

Извлеките другие картриджи и материалы из аковки. Затем разместите их на столе рядом со анцией пробоподготовки.

ЗНИМАНИЕ! Перед использованием, аккуратно постучите по картриджу с реагентами и картриджу с растворами для того, чтобы реагенты переместились на дно пробирки.

Добавление библиотеки в пробирку для образцов

1. С помощью дозатора перенесите 4 мкл пула библиотек с молярной концентрацией 1 нМ в пробирку для образцов библиотек (пробирка с штрихкодом), находящаяся в положении А на картридже с реагентами (ПГТ). Добавьте 46 мкл воды без нуклеаз, чтобы получить концентрацию 80 пМ. Пропипетируйте 5 раз, размешивая раствор.
2. Закройте крышкой пробирку с образцами библиотек и храните ее во льду до тех пор, пока вы не будете готовы загрузить пробирку в картридж с реагентами и в станцию пробоподготовки.

Загрузка станции пробоподготовки

ВАЖНО! • Режимы номинальной частоты вращения центрифуги предназначены для предоставленных люлек и рекомендованных чипов, пробирок и реагентов для подготовки образцов.

• Центрифуга для загрузки чипа предназначена для работы при указанных частотах вращения, которые подходят для определенных люлек, чипа, адаптера и противовеса для чипов. Центрифуга должна быть сбалансирована по нагрузке. Необходимо предпринять меры, чтобы надлежащим образом загрузить люльку. В случае высокого уровня вибрации, убедитесь в том, что все компоненты правильно установлены и роторы правильно сбалансированы.

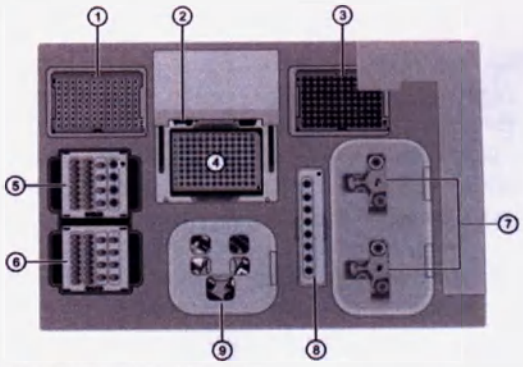
• Используйте только материалы, которые входят в набор реагентов «РепроЛайн», для номинальной частоты вращения центрифуги. Не снимайте или не заменяйте роторы. Проверяйте люльки перед каждым использованием для того, чтобы обеспечить нормальную работу.

• Убедитесь в том, что изделие включено и было очищено после последнего использования.

• Убедитесь в том, что все компоненты очищены и высохли перед загрузкой в станцию пробоподготовки.

• Убедитесь в том, что компоненты станции для реагентов и растворов являются сухими и не содержат конденсата перед загрузкой компонентов.

Выполните нижеописанные процедуры для того, чтобы загрузить станцию пробоподготовки. Полностью загруженная станция показана на рисунке ниже:



(1) Новый штатив с наконечниками
(2) Профольгированная крышка (установлена)
(3) Штатив для пустых наконечников (перемещен из позиции с новым штативом (1)).
(4) Планшет 96-луночный
(5) Картридж с реагентами (ПГТ)
(6) Картридж с растворами для амплификации библиотек
(7) Центрифуги для регенерации (извлечения образцов) и крышки для центрифуг
(8) Штатив с пробирками для модуля обогащения
(9) Центрифуга для загрузки чипа: Адаптер/ чип и противовес для чипов.

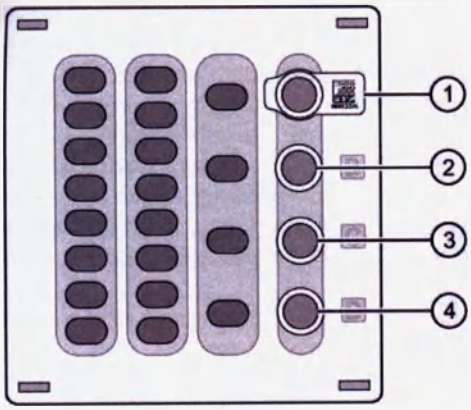
Загрузка штативов с наконечниками и планшета для ПЦР

1. Нажмите кнопку ⏏ (Открыть дверцу) на сенсорном экране изделия для того, чтобы отрыть дверцу. Затем подождите, пока защелка не откроется.
2. Поднимайте дверцу прибора вверх до тех пор, пока не сработает механизм блокировки.
3. Установите пустой штатив из-под наконечников от предыдущего запуска в положение «Использованные наконечники». Затем смените перчатки.
4. Распакуйте новый штатив с наконечниками и снимите крышку для того, чтобы открыть наконечники. Затем установите в положение «Новые наконечники».
5. Переместите защелку вперед для того, чтобы поднять зажимную скобу. Разместите штатив с наконечниками в положение «Новые наконечники». Опустите скобу, затем переведите защелку в заднее положение для того, чтобы зафиксировать штатив в определенном положении.
6. Загрузите планшет 96-луночный в блок для образцов термоциклера. Затем вставьте новую профольгированную крышку под автоматическую нагреваемую крышку.

Загрузка картриджей с реагентами и растворами

1. Аккуратно постучите по картриджу с реагентами на столе для того, чтобы собрать реагенты на дне пробирок.
2. Загрузите картридж в станцию для реагентов таким образом, чтобы он прочно зафиксировался в необходимом положении и располагался ровно на платформе.
3. Снимите колпачок с пробирки с образцами библиотек, которая содержит 50 мкл разведенной библиотеки, и установите ее в позицию А на картридже с реагентами.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



(1) Позиция A (Пробирка для образцов)
(2) Позиция B (2M NaOH)
(3) Позиция C (Полистирольные частицы)
(4) Позиция D (пустая пробирка)

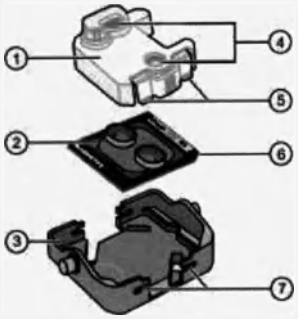
4. Снимите колпачок с пробирки 2M NaOH которая находится в позиции B, пробирки, содержащей частицы в позиции C, а также пустой пробирки в позиции D.
5. Аккуратно постучите по картриджу с растворами для того, чтобы собрать реагенты на дне пробирок.
6. Установите картридж с растворами в станцию, таким образом, чтобы он был на одном уровне с платформой.

Загрузка пробирок и штатива с пробирками для модуля обогащения

1. Установите по шесть пробирок в каждую центрифугу для регенерации (извлечения образцов).
2. Установите крышку на каждую центрифугу, отрегулировав положение крепления таким образом, что оно совпадало с углублением на платформе. Затем вставьте ее в нужное положение. Убедитесь в том, что крышки полностью вставлены, слегка нажимая на них вдоль всего периметра.
3. Закройте откидную крышку центрифуги для регенерации (извлечения образцов). Убедитесь в том, что порт крышки размещен в направлении задней части прибора.
4. Установите штатив с пробирками для модуля обогащения. Затем плотно прижмите штатив для того, чтобы он был на одном уровне с платформой.

Загрузка центрифуги для загрузки чипов

1. Установите чип для секвенирования в люльку центрифуги. Затем прикрепите адаптер для чипа к устройству.



1. Адаптер для чипа
2. Чип
3. Люлька
4. Порты (выровнены по отношению к чипу)
5. Крепежи
6. Закрепленный угол (выровнен по отношению к люльке)

7. Разъемы

а. Разместите чип в люлькедля загрузки чипов. Затем выровняйте лунки адаптера для чипа по отношению к лункам чипа, расположив адаптер на чипе в таком положении, чтобы был виден баркод.
б. Разместите адаптер на чипе. Затем вставьте встроенные крепежи на конце адаптера в разъемы люльки.
в. Аккуратно прижимайте гибкие крепежи на другом конце адаптера к разъемам люлькидо тех пор, пока адаптер не зафиксируется в определенном положении.
г. Убедитесь в том, что крепежи на всех четырех углах адаптера вставлены в разъемы люльки центрифуги. Установка будет считаться неверной, если адаптер прикреплен непрочно.
2. Установите конструкцию адаптер/чип/люлькав позицию 1 на центрифуге для загрузки чипов.
3. Установите противовес для чипа в позицию 2 на центрифуге для загрузки чипов.
4. Убедитесь в том, что центрифуга сбалансирована по нагрузке, люльки для чипа прочно закреплены и расположены на центрифуге таким образом, что при соприкосновении они поворачиваются наружу на 90°. Затем закройте крышку центрифуги для загрузки чипа.

Проверка правильности установки материалов

Прежде чем продолжить работу:

- Убедитесь в том, что каждый картридж находится в правильном месте и имеет верное расположение.
- Нажмите на каждый картридж для проверки надёжности их установки.
- Убедитесь в том, что с пробирок в картридже с реагентами (ПГТ), включая пробирки 2M NaOH в позиции C, сняты колпачки, а сами пробирки надежно закреплены.
- Убедитесь в том, что крышки центрифуги правильно установлены; порт должен быть направлен в сторону задней части изделия.
- Убедитесь в том, что люльки для чипов и пробирок правильно установлены в кронштейнах роторов центрифуг для загрузки чипов и центрифуг для регенерации (извлечения образцов), а также в том, что расходные материалы правильно расположены.

Запуск станции пробоподготовки

1. Убедитесь в том, что вы загрузили станцию пробоподготовки всеми картриджами, материалами и чипами.
2. В главном окне станции нажмите кнопку **«Set up run» (Настройка запуска)**.
3. Нажмите кнопку **«Step by Step» (Поэтапно)** для того, чтобы поэтапно настроить станцию или нажмите кнопку **«Quick Start» (Быстрый запуск)** для того, чтобы пропустить окна настройки станции.
4. Следуйте инструкциям на экране. В случае появления соответствующего сообщения, закройте дверцу прибора, сначала подняв ее для разблокировки. Затем опускайте дверцу, пока замок не заблокируется. После закрытия дверцы, активируется система изображения.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

При появлении соответствующего сообщения, нажмите кнопку **«Start check» (Начать проверку)** для того, чтобы начать сканирование платформы. Прибор сканирует штрих-коды всех расходных материалов и реагентов с целью проверки их наличия и совместимости.

6. По завершении сканирования платформы нажмите кнопку **«Next» (Далее)** для того, чтобы вывести на экран окно **«Data Destination» (Данные для передачи).**

7. Убедитесь в том, что прибор отображает верный тип набора, тип чипа, штрих-код чипа, и запланированный запуск. Если на экране не отображается правильный Запланированный запуск, откройте ниспадающее меню, чтобы выбрать необходимый Запланированный запуск. Затем нажмите кнопку **«Next» (Далее).**

8. В окне **«Run Options» (Варианты работы)** выберите необходимую опцию. Затем, если необходимо, введите время окончания рабочего цикла после нажатия на правом поле, в котором отображается время рабочего цикла. При этом на экране появится диалоговое окно для ввода времени окончания рабочего цикла.

9. В окне **«Run Options» (Опции запуска)** нажмите кнопку **«Start run» (Старт запуска)** для того, чтобы начать запуск.

10. Инициализируйте секвенатор, по меньшей мере, за 50 минут до завершения загрузки чипа в станцию пробоподготовки.

11. Если вы приостанавливаете запуск для анализа эффективности подготовки матрицы, уберите тестируемый образец, если появляется соответствующее требование на станции пробоподготовки (приблизительно 4 часа 15 минут).

а. Если появляется соответствующее сообщение, требующее удалить образец контроля качества, откройте дверцу прибора.

б. Перенесите образец контроля качества (весь объем) с позиции А картриджа с реагентами на платформе прибора в новую промаркированную микроцентрифужную пробирку.

в. Если вы проводите оценку качества обогащенного образца, перенесите образец контроля качества с позиции Е штатива с пробирками для модуля обогащения в новую промаркированную микроцентрифужную пробирку. г. Проанализировать образец контроля качества можно с использованием методом цитометрии в соответствии с инструкцией по применению прибора.

е. Закройте дверцу прибора и нажмите кнопку **«Continue» (Продолжить)** для того, чтобы завершить запуск.

12. После завершения запуска, выгрузите станцию пробоподготовки и сразу проведите процедуру секвенирования чипов. Вы можете собрать образцы контроля качества из картриджей с реагентами и/или картриджей для обогащения, если вы этого еще не сделали.

Выгрузка чипа для секвенирования

1. Откройте дверцу станции:

а. На сенсорном экране станции, нажмите (Откройте дверцу). Затем подождите, пока защелка не откроется.

б. Поднимайте дверцу станции вверх до тех пор, пока на сработает механизм блокировки.

2. Откройте крышку центрифуги для загрузки чипа. Затем снимите конструкцию адапатер/чип/люлька со станции пробоподготовки.

а. Снимите блок адаптер/чип/люльку с центрифуги для загрузки образцов.

б. Прижмите оба конца адаптера для чипа. Затем снимите его.

в. Возьмите чип за края, аккуратно выньте его из люльки и положите на чистую поверхность. Затем установите люльку обратно в центрифугу для загрузки чипа.

3. Закройте дверцу станции, сначала слегка подняв ее для разблокировки. Затем опустите дверцу и прижимайте ее до тех пор, пока замок не заблокируется.

4. Загрузите чип в секвенатор и сразу начните процедуру секвенирования.

ВНИМАНИЕ! Если вы не можете сразу начать процедуру секвенирования или планируете секвенировать одновременно два чипа, поместите чип в отдельный контейнер и храните при температуре 4°C, пока вы не будете готовы секвенировать его (максимум до 6-8 часов).

Если вы собираетесь хранить загруженные чипы, достаньте чип из контейнера и поместите его на чистую поверхность в темное помещение для того, чтобы нагреть его до комнатной температуры в течение, минимум, 20 минут перед началом запуска.

ИНИЦИАЛИЗАЦИЯ СЕКВЕНАТОРА

Инициализация занимает около 50 минут.

Действия перед началом работы

Секвенаторы **«F-Genetics Плюс»** и **«F-Genetics»** могут проверять совместимость каждого чипа и расходного материала, которые загружаются во время инициализации и секвенирования, а также срок годности данных компонентов. Для того чтобы предотвратить исключения во время инициализации, проверьте информацию о каждом расходном материале перед загрузкой в прибор.

- Распакуйте картридж с реагентами для секвенирования за 45 минут перед использованием. Подождите, пока картридж нагреется до комнатной температуры.

Не доставайте картридж с реагентами для секвенирования из упаковки, если вы не собираетесь его использовать, чтобы можно было вернуть неиспользуемый картридж в место для хранения в случае отсрочки цикла секвенирования.

- Распакуйте раствор для очистки. Переверните сосуд 5 раз. Затем покрутите сосуд под углом для того, чтобы тщательно смешать содержимое.
- Снимите красные колпачки с бутылей с промывочным раствором и раствором для очистки непосредственно перед установкой на прибор.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

а необходима ручная очистка секвенатора.
енаторы «F-Genetics Плюс» и «F-Genetics» даются в очистке перед инициализацией. Данная истка обычно осуществляется автоматически сле завершения предыдущей процедуры квенирования. Если проводятся две процедуры квенирования, следует проводить очистку после второй процедуры секвенирования. Однако, если напротив поля **«Enable post-run clean» (Очистка после секвенирования)** снята галочка для того, чтобы провести второй цикл секвенирования, но при этом второй цикл не проводится, инициализация прибора не будет осуществляться до тех пор, пока не будет проведена ручная очистка. См. Дополнение Б. 2. Ручная очистка секвенатора «Ручная очистка секвенатора» на странице 92, чтобы получить дополнительную информацию о ручной очистке.

Если секвенаторы «**F-Genetics Плюс**» или «**F-Genetics**» выполнили инициализацию, и цикл секвенирования не проводится в течение 24 часов, или если цикл секвенирования не запускается в результате сбоя питания, не осуществляйте ручную очистку. Перед повторной инициализацией необходимо перезапустить прибор. См. «Дополнение Б. 3. Перезапуск прибора с инициализированным и неиспользованным картриджем с реагентами для секвенирования, для того, чтобы получить дополнительную информацию.

Инициализация секвенатора

1. В главном меню на сенсорном экране секвенатора нажмите кнопку **«Initialize» (Инициализировать).** При этом открываются зажимы для дверцы, чипа и картриджа с реагентами.
2. В случае появления соответствующего сообщения, снимите бутыль с промывочным раствором для того, чтобы получить доступ к емкости для отходов. Затем опустошите емкость для отходов.
3. Повторно установите пустую емкость для отходов.
4. Замените картридж с реагентами для секвенирования на новый картридж, который нагрет до комнатной температуры.
5. Убедитесь в том, что новая бутыль с промывочным раствором тщательно взболтана. Затем снимите колпачок и установите бутыль.
6. Убедитесь в том, что чип для секвенирования, использованный в предыдущем рабочем цикле, надлежащим образом закреплен в зажиме и вставлен до упора.
7. Если необходимо, установите новую бутыль с раствором для очистки.
8. Закройте дверцу и нажмите кнопку **«Next» (Далее).**
9. После завершения инициализации (приблизительно 50 минут), нажмите кнопку **«Home» (Главный экран).**

Теперь прибор готов для секвенирования.

НАЧАЛО ПРОЦЕДУРЫ СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Мы рекомендуем секвенировать загруженные чипы с помощью секвенатора «**F-Genetics Плюс**» и «**F-Genetics**» сразу после завершения инициализации прибора. Однако, успешное секвенирование может осуществляться в течение 24 часов после инициализации прибора.

1. После завершения инициализации, нажмите кнопку **«Run» (Запуск)** на сенсорном экране прибора. Дверца и зажим для чипа открываются.
2. Достаньте использованный чип для секвенирования. Затем закрепите чип, загруженный станции пробоподготовки перед данным секвенированием, в зажим.
3. Задвиньте зажим, закройте дверцу и нажмите кнопку **«Next» (Далее).**
4. Убедитесь в том, что дверца прибора закрыта. Затем нажмите кнопку **«Start run» (Старт запуска)** для того, чтобы начать цикл секвенирования.

ВНИМАНИЕ! Во время рабочего цикла не открывайте дверцу и не прикасайтесь к ее поверхности. Прикосновение к прибору во время секвенирования может отрицательно сказаться на качестве измерения.

После завершения секвенирования прибор автоматически проводит процедуру очистки, если в поле **«Enable post-run clean» (Провести очистку после рабочего цикла)** стоит галочка. После очистки на сенсорном экране появляется главное меню.

В случае проведения секвенирования второго чипа в рамках одной инициализации начните второй цикл в течение 24 часов с момента начала инициализации.

ОЧИСТКА СТАНЦИИ ПРОБОПОДГОТОВКИ

ВАЖНО! Очищайте станцию пробоподготовки как описано на страницах ниже после каждого рабочего цикла. Для того, чтобы предотвратить загрязнение, не используйте изделие без предварительной очистки.

Удаление и утилизация использованных расходных материалов

1. Нажмите кнопку ⏏ (открыть дверцу) на сенсорном экране прибора. Подождите пока защелка не откроется.
2. Поднимите дверцу прибора вверх до тех пор, пока не сработает механизм блокировки.
3. Снимите планшет 96-луночный с блока для образцов термоциклера.
4. Снимите блок с использованными наконечниками с позиции для пустых наконечников.
5. Переместите картридж с пустыми наконечниками в позицию для пустых наконечников.
6. Снимите и удалите
   - Картридж с реагентами
   - Картридж с растворами
   - Штатив с пробирками для модуля обогащения
7. Снимите, а затем удалите материалы с центрифуг для регенерации (извлечения образцов), включая:
   - Крышки для центрифуг
   - Пробирки
8. Снимите противовес для чипов с центрифуги для загрузки чипов. Не удаляйте его.
9. Закройте крышку центрифуги для загрузки чипов.

Проверка и очистка центрифуг для регенерации (извлечения образцов) и люлек

1. Проверьте центрифуги для регенерации (извлечения образцов). Затем очистите компоненты в случае наличия избыточного количества жидкости как описано в инструкции по применению набора.
2. Затем закройте крышку центрифуги.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ало процедуры очистки

акройте дверцу прибора, сначала слегка подняв для разблокировки, а затем опустите вниз до тех р, пока замок не заблокируется.

Для того, чтобы начать процедуру очистки, ажмите кнопку **«Next» (Далее)** на сенсорном экране станции для пробоподготовки, который загорается после завершения рабочего цикла.

3. Убедитесь в том, что вы удалили все расходные материалы из станции для пробоподготовки, кроме пустого штатива для наконечников, который находится в позиции для пустых наконечников. Затем нажмите кнопку **«Next» (Далее).**

4. Если дверца закрыта, нажмите кнопку **«Start» (Старт)**. Прибор начнет процедуру сканирования платформы перед началом процедуры очистки. Станция для пробоподготовки прекращает вентилирование и облучает ультрафиолетовым светом (УФ) в течение 1 минуты.

ВНИМАНИЕ! Станция для пробоподготовки излучает ультрафиолетовый свет длиной в 254 нм. Необходимо надевать защитные очки, одежду и перчатки во время работы с прибором. Не смотрите на ультрафиолетовый свет во время процедуры очистки прибора.

АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Для детального описания запуска программы «Ion Reporter» обратитесь к инструкции по применению набора.

Если вы проводите анализ образцов вручную, следуйте инструкциям ниже. Если вы планируете проводить автоматический анализ с помощью программы «Ion Reporter», перейдите к этапу в п. 6.

1. Импортируйте ваши образцы в программу «Ion Reporter», используя приложение для загрузок «Ion Reporter Uploader».
2. Во вкладке **«Home»** (Главный экран) программы нажмите кнопку **«Launch analysis»** (Начать анализ) после входа в приложение для загрузки «Ion Reporter Uploader».
3. На этапе **«Workflow» (Процесс)** для выбора варианта процесса выявления анеуплоидий выберите опцию **«Reproductive» (Репродуктивный)** в меню **«Application category» (Категория применения)**. Выберите один из четырех возможных процессов и нажмите кнопку **«Next» (Далее)**.
4. На этапе «**Образец**» выберите образец (образцы) из списка, которые вы хотите проанализировать.
5. Дважды нажмите кнопку **«Next» (Далее)** на этапе «**Plugins**» **(Плагины)** для того, чтобы перейти к шагу **«Confirm & Launch» (Подтверждение и запуск).**
6. На этапе «**Подтверждение и запуск**», введите имя вашего исследования, если вы хотите изменить название, присвоенное по умолчанию. Затем нажмите кнопку **«Launch Analysis» (Запустить анализ).**
7. Просмотрите результаты, выбирая их из перечня анализов после входа в **Analysis ▸Overview (Анализ ▸ Просмотр).**

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Лист регистрации изменений

Изм.	Номера листов				Всего листов в документе	Номер извещения об изменении	Подпись	Дата
	изменённых	заменённых	новых	аннулированных				
1	-	16	-	-	16	03569019.02.11-2020		16.03.20

Пронумеровано, прошито и скреплено
_18_ лист (а/ов)
Генеральный директор
Акционерного общества
«Ферст Генетикс»

_____Н. А. Кузнецов

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «Ферст Генетикс»
_____ Н.А. Кузнецов
16 марта 2020г.

ИЗВЕЩЕНИЕ № 03569019.02.11-2020

об изменении краткого руководства набора реагентов «РепроЛайн» для выявления хромосомных аномалий в единичных клетках на системе «F-Genetics»

СОГЛАСОВАНО
Директор по регистрации медицинских изделий
_____ О.А. Свиридова
16 марта 2020г.

Заместитель заведующего лабораторией
_____ Н.И. Исаева
16 марта 2020г.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

АО «Ферст Генетикс»	Извещение	Обозначение	Причина	Код	Лист	Листов
	03569019.02.11-2020	Краткое руководство набора реагентов «РепроЛайн»	Запрос РОСЗДРАВНАДЗОРа дополнительных сведений по итогам экспертизы качества, эффективности и безопасности регистрационного досье на набор	7	2	2

Лаборатория	Дата выпуска	16.03.2020	Срок изм.	16.03.2020	Обозначение ПИ (ДПИ, ПР)	–	Срок действия ПИ	–

Указание о заделе	Задела нет.	Указание о внедрении
		—

Изм.	Содержание изменения	Применяемость
1	**Титульный лист** АО "Ферст Генетикс", Россия, 115162, г. Москва, ул. Шухова, д.14, стр.9, ~~офис~~ пом. 7, тел. (499) 673-02-88, e-mail: info@f-genetics.com Изменение ввести заменой титульного листа (стр. 1) **Таблица «СОСТАВ», столбец 1 «Вариант исполнения», стр. 1** **Вариант исполнения ~~1: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 96»** **Вариант исполнения ~~2: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 24»** **Вариант исполнения ~~3: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 16»** Изменение ввести заменой стр. 1 **Таблица «Состав набора», строки, содержащие наименование варианта исполнения, стр. 2, 3 и 5** **Вариант исполнения ~~1: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 96» ~~в составе:~~** **Вариант исполнения ~~2: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 24» ~~в составе:~~** **Вариант исполнения ~~3: Набор реагентов~~ «РепроЛайн 16» ~~в составе:~~** Изменение ввести заменой стр. 2, 3 и 5. **Версия документа** Изменена версия документа в нижнем колонтитуле: с 20.03.19 на 16.03.20. Изменение ввести заменой стр. 1-16	ТУ 21.20.23-002-03569019-2018, Инструкция по эксплуатации, Шаблон паспорта качества, Макеты этикеток, Транспортная маркировка

	Составил	Согласовал	Н. контроль	Утвердил
Должность	Заместитель заведующего лабораторией	Директор по регистрации медицинских изделий	Директор по регистрации медицинских изделий	Генеральный директор
Ф.И.О.	Исаева Н.И.	Свиридова О.А.	Свиридова О.А.	Кузнецов Н.И.
Подпись				
Дата	16.03.2020	16.03.2020	16.03.2020	16.03.2020

Изменения внес	Директор по регистрации медицинских изделий	Свиридова О.А.	

Разослать	Приложение
РОСЗДРАВНАДЗОР (Управление организацией государственного контроля и регистрации МИ), Испытательный центр ООО «Центр контроля качества БиоЛайф»	—

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Пронумеровано, прошито и скреплено
2 лист (а/ов)
Генеральный директор
Акционерного общества
«Ферст Генетикс»

Н. А. Кузнецов

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU