

Июнь 2019 г.

# Инструкция (руководство) по применению QIASure Methylation Test



Версия 1

Для применения с прибором Rotor-Gene® Q MDx 5plex HRM



Для диагностики in vitro



616014



Self-screen B.V., Biothof 15-1, 1098 RX Amsterdam, NETHERLANDS  
(Нидерланды)

1117742RU

# Содержание

Назначение .....	4
Краткое описание .....	5
Принцип проведения процедуры.....	5
Материалы, входящие в комплект поставки.....	7
<b>Комплектация набора .....</b>	<b>7</b>
Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки.....	7
Предупреждения и меры предосторожности .....	9
<b>Информация по технике безопасности.....</b>	<b>9</b>
<b>Общие меры предосторожности .....</b>	<b>9</b>
<b>Меры предосторожности для профилей AssayManager.....</b>	<b>11</b>
Хранение реагентов и обращение с ними .....	12
Обращение с образцами и их хранение .....	13
Подготовка проб .....	14
<b>Общие рекомендации по конвертированию бисульфитом .....</b>	<b>16</b>
Протокол: ПЦР с использованием QIASure Methylation Test на приборе Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM .....	17
Интерпретация результатов .....	30
Руководство по поиску и устранению неполадок.....	34
Ограничения .....	37
Рабочие характеристики .....	39
<b>Предел обнаружения (LOD).....</b>	<b>39</b>
<b>Линейность .....</b>	<b>39</b>

---

Прецизионность.....	39
Интерферирующие вещества .....	40
Клиническая эффективность.....	41
Надежность.....	44
Литература.....	46
Обозначения .....	47
Контактная информация .....	48
Информация для заказа.....	49
История изменения документа .....	52

# Назначение

QIASure Methylation Test — это тест-система на основе мультиплексной специфичной к метилированию ПЦР в реальном времени для выявления гиперметилирования промоторов генов *FAM19A4* и *hsa-mir124-2*. С помощью QIASure Methylation Test можно проводить анализ бисульфит-конвертированной ДНК, выделенной из образцов, собранных следующими способами:

- цервикальных образцов, собранных с помощью *digene*<sup>®</sup> HC2 DNA Collection Device (собираются врачом);
- цервикальных образцов, собранных с помощью специального инструмента в виде щетки/метелки и помещенных в PreservCyt<sup>®</sup> Solution (собираются врачом);
- вагинальных образцов, собранных с помощью специального инструмента в виде щетки/метелки (собираются пациенткой самостоятельно).

Показания к применению:

1. Для анализа в порядке последующего наблюдения у женщин с положительным результатом анализа на вирус папилломы человека (ВПЧ) с целью определения необходимости направления на колоноскопию или другие процедуры в рамках последующего наблюдения.
2. Для анализа в порядке последующего наблюдения у женщин, у которых в мазке по Папаниколау обнаружены атипичные клетки плоского эпителия неясного значения (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US), с целью определения необходимости направления на колоноскопию или другие процедуры в рамках последующего наблюдения.

Данный продукт рассчитан на применение профессиональными пользователями, например технологами и лаборантами, прошедшими надлежащую подготовку в области выполнения диагностических процедур *in vitro*, методик молекулярно-биологических исследований, а также использования системы Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

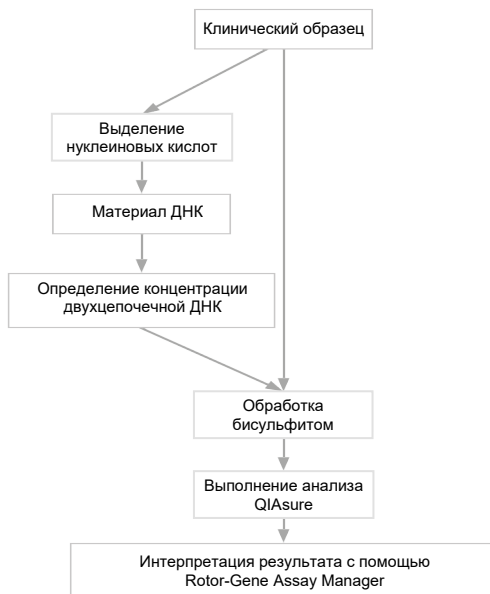
## Краткое описание

Метилирование ДНК — это биохимический процесс, важный для развития высших организмов (1). Он заключается в присоединении метильной группы в 5-ю позицию пиримидинового кольца нуклеотида цитозина. Кроме того, аномалии метилирования ДНК играют значительную роль в канцерогенезе. Гиперметилирование промоторов генов *FAM19A4* и/или *hsa-mir124-2* выявлено при нескольких видах рака у человека и в ряде линий раковых клеток, в том числе при раке шейки матки и раке эндометрия (2–6). Анализ на метилирование промоторов в клетках-хозяевах позволяет прицельно выявлять определенные виды рака, а также очаги цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН) на так называемых поздних стадиях, которые характеризуются ракоподобным профилем метилирования и высоким краткосрочным риском перехода в рак (3, 7, 8, 10). Тест-система QIASure позволяет выявлять гиперметилирование промоторов генов *FAM19A4* и *hsa-mir124-2* на бисульфит-конвертированной ДНК, выделяемой из цервикальных или вагинальных образцов, используя АСТВ в качестве внутреннего контроля качества пробы.

## Принцип проведения процедуры

QIASure Methylation Test — это анализ на основе мультиплексной real-time PCR, предполагающий амплификацию метилированных участков промоторов генов — супрессоров опухолей *FAM19A4* и *hsa-mir124-2*, а также неспецифического к метилированию участка референсного гена. В набор входят 2 пробирки с QIASure Master Mix и 2 пробирки с QIASure Calibrator. Мастер-микс предназначен для амплификации бисульфит-конвертированной ДНК, полученной из клинических образцов. Мастер-микс содержит праймеры и зонды для целевых генов и референсного гена, который служит внутренним контролем качества пробы. Калибратором служит линейаризованная плаزمиды, содержащая последовательности ампликонов *FAM19A4*, *hsa-mir124-2* и АСТВ.

## Порядок работы



Тест-система QIASure работает на приборе Rotor-Gene Q MDx, и анализ и интерпретация данных выполняются автоматически программой Rotor-Gene AssayManager®. Значение  $C_T$  (порог циклов) отражает количество циклов ПЦР, необходимое для распознавания флуоресцентного сигнала на фоне фонового сигнала, которое коррелирует с количеством целевых молекул в пробе. Тест-система QIASure рассчитывает значение  $\Delta C_T$  как разность между значением  $C_T$  для целевого гена *FAM19A4* или *hsa-mir124-2* и значением  $C_T$  для референсного гена (АСТВ). Это значение  $\Delta C_T$  является относительным количественным показателем уровня метилирования промоторов гена *FAM19A4* или *hsa-mir124-2*. Для нормализации значение  $\Delta C_T$  для калибровочной пробы вычитается из  $\Delta C_T$  для целевого гена *FAM19A4* или *hsa-mir124-2*, что дает значение  $\Delta\Delta C_T$  (9). Калибратором служит проба стандартизированной плазмидной ДНК с малым количеством копий, содержащий известное количество копий трех объектов анализа (*FAM19A4*, *hsa-mir124-2* и АСТВ).

# Материалы, входящие в комплект поставки

## Комплектация набора

<b>QIASure Methylation Test</b>		<b>72</b>
<b>№ по каталогу</b>		<b>616014</b>
<b>Количество реакций</b>		<b>72</b>
QIASure Master Mix (2 пробирки)	Коричневого цвета	630 мкл
QIASure Calibrator (2 пробирки)	Прозрачный	25 мкл
<i>Инструкция (руководство) по применению QIASure Methylation Test</i>		1

## Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

При работе с химическими веществами обязательно надевайте соответствующие халат, одноразовые перчатки и защитные очки. Подробнее см. в соответствующих паспортах безопасности (ПБ), предоставляемых поставщиком продукции.

Расходные материалы и реагенты для подготовки проб, собранных самостоятельно

- Hologic PreservCyt® Solution

Расходные материалы и реагенты для бисульфитного конвертирования

В состав верифицированных наборов для бисульфитного конвертирования входит следующее:

- EZ DNA Methylation Kit (ZYMO Research, № по кат. D5001 или № по кат. D5002)
- EpiTect Fast 96 Bisulfite Kit (QIAGEN, № по кат. 59720)

## Расходные материалы для прибора Rotor-Gene Q MDx

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (№ по кат. 981103)
- Очищенная вода (напр., предназначенная для молекулярно-биологических исследований, дистиллированная или деионизированная)

## Оборудование

- Регулируемые пипетки\*, предназначенные специально для ПЦР (1–10 мкл; 10–100 мкл)
- Одноразовые перчатки
- Настольная центрифуга\* со скоростью вращения ротора >10 000 об/мин
- Вортекс-миксер\*
- Qubit® (Thermo Fisher Scientific, № по кат. Q33216), NanoDrop® 3300 Fluorospectrometer (Thermo Fisher Scientific, № по кат. ND-3300) или аналог\*

## Оборудование для real-time PCR

- Система Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (№ по кат. 9002033) или прибор Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (№ по кат. 9002032)†
- Программа Rotor-Gene AssayManager Core Application версии 1.0.x (где x больше либо равен 4)
- Установленный плагин Rotor-Gene AssayManager Epsilon Plug-in версии 1.0.x (где x больше либо равен 1)
- QIASure Assay Profile (из файла AP\_QIASure\_CervicalScrape\_V1\_0\_Y.iap) (где Y больше либо равен 1) для применения при работе с бисульфит-конвертированной ДНК, полученной из цервикальных образцов, собранных врачом.
- Собранный пациенткой самостоятельно вагинальный соскоб QIASure Assay Profile (из файла AP\_QIASure\_SelfCollectedBrush\_V1\_0\_Y.iap) (где Y больше либо равен 0) для применения при работе с бисульфит-конвертированной ДНК, полученной из вагинальных соскобов, собранных врачом.

\* Убедитесь, что приборы проверены и откалиброваны в соответствии с рекомендациями производителя.

† Прибор Rotor-Gene Q 5plex HRM с датой производства январь 2010 г. или более поздней. Дату производства можно определить по серийному номеру на задней стороне прибора. Серийный номер имеет формат «ммгг№№№№», где «мм» — цифровое обозначение месяца производства, «гг» — последние две цифры года производства, а «№№№№» — уникальный идентификатор прибора.



# Предупреждения и меры предосторожности

Только для диагностики in vitro.

## Информация по технике безопасности

При работе с химическими веществами обязательно надевайте соответствующие халат, одноразовые перчатки и защитные очки. Дополнительную информацию см. в соответствующих паспортах безопасности (ПБ). Для каждого набора QIAGEN® и каждого компонента набора их можно найти, просмотреть и распечатать в Интернете по адресу [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), где они размещены в удобном и компактном формате PDF.

### QIASURE MASTER MIX



Содержит 1,2,4-триазол: Предупреждение Есть подозрение, что данное вещество может снизить фертильность или нанести вред нерожденному ребенку. Надевайте защитные перчатки/защитную одежду и используйте средства защиты глаз/лица.

## Общие меры предосторожности

Применение тест-систем для ПЦР требует соблюдения принципов надлежащей лабораторной практики, в том числе в отношении технического обслуживания оборудования, предусмотренных для молекулярной биологии и соответствующих действующим нормативным требованиям и стандартам.

Всегда уделяйте должное внимание следующему:

- Работайте с образцами в неопудренных одноразовых защитных перчатках, лабораторном халате и защитных очках.
- Не допускайте микробного и нуклеазного (ДНКазного) загрязнения образца и набора для анализа. Присутствие ДНКаз может привести к деградации матричной ДНК.

- 
- Не допускайте загрязнения в результате следового переноса ДНК или продуктов ПЦР: это может привести к получению ложноположительного сигнала.
  - Всегда используйте очищенные от ДНКаз одноразовые наконечники пипеток с аэрозольным барьером.
  - Реагенты тест-системы QIASure разведены до оптимальной концентрации. Не разводите реагенты дополнительно: это может привести к ухудшению качества работы системы.
  - Все реагенты, входящие в набор QIASure, предназначены для использования исключительно с другими реагентами в составе того же набора. Не заменяйте никакие реагенты набора такими же реагентами из другого набора QIASure, даже в пределах одной и той же партии. Это может привести к ухудшению качества работы системы.
  - Дополнительные предупреждения, предостережения и инструкции см. в руководстве пользователя прибора Rotor-Gene Q MDx.
  - Перед проведением первого за день цикла выполните 10-минутный цикл разогрева Rotor-Gene Q MDx 5-plex HRM при температуре 95 °C.
  - Изменение времени и температур инкубации может привести к получению ошибочных или противоречивых данных.
  - Не используйте компоненты набора, срок годности которых истек, а также компоненты, хранившиеся неправильно.
  - Сводите к минимуму воздействие света на компоненты набора; оно может привести к изменению реакционных смесей.
  - Соблюдайте крайнюю осторожность во избежание загрязнения смесей синтетическими материалами, содержащимися в реагентах ПЦР.
  - Утилизируйте отходы проб и отходы тест-системы в соответствии с действующими в регионе требованиями безопасности.

---

## Меры предосторожности для профилей AssayManager

Для разных типов проб требуются разные профили AssayManager. Убедитесь, что используемый профиль соответствует типу проб, которые планируется исследовать, как указано ниже:

- Собранные врачом цервикальные соскобы QIASure Assay Profile (из файла AP\_QIASure\_CervicalScrape\_V1\_0\_Y.iap) необходимо использовать для анализа бисульфит-конвертированной ДНК, полученной из цервикальных образцов, собранных врачом
- Собранный пациенткой самостоятельно вагинальный соскоб QIASure Assay Profile (из файла AP\_QIASure\_SelfCollectedBrush\_V1\_0\_Y.iap) необходимо использовать для анализа бисульфит-конвертированной ДНК, полученной из вагинальных соскобов, собранных пациентками самостоятельно.

# Хранение реагентов и обращение с ними

## Условия транспортировки

QIASure Methylation Test поставляется на сухом льду. Если при получении QIASure Methylation Test какой-либо компонент не находится в замороженном состоянии, внешняя упаковка вскрывалась во время перевозки или к грузу не приложен упаковочный лист, руководство либо реагенты, обратитесь в одно из подразделений технической службы QIAGEN или к региональным дистрибьюторам (см. последнюю страницу обложки или зайдите на веб-сайт [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Условия хранения

Сразу после получения QIASure Methylation Test необходимо поместить на хранение в морозильную камеру с постоянной температурой от  $-15$  до  $-30$  °C и предохранять от воздействия света.

## Стабильность

При хранении в указанных условиях QIASure Methylation Test сохраняет стабильность до истечения срока годности, указанного на этикетке коробки.

После вскрытия реагенты можно хранить в оригинальной упаковке при температуре от  $-15$  до  $-30$  °C. Не следует допускать их оттаивания и повторной заморозки. Количество циклов заморозки и оттаивания не должно превышать 3.

- Осторожно перемешивайте содержимое пробирки, переворачивая ее 10 раз, и центрифугируйте все пробирки перед вскрытием.
- Срок годности каждого реагента указан на индивидуальной этикетке компонента набора. При хранении в надлежащих условиях продукт сохраняет рабочие характеристики в течение срока годности при условии использования компонентов из одной и той же партии.

## Обращение с образцами и их хранение



**Со всеми образцами необходимо обращаться как с потенциально инфицированным материалом.**

### Цервикальные образцы

Набор QIASure предназначен для анализа проб бисульфит-конвертированной геномной ДНК, полученной из цервикальных образцов. Утвержденные среды для сбора цервикальных образцов (соскобов) — среда для сбора образцов PreservCyt® и транспортная среда для образцов (STM, Specimen Transport Medium) *Digene*. Оптимальная температура хранения клинических проб после их поступления в лабораторию составляет 2–8 °С. При хранении в таких условиях пробы в среде для сбора образцов PreservCyt сохраняют стабильность в течение 3 месяцев до выделения ДНК.

**Примечание.** Цервикальные пробы в STM можно перевозить при температуре 2–30 °С при ночной доставке в лабораторию, выполняющую анализ, и повторно замораживать при температуре –20 °С после получения.

### Самостоятельно собранные вагинальные соскобы

QIASure Methylation Test предназначается для анализа проб бисульфит-конвертируемой геномной ДНК, выделенной из вагинальных соскобов, собранных пациентками самостоятельно. Самостоятельно собираемые вагинальные соскобы можно собирать и транспортировать в сухом виде или используя физиологический раствор (0,9 % [м/о] NaCl), а после поступления в лабораторию хранить в среде для сбора образцов PreservCyt. Пробы в среде для сбора образцов PreservCyt можно хранить не более 3 месяцев при температуре 2–8 °С или при комнатной температуре.

## Пробы геномной ДНК

После выделения геномной ДНК пробы ДНК можно хранить и транспортировать при температуре от  $-15$  до  $-30^{\circ}\text{C}$  в течение не более 12 месяцев.

## Подготовка проб

Тест-система QIAure Methylation Test утверждена для использования с целью анализа бисульфит-конвертированной геномной ДНК, полученной из цервикальных образцов. Бисульфитное конвертирование геномной ДНК можно выполнять **i)** с предварительным выделением ДНК пробы и контролем качества ДНК или **ii)** непосредственно на цервикальном образце. Наши рекомендации представлены ниже.

- **Бисульфитное конвертирование с предварительным выделением ДНК и контролем качества ДНК**

Этот протокол предполагает выделение ДНК, измерение концентрации ДНК, а затем — аликвотирование оптимального объема элюата перед выполнением протокола бисульфитного конвертирования и верифицирован для EZ DNA Methylation™ Kit производства ZYMO Research. Мы рекомендуем применять следующие методы:

- **Выделение ДНК**

С QIAure Methylation Test совместимы стандартные наборы для выделения ДНК (напр., на основе колонок и магнитных шариков).

- **Измерение концентрации ДНК**

Перед бисульфитным конвертированием ДНК измерьте концентрацию ДНК. Для измерения концентрации ДНК подходят системы Qubit® Fluorometer, NanoDrop 3300 Fluorospectrometer (обе — производства Thermo Fisher Scientific) или их аналоги.

- Аликвотирование элюата ДНК  
Оптимальное исходное количество ДНК для бисульфитного конвертирования составляет от 100 нг до 2 мкг, причем рекомендуется использовать для конвертирования бисульфитом 200 нг. Если концентрация ДНК слишком низка для бисульфитного конвертирования, повторите процедуру выделения ДНК с большим исходным объемом клинической пробы или элюируйте ДНК меньшим объемом элюирующего раствора.
- Бисульфитное конвертирование с использованием EZ DNA Methylation Kit выполняется согласно рекомендациям производителя.

**Примечание.** Применительно к EZ DNA Methylation Kit для обеспечения достаточно высокой эффективности конвертирования (>98 %) максимальное количество ДНК пробы не должно превышать 2 мкг.

- **Бисульфитное конвертирование непосредственно на цервикальном образце**

Метод бисульфитного конвертирования непосредственно на цервикальном образце, помещенном в PreservCyt® Solution, утвержден для EpiTect Fast 96 Bisulfite Kit производства QIAGEN. Мы обращались к *руководству EpiTect® Fast 96 Bisulfite Conversion* применительно к пробам с высокой концентрацией ДНК (1 нг–2 мкг) в соответствии с рекомендацией производителя, за исключением следующих моментов:

- Этап 1 протокола. Возьмите 2,5 % цервикального образца в среде для сбора образцов PreservCyt® (т. Е. 500 мкл из 20 мл) и осадите центрифугированием минимум при 3390 x g. Удалите супернатант в отходы, оставив клеточный осадок в не более чем 20 мкл среды для сбора образцов PreservCyt. Эту пробу клеточного осадка нужно использовать для реакции бисульфитного конвертирования. Перейдите к этапу 2 протокола производителя.
- Buffer BL: Не добавляйте РНК-носитель.
- При бисульфитном конвертировании ДНК для элюирования используется по 50 мкл Buffer EB на каждую пробу.

## Общие рекомендации по конвертированию бисульфитом

Реакция бисульфитного конвертирования должна проводиться в специально отведенной для этого зоне, отделенной от места хранения и дозирования QIASure Master Mix, во избежание загрязнения реагентов.

Для реакции в QIASure требуется 2,5 мкл бисульфит-конвертированной ДНК.

Если для внутреннего контроля качества пробы получен отрицательный результат (т. е. значения  $C_t$  для АСТВ >26,4), это означает, что при приготовлении бисульфит-конвертированной ДНК образца получен материал в недостаточном количестве и/или неудовлетворительного качества и результат недействителен. Выполните рекомендованные действия, чтобы получить для АСТВ значение  $C_t$ , находящееся в допустимом диапазоне, для следующего:

- Бисульфитное конвертирование с предварительным выделением ДНК и контролем количества ДНК: Повторите реакцию бисульфитного конвертирования с большим исходным количеством ДНК пробы и/или повторите процедуру выделения ДНК с большим исходным количеством цервикального образца
- Бисульфитное конвертирование непосредственно на цервикальном образце: Повторите реакцию бисульфитного конвертирования с 10 %\* цервикального образца в среде для сбора образцов PreservCyt (т. е. 2 мл из 20 мл).

Бисульфит-конвертированную ДНК можно хранить не более 24 часов при температуре 2–8 °С, до 5 суток — при температуре от –15 до –25 °С и до 3 месяцев — при температуре –70 °С. Повторного замораживания и оттаивания бисульфит-конвертированной ДНК не следует допускать при любых обстоятельствах. Для сохранения удовлетворительного качества проб количество циклов замораживания и оттаивания не должно превышать трех.

\* Объем пробы для прямого бисульфитного конвертирования можно увеличить, если показатель успеха неудовлетворителен из-за вариабельности способа сбора проб, например в результате их неправильного сбора.



# Протокол: ПЦР с использованием QIASure Methylation Test на приборе Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM\*

## Важные замечания перед началом работы

- Внимательно ознакомьтесь с прибором Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, прежде чем начать выполнение протокола. См. руководство пользователя прибора (№ по кат. 9002033 или 9002032).
- Перед проведением первого за день цикла выполните 10-минутный цикл разогрева Rotor-Gene Q MDx 5-plex HRM при температуре 95 °С.
- Программа Rotor-Gene AssayManager версии 1.0 обеспечивает автоматическую интерпретацию результатов ПЦР. Цикл с использованием набора QIASure выполняется на приборе Rotor-Gene Q MDx с применением Rotor-Gene AssayManager версии 1.0. Уделите время ознакомлению с программой Rotor-Gene AssayManager версии 1.0 (№ по кат. 9022739), и плагином Epsilon Plug-In — см. соответствующие руководства пользователя.
- Для разных типов проб требуются разные профили тест-системы в Rotor-Gene AssayManager версии 1.0. Убедитесь, что используемый профиль соответствует типу проб, которые планируется исследовать, как указано ниже:
  - Собранные врачом цервикальные соскобы QIASure Assay Profile (из файла AP\_QIASure\_CervicalScrape\_V1\_0\_Y.iar) необходимо использовать для анализа бисульфит-конвертированной ДНК, полученной из цервикальных образцов, собранных врачом

\* Прибор Rotor-Gene Q 5plex HRM с датой производства январь 2010 г. или более поздней. Дату производства можно определить по серийному номеру на задней стороне прибора. Серийный номер имеет формат «ммгг№№№№», где «мм» — цифровое обозначение месяца производства, «гг» — последние две цифры года производства, а «№№№№» — уникальный идентификатор прибора.

- Собранный пациенткой самостоятельно вагинальный соскоб QIASure Assay Profile (из файла AP\_QIASure\_SelfCollectedBrush\_V1\_0\_Y.iap) необходимо использовать для анализа бисульфит-конвертированной ДНК, полученной из вагинальных соскобов, собранных пациентками самостоятельно.

**Примечание.** В рамках одной процедуры анализа можно исследовать пробы только одного типа. Для каждого типа проб предусмотрены свои оптимальные профили тест-систем, и пользователь должен правильно выбирать такой профиль чтобы получать оптимальные результаты для каждого типа проб.

### Необходимые действия перед началом процедуры

- Необходимо установить на компьютер, подключенный к Rotor-Gene Q MDx, программу Rotor-Gene AssayManager версии 1.0.x (где x больше либо равен 4). Подробнее об установке Rotor-Gene AssayManager Core Application версии 1.0 см. в *Руководстве пользователя Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application*.
- Для работы с QIASure Methylation Test требуется специальный плагин под названием «Epsilon Plug-in» (версии 1.0.1 или более поздних версий). Этот плагин можно загрузить на веб-странице QIAGEN:  
**<http://www.qiagen.com/shop/automated-solutions/detection-and-analysis/rotor-gene-assaymanager#resources>**. Его необходимо установить на компьютер, на котором уже установлена программа Rotor-Gene AssayManager версии 1.0.x (где x больше либо равен 4).
- Для работы с QIASure Methylation Test требуется определенный профиль тест-системы, запускаемый с программой Rotor-Gene AssayManager версии 1.0. Этот профиль тест-системы содержит все параметры, необходимые для циклирования и анализа полученных результатов. Предусмотрено 2 профиля QIASure Assay Profile.
  - Собранные врачом цервикальные соскобы QIASure Assay Profile (из файла AP\_QIASure\_CervicalScrape\_V1\_0\_Y.iap) предназначен для анализа цервикальных образцов, собранных врачом.
  - Собранный пациенткой самостоятельно вагинальный соскоб QIASure Assay Profile (из файла AP\_QIASure\_SelfCollectedBrush\_V1\_0\_Y.iap) предназначен

для анализа вагинальных соскобов, собранных пациентками самостоятельно. Эти профили можно загрузить на веб-странице QIASure Methylation Test: <http://www.qiagen.com/Shop/Assay-Technologies/Complete-Assay-Kits/hpv-testing/qiasure-methylation-test-kit-eu/>. Профиль тест-системы необходимо импортировать в программу Rotor-Gene AssayManager.

**Примечание.** Анализ с использованием набора QIASure можно проводить, только если в программе Rotor-Gene AssayManager версии 1.0 заданы определенные настройки конфигурации.

Для обеспечения безопасности выполнения процессов на системном уровне необходимо задать следующие обязательные настройки конфигурации для режима Closed (Закрытый):

- Material number required (Необходим номер материала)
- Valid expiry date required (Необходим допустимый срок годности)
- Lot number required (Необходим номер партии)

Установка плагина Epsilon Plug-in и импорт профиля тест-системы

Подробную информацию об установке и импорте плагина Epsilon Plug-in и профиля тест-системы см. в *Руководстве пользователя Rotor-Gene AssayManager Core Application* и *Руководстве пользователя Epsilon Plug-In*.

- Загрузите плагин Epsilon Plug-in и последнюю версию QIASure Assay Profile на веб-сайте QIAGEN.
- Запустите процедуру установки двойным щелчком мыши на файле **EpsilonPlugin.Installation.msi**, после чего следуйте инструкциям по установке. Подробное описание этой процедуры см. в разделе «Установка плагинов» в *Руководстве пользователя AssayManager Core Application*.

**Примечание.** Для обеспечения безопасности выполнения процессов на системном уровне выберите вкладку Settings (Настройки) и установите метки в полях **Material number required** (Необходим номер материала), **Valid expiry date required** (Необходим допустимый срок годности) и **Lot number required** (Необходим номер партии) для режима Closed (Закрытый) (раздел Work list

(Рабочий список)). Если эти опции не включены (метки в соответствующих полях отсутствуют), включите их щелчком мыши.

- После успешной установки плагина пользователь с правами администратора для программы Rotor Gene AssayManager должен импортировать профиль тест-системы AP\_QIASure\_V1\_0\_Y.iar следующим образом:

1. Откройте программу Rotor-Gene AssayManager, щелкнув мышью на ее ярлыке.



Откроется окно Rotor-Gene AssayManager (см. Рис. 1).

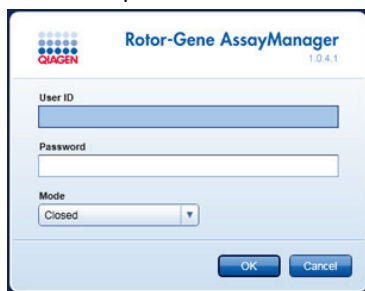
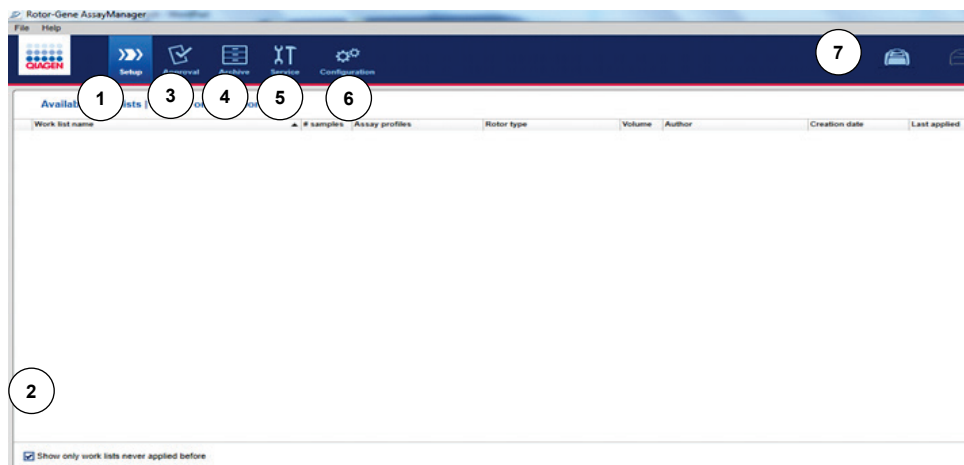




Рис. 1. Экран входа в систему Rotor-Gene AssayManager

2. Войдите в Rotor-Gene AssayManager со своим именем пользователя и паролем. Не меняйте режим Closed (Закрытый). Нажмите **OK**. Откроется экран Rotor-Gene Assay Manager (см. ниже).



- 1 Вкладка **Set-up** (Настройка). На этой вкладке осуществляется управление рабочими списками и их применение.
  - 2 При установке метки в поле опции примененных рабочих список здесь отображаются только новые рабочие списки.
  - 3 Вкладка **Approval** (Утверждение). На этой вкладке можно найти предыдущие процедуры анализа (циклы).
  - 4 Вкладка **Archive** (Архив). Здесь можно найти предыдущие процедуры анализа (циклы), которые уже были утверждены.
  - 5 Вкладка **Service** (Сервис). Здесь отображается журнал событий для каждого файла, генерируемый программой.
  - 6 Вкладка **Configuration** (Конфигурация). Предназначена для настройки конфигурации всех параметров программы
  - 7 Пиктограммы Rotor-Gene Q MDx.
-  Не подключен
  Подключен
3. Выберите среду Configuration (Конфигурация).
  4. Выберите вкладку **Assay Profiles** (Профили тест-систем).
  5. Нажмите **Import** (Импорт).
  6. Выберите профиль тест-системы AP\_QIASure\_CervicalScrape\_V1\_0\_Y.iar для цервикальных образцов и/или профиль тест-системы AP\_QIASure\_SelfCollectedBrush\_V1\_0\_Y.iar, который нужно импортировать, в диалоговом окне и нажмите **Open** (Открыть).

- 
7. Когда профиль тест-системы будет успешно импортирован, его можно будет использовать в среде Setup (Настройка).

**Примечание.** Одну и ту же версию профиля тест-системы нельзя импортировать дважды.

### Обработка проб на приборах Rotor-Gene Q MDx с ротором на 72 пробирки

В рамках одной процедуры анализа (цикла) можно провести анализ до 70 проб бисульфит-конвертированной ДНК, помимо калибратора и контроля без матрицы. На схеме в Таблица 1 представлен пример подготовки загрузочного блока или ротора для процедуры анализа с использованием QIASure Methylation Test. Числами обозначены положения на загрузочном блоке, а также конечные положения для ротора.

**Таблица 1. Подготовка планшета и ротора для процедуры анализа с использованием набора QIASure на приборе Rotor-Gene Q MDx**

Стрип	Положение пробирки	Имя пробы	Стрип	Положение пробирки	Имя пробы	Стрип	Положение пробирки	Имя пробы
<b>1</b>	1	Калибратор	<b>7</b>	25	Проба 23	<b>13</b>	49	Проба 47
	2	NTC		26	Проба 24		50	Проба 48
	3	Проба 1		27	Проба 25		51	Проба 49
	4	Проба 2		28	Проба 26		52	Проба 50
<b>2</b>	5	Проба 3	<b>8</b>	29	Проба 27	<b>14</b>	53	Проба 51
	6	Проба 4		30	Проба 28		54	Проба 52
	7	Проба 5		31	Проба 29		55	Проба 53
	8	Проба 6		32	Проба 30		56	Проба 54
<b>3</b>	9	Проба 7	<b>9</b>	33	Проба 31	<b>15</b>	57	Проба 55
	10	Проба 8		34	Проба 32		58	Проба 56
	11	Проба 9		35	Проба 33		59	Проба 57
	12	Проба 10		36	Проба 34		60	Проба 58
<b>4</b>	13	Проба 11	<b>10</b>	37	Проба 35	<b>16</b>	61	Проба 59
	14	Проба 12		38	Проба 36		62	Проба 60
	15	Проба 13		39	Проба 37		63	Проба 61
	16	Проба 14		40	Проба 38		64	Проба 62
<b>5</b>	17	Проба 15	<b>11</b>	41	Проба 39	<b>17</b>	65	Проба 63
	18	Проба 16		42	Проба 40		66	Проба 64
	19	Проба 17		43	Проба 41		67	Проба 65
	20	Проба 18		44	Проба 42		68	Проба 66
<b>6</b>	21	Проба 19	<b>12</b>	45	Проба 43	<b>18</b>	69	Проба 67
	22	Проба 20		46	Проба 44		70	Проба 68
	23	Проба 21		47	Проба 45		71	Проба 69
	24	Проба 22		48	Проба 46		72	Проба 70



Пробирки необходимо вставлять в ротор, как показано в Таблица 1. Автоматизированная процедура анализа, запрограммированная в профиле тест-системы, основана на этой схеме. Использование другой схемы приведет к искажению результатов анализа.

**Примечание.** Заполните все неиспользуемые позиции пустыми пробирками.

ПЦР на приборах Rotor-Gene Q MDx с ротором на 72 пробирки

Перед проведением первого за день цикла выполните 10-минутный цикл разогрева Rotor-Gene Q MDx 5-plex HRM при температуре 95 °C.

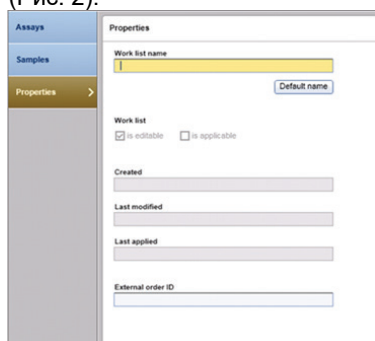
1. Создайте рабочий список для исследуемой пробы следующим образом:
  - 1a. Включите прибор Rotor-Gene Q MDx.
  - 1b. Откройте программу Rotor-Gene AssayManager и войдите в нее как пользователь с правами оператора в режиме Closed (Закрытый).
  - 1c. Нажмите кнопку **New Work List** (Новый рабочий список) в диспетчере рабочих списков (среда Setup (Настройка)).
  - 1d. Выберите QIASure Assay Profile в списке доступных профилей тест-систем.

**Примечание.** Профиль тест-системы AP\_QIASure\_CervicalScrape\_V1\_0\_Y.iar предназначен для цервикальных образцов, профиль тест-системы AP\_QIASure\_SelfCollectedBrush\_V1\_0\_Y.iar предназначен для вагинальных соскобов, собранных самостоятельно.

**Примечание.** В рамках одной процедуры анализа можно исследовать пробы только одного типа.
  - 1e. Нажмите **Move** (Переместить), чтобы переместить выбранный профиль тест-системы в список **Selected assay profiles** (Выбранные профили тест-системы). После этого профиль тест-системы должен отобразиться в списке Selected assay profiles (Выбранные профили тест-системы).
  - 1f. Введите значение количества проб в соответствующее поле.



- 1g. Введите указанные ниже сведения о наборе QIASure, которые напечатаны на крышке коробки.
  - Material number (Номер материала): 1102417
  - Valid expiry date using the format YYYY-MM-DD (Допустимый срок годности в формате ГГГГ-ММ-ДД)
  - Lot number (Номер партии)
- 1h. Выберите этап **Samples** (Пробы). На экране AssayManager отобразится список со сведениями о пробах. Этот список отражает ожидаемое расположение проб на роторе.
- 1i. Внесите в этот список идентификационный номер (идентификационные номера) пробы (проб), а также всю дополнительную информацию о пробах в виде комментария для каждой пробы.
- 1j. Выберите этап **Properties** (Свойства) и введите имя рабочего списка (Рис. 2).



**Рис. 2. Properties (Свойства).**

- 1k. Подтвердите введенные данные, установив метку в поле *Is applicable* (Применимо) и нажмите **Apply** (Применить).
- 1l. Сохраните рабочий список.

Рабочий список можно напечатать, что может пригодиться при подготовке и постановке ПЦР. Чтобы напечатать рабочий список, нажмите кнопку **Print work list** (Печать рабочего списка). В рабочий список включаются сведения о пробах.

**Примечание.** Рабочий список можно создать после настройки процедуры анализа на приборе или сохранить до установки проб в прибор.

## 2. Выполните постановку процедуры анализа QIASure.

Для сведения к минимуму риска загрязнения реагентов ПЦР настоятельно рекомендуется использовать бокс для ПЦР с возможностью УФ-облучения.

Внесение QIASure Master Mix должно осуществляться в зоне, отделенной от зоны, где проводится реакция бисульфитного конвертирования ДНК.

Перед началом работы очистите зону рабочего стола, пипетки и штатив для пробирок ДНК-деградирующим раствором во избежание загрязнения матрицей или нуклеазами.

**Примечание.** Заменяйте наконечники перед переходом к каждой следующей пробирке во избежание загрязнения какой-либо неспецифической матрицей или реакционной смесью, которое может привести к получению ложноположительных результатов.

2a. Полностью разморозьте QIASure Master Mix и QIASure Calibrator и по возможности предохраняйте QIASure Master Mix от воздействия света.

**Примечание.** Продолжительность этапа разморозки не должна превышать 30 минут во избежание деградации материала.

2b. Осторожно перемешайте содержимое, перевернув пробирку 10 раз, а затем кратковременно центрифугируйте перед использованием.

2c. Внесите 17,5 мкл готового к использованию QIASure Master Mix в надлежащие стрипованные пробирки. Постановка реакции возможна при комнатной температуре.

2d. Снова поместите QIASure Master Mix в морозильную камеру во избежание деградации материала.

2e. Переместите пробирки в отдельную зону для внесения контролей ПЦР и проб бисульфит-конвертированной ДНК.

2f. Добавьте 2,5 мкл воды в пробирку для **контроля без матрицы** ( No Template Control, NTC) в позиции 2 (см. Таблица 1 выше). Осторожно перемешайте содержимое путем набора и выпуска пипеткой.

2g. Внесите 2,5 мкл QIASure Calibrator в пробирку в позиции 1 (см. Таблица 1 выше). Осторожно перемешайте содержимое путем набора и выпуска пипеткой и закройте пробирку колпачком.

- 2h. Внесите 2,5 мкл бисульфит-конвертируемой ДНК в соответствующую пробирку. Осторожно перемешайте содержимое путем набора и выпуска пипеткой.
  - 2i. После заполнения набора из 4 пробирок закройте пробирки колпачками.  
**Примечание.** Пробирки для ПЦР можно хранить в течение 30 минут между внесением в них проб пипеткой и началом процедуры анализа на приборе, который должен выполняться при температуре 2–8°C, в темноте.
  - 2j. Снова поместите QIASure Calibrator в морозильную камеру в избежание деградации материала.  
**Примечание.** Заменяйте наконечники перед переходом к каждой следующей пробирке во избежание загрязнения какой-либо неспецифической матрицей или реакционной смесью, которое может привести к получению ложноположительных результатов.
3. Подготовьте прибор Rotor-Gene Q MDx и запустите цикл (процедуру анализа) следующим образом:
- 3a. Поместите 72-луночный ротор на держатель для ротора.
  - 3b. Заполните ротор стрипованными пробирками, поместив их в назначенные места, начиная с позиции 1, как показано в Таблица 1. Неиспользуемые позиции заполните закрытыми пустыми стрипованными пробирками.  
**Примечание.** Убедитесь, что первая пробирка установлена на позицию 1 и что все стрипованные пробирки установлены с правильной ориентацией на свои позиции, как показано в Таблица 1.
  - 3c. Прикрепите предохранительное кольцо.
  - 3d. Установите ротор с предохранительным кольцом в прибор Rotor-Gene Q MDx и закройте крышку прибора.
  - 3e. В программе Rotor-Gene AssayManager версии 1.0 либо выберите нужный рабочий список в диспетчере рабочих списков и нажмите **Apply** (Применить), либо, если рабочий список все еще открыт, нажмите **Apply** (Применить).  
**Примечание.** Если рабочий список для цикла еще не создан, войдите в программу Rotor-Gene AssayManager версии 1.0 и выполните этап 1, прежде чем продолжить.
  - 3f. Введите имя цикла (процедуры анализа).

- 3g. Выберите нужный циклер в списке **Cycler selection** (Выбор циклера).
  - 3h. Проверьте правильность крепления предохранительного кольца и подтвердите на экране, что предохранительное кольцо прикреплено.
  - 3i. Нажмите **Start** experiment (Начать процедуру анализа).  
После этого должен начаться цикл работы QIASure Methylation Test.
4. По завершении цикла нажмите **Finish run** (Завершить цикл).
  5. Выполните выгрузку и утвердите цикл.
    - Для пользователей, зарегистрированных в системе с правами Approver (Утверждающий): нажмите **Release and go to approval** (Выгрузить и перейти к утверждению).
    - Для пользователей, зарегистрированных в системе с правами Operator (Оператор): нажмите **Release** (Выгрузить).
  6. Выгрузите результаты.
    - Если была нажата кнопка **Release and go to approval** (Выгрузить и перейти к утверждению), отобразятся результаты анализа.
    - Если пользователем с правами оператора была нажата кнопка **Release** (Выгрузить), то потребуется вход в систему пользователя с правами Approver (Утверждающий), который должен будет выбрать среду Approval (Утверждение).
    - Отфильтруйте результаты тест-системы, которые нужно утвердить, задав параметры фильтрации списка и нажав **Apply** (Применить).
    - Просмотрите результаты и утвердите результаты для каждой исследуемой пробы.

В таблице Results (Результаты) прокрутите страницу до пробы, результат для которой требуется утвердить. Для каждого результата анализа пробы, который подлежит утверждению, имеется три кнопки с зависимой фиксацией в конце соответствующей строки.

Примите либо отклоните результат для пробы.

**Примечание.** Результат, автоматически обозначенный как **INVALID** (Недействительно) программой Rotor-Gene AssayManager, больше не может быть преобразован в действительный результат, даже в случае отклонения.

Необязательно: Введите комментарий в столбец Sample comment (Комментарий к пробе).

- Нажмите **Release/Report data** (Выгрузить/Выдать отчет).
- Нажмите **OK**. Отчет будет сформирован в формате Adobe Portable Document (.pdf) и автоматически сохранен в предварительно заданной папке. Путь к этой папке по умолчанию следующий: **QIAGEN > Rotor-Gene AssayManager > Export > Reports**

**Примечание.** Эти путь и папку можно сменить в среде Configuration (Конфигурация).

- Перейдите на вкладку **Archive** (Архив), чтобы экспортировать файл .rex, соответствующий необработанным данным. Найдите нужную процедуру анализа, воспользовавшись опциями фильтрации, и нажмите **Show assays** (Показать тест-системы). Затем нажмите на **Export .rex file** (экспортируемый файл .rex) и сохраните его нажатием кнопки **OK**. Программа автоматически сохранит файл .rex в следующей предварительно заданной папке: **QIAGEN > Rotor-Gene AssayManager > Export > Experiments**

**Примечание.** Эти путь и папку можно сменить на вкладке **Specify the .rex file export destination** (Укажите путь экспорта файла .rex).

**Примечание.** Для поиска и устранения неисправностей необходим пакет поддержки для цикла. Пакеты поддержки формируются в среде Approval (Утверждение) или Archive (Архив). См. *Руководство пользователя Rotor-Gene AssayManager Core Application*, раздел «Поиск и устранение неисправностей», параграф «Создание пакета поддержки» на веб-сайте по адресу: <https://www.qiagen.com/shop/automated-solutions/detection-and-analysis/rotor-gene-assaymanager#resources>. Кроме того, могут пригодиться данные журнала событий на момент возникновения проблемы  $\pm 1$  день. Журнал событий можно

---

получить в среде Service (Сервис) (*Руководство пользователя Rotor-Gene AssayManager Core Application*).

7. Разгрузите прибор Rotor-Gene Q MDx и удалите стрипованные пробирки в отходы в соответствии с действующими в регионе требованиями к безопасности.

## Интерпретация результатов

Процедура анализа полностью автоматизирована.

Программа Rotor-Gene AssayManager версии 1.0 сначала анализирует кривые амплификации и может признать недействительными кривые, не соответствующие необходимым параметрам, исходя из их формы и амплитуды помех. В этом случае кривая, признанная недействительной, снабжается соответствующей меткой (см. Таблица 2).

Затем программа Rotor-Gene AssayManager версии 1.0 анализирует контроли цикла.

- Калибратор
- NTC

**Примечание.** В отчете, который генерируется в конце цикла, отображаются результаты, полученные для контролей цикла, и для недействительных данных отображаются соответствующие метки.

Если все контроли цикла соответствуют необходимым параметрам, то Rotor-Gene AssayManager выполняет анализ проб, состав которых неизвестен.

В Таблица 2 показаны метки недействительного результата для пробы, которыми могут снабжаться результаты для отдельных пробирок при анализе с помощью Rotor-Gene AssayManager версии 1.0, с пояснениями к каждой метке.

**Таблица 2. Метки недействительного результата для пробы и пояснения к терминам**

Метка	Поведение	Описание
ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Invalid (Недействительно)	Целевое значение превышает заданный диапазон. Это может быть значение $C_T$ , значение флуоресценции в конечной точке, значение концентрации или рассчитанное значение, например среднее $C_T$ или $\Delta C_T$ .
ASSAY_INVALID	Invalid (Недействительно)	Результат тест-системы недействителен, поскольку недействителен результат как минимум для одного внешнего контроля.
BELOW_ACCEPTED_RANGE	Invalid (Недействительно)	Целевое значение ниже заданного диапазона. Это может быть значение $C_T$ , значение флуоресценции в конечной точке, значение концентрации или рассчитанное значение, например среднее $C_T$ или $\Delta C_T$ .
CONSECUTIVE_FAULT	Invalid (Недействительно)	Целевое значение, используемое для расчета этого целевого значения, недопустимо.
CURVE_SHAPE_ANOMALY	Invalid (Недействительно)	Кривая амплификации для необработанных данных имеет форму, которая отклоняется от картины, характерной для данной тест-системы. Высока вероятность получения неверных результатов или неправильной интерпретации результатов.
FLAT_BUMP	Invalid (Недействительно)	На кривой амплификации для необработанных данных присутствует плоский пик, не соответствующий картине, характерной для данной тест-системы. Высока вероятность получения неверных результатов или неправильной интерпретации результатов (например, неправильного определения значения $C_T$ ).
IN_ACCEPTED_RANGE	Valid (Действительно)	Для NTC (контроль без матрицы, No template control) отображаются значения $C_T$ сигнала выше 36 для целевого показателя ACTB.
INVALID_CALCULATION	Invalid (Недействительно)	При расчете данного целевого показателя произошел сбой.
MULTIPLE_THRESHOLD_CROSSING	Invalid (Недействительно)	Кривая амплификации пересекает порог более одного раза. Невозможно однозначно определить $C_T$ .
NO_BASELINE	Invalid (Недействительно)	Начальное значение для исходного базового уровня не найдено.
NO_CT_DETECTED	Variable (Вариабельно)	Для данного целевого показателя не получено значение $C_T$ .

NO_VALUE	Invalid (Недействительно)	Для целевого показателя отсутствует значение, однако ожидается, что оно должно быть. Данное значение не должно укладываться в определенный диапазон. Это может быть значение $C_T$ , значение флуоресценции в конечной точке, значение концентрации или рассчитанное значение (например, среднее $C_T$ или $\Delta C_T$ ).
NORM_FACTOR_ALTERATION	Warning (Предупреждение)	Отклонение во время процедуры нормализации. Кривая амплификации отображается с нормализацией по умолчанию, необходимо проверить правильность результатов вручную.
OTHER_TARGET_INVALID	Invalid (Недействительно)	Другой целевой показатель для той же пробы недействителен.
SATURATION	Invalid (Недействительно)	Сильное насыщение флуоресценции для необработанных данных до точки перегиба кривой амплификации.
SATURATION_IN_PLATEAU	Warning (Предупреждение)	Насыщение флуоресценции для необработанных данных на участке плато кривой амплификации.
SPIKE	Warning (Предупреждение)	На кривой амплификации обнаружен пик флуоресценции для необработанных данных вне участка, на котором определяется $C_T$ .
SPIKE_CLOSE_TO_CT	Invalid (Недействительно)	На кривой амплификации обнаружен пик вблизи $C_T$ .
STEEP_BASELINE	Invalid (Недействительно)	На кривой амплификации обнаружен крутой подъем базового уровня флуоресценции для необработанных данных.
STRONG_BASELINE_DIP	Invalid (Недействительно)	На кривой амплификации обнаружено сильное падение базового уровня флуоресценции для необработанных данных.
STRONG_NOISE	Invalid (Недействительно)	Зафиксированы сильные помехи вне фазы подъема кривой амплификации.
STRONG_NOISE_IN_GROWTH_PHASE	Invalid (Недействительно)	Зафиксированы сильные помехи в фазе подъема (экспоненциального роста) кривой амплификации.
UNCERTAIN	Variable (Вариабельно)	Результаты, полученные при AUDAS (автоматическое сканирование данных, Automatic Data Scan), противоречат результатам основного анализа. Непротиворечивая автоматическая оценка достоверности данных невозможна.
UNEXPECTED_CT_DETECTED	Variable (Вариабельно)	Получено значение $C_T$ для объекта анализа, который не должен амплифицироваться.



UNEXPECTED_VALUE	Invalid (Недействительно)	Для целевого показателя получено значение, однако это значение отлично от ожидаемого. Это может быть значение $C_T$ , значение флуоресценции в конечной точке, значение концентрации или рассчитанное значение, например среднее $C_T$ или $\Delta C_T$ .
UPSTREAM	Variable (Вариабельно)	<p>Пробе присвоен статус <b>Invalid</b> (Недействительно) или <b>Unclear</b> (Неясно) вышестоящим процессом (напр., QIAasymphony).</p> <p><b>Примечание.</b> Поведение Rotor-Gene AssayManager в отношении проб, результаты которых помечены как неясные, задается в среде Configuration (Конфигурация) программы AssayManager. Установка меток Invalid (Недействительно) вышестоящими процессами всегда ведет к признанию недействительным результата для соответствующей пробы в Rotor-Gene AssayManager.</p>
WAVY_BASE_FLUORESCENCE	Invalid (Недействительно)	На кривой амплификации выявлена волнистость базового уровня флуоресценции для необработанных данных.

- Если результаты для всех контролей цикла действительны, то Rotor-Gene AssayManager версии 1.0 выполняет анализ проб, состав которых неизвестен. Для интерпретации результатов необходимо, чтобы в пробе присутствовало минимальное количество бисульфит-конвертированной ДНК. Это отражает значение  $C_T$  конститутивного гена АСТВ, которое должно быть  $\leq 26,4$ , для того чтобы проба была валидирована Rotor-Gene AssayManager.
- После этого рассчитываются значения  $\Delta\Delta C_T$  для *FAM19A4* и *hsa-mir124-2* и выдается результат. Если значение  $\Delta\Delta C_T$  ниже порога, то для объекта анализа фиксируется результат *Hypermethylation positive* (Положительный по гиперметилированию).

**Примечание.** Частичное или низкое метилирование является обычным явлением и, в отличие от уровня гиперметилирования, не связано напрямую с развитием рака.

- Проба считается *Hypermethylation positive* (положительным по гиперметилированию), если результат *Hypermethylation positive* (Положительный по гиперметилированию) фиксируется хотя бы для одного из объектов анализа.

---

# Руководство по поиску и устранению неполадок

Данное руководство по устранению неполадок может быть полезным в решении любых проблем, которые могут возникнуть. Подробнее см. на странице «Frequently Asked Questions» (Часто задаваемые вопросы) сайта нашего центра технической поддержки: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Научные специалисты технической службы QIAGEN всегда готовы ответить на любые ваши вопросы, касающиеся как информации, содержащейся в настоящем руководстве, в том числе о протоколах, так и методик обработки проб и проведения анализа (контактную информацию см. на последней странице обложки или на веб-сайте [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

Информацию о поиске и устранении неисправностей применительно к Rotor-Gene AssayManager см. в *Руководстве пользователя Rotor-Gene AssayManager Core Application*.

## Комментарии и рекомендации

### Общие принципы обращения

#### Концентрация ДНК в пробе слишком низка для бисульфитного конвертирования

Проверьте экстракт ДНК

Повторите процедуру выделения ДНК, используя более концентрированную клиническую пробу

#### Результат для пробы признан недействительным: амплификация АСТВ слишком низкая либо отсутствует

- a) Ошибка пипетирования или отсутствие каких-либо реагентов
- b) Проверьте концентрат ДНК
- c) Для протокола «Бисульфитное конвертирование непосредственно на цервикальном образце» проверьте клинический образец на предмет объема клеточного содержимого
- d) Проверьте бисульфит-конвертированный элюат

Проверьте методику пипетирования и постановку реакции. Повторите цикл ПЦР.

Увеличьте исходное количество ДНК для бисульфитного конвертирования до максимума. Реакция бисульфитного конвертирования максимально эффективна при исходном количестве ДНК от 100 нг до 2 мкг.

Повторите реакцию бисульфитного конвертирования с 10 % цервикального образца в среде для сбора образцов PreservCyt (т. е. 2 мл из 20 мл).

Повторите бисульфитное конвертирование. При необходимости можно использовать большее исходное количество ДНК.

#### Результат для пробы признан недействительным: получены недействительные результаты для FAM19A4 u/ulu hsa-mir124-2.

Недостаточное перемешивание

Перемешайте пробу и реакционную смесь пипетированием (приблизительно 10 раз на каждую пробирку). Повторите анализ пробы.

#### Результат для положительного контроля признан недействительным: амплификация слишком низкая либо отсутствует для одного или более объектов анализа

- a) Ошибка пипетирования или отсутствие каких-либо реагентов
- b) Частичная деградация
- c) Частичная деградация реагентов ПЦР
- d) Переворачивание стрипованной пробирки
- e) Срок годности
- f) Задержка между пипетированием проб и запуском цикла

Проверьте методику пипетирования и постановку реакции. Повторите цикл ПЦР.

Храните набор при температуре от -30 до -15°C. Не допускайте более трех циклов повторного замораживания и оттаивания.

Храните компоненты набора при температуре от -30 до -15°C и защищайте реакционные смеси от воздействия света.

Не допускайте повторного замораживания и оттаивания компонентов.

Проверьте методику пипетирования и постановку реакции.

Проверьте срок годности используемого набора.

Реакционные смеси для ПЦР можно хранить при температуре 2–8 °C в течение 30 минут в темноте между операциями внесения проб в реакционные смеси для ПЦР и запуска цикла на приборе.

## Комментарии и рекомендации

### Результат для контроля без матрицы (No Template Control, NTC) признан недействительным

- |  |  |
|--|--|
| a) Ошибка пипетирования                                | Проверьте методику пипетирования и постановку реакции. Повторите цикл ПЦР.   |
| b) Перекрестное загрязнение                            | Замените все наиболее важные реагенты<br>При работе с пробами, компонентами набора и расходными материалами всегда соблюдайте общепринятые правила во избежание загрязнения в результате следового переноса. |
| c) Загрязнение реагентов                               | Замените все наиболее важные реагенты<br>При работе с пробами, компонентами набора и расходными материалами всегда соблюдайте общепринятые правила во избежание загрязнения в результате следового переноса. |
| d) Переворачивание стрипованной пробирки               | Проверьте методику пипетирования и постановку реакции.   |
| e) Задержка между пипетированием проб и запуском цикла | Реакционные смеси для ПЦР можно хранить при температуре 2–8 °С в течение 30 минут в темноте между операциями внесения проб в реакционные смеси для ПЦР и запуска цикла на приборе.                           |
| f) Деградация зонда                                    | Защищайте реакционные смеси от воздействия света.<br>Проверяйте кривую флуоресценции на предмет наличия ложноположительных результатов.  |

### Отсутствие сигнала либо слишком слабый сигнал для пробы при успешном выполнении цикла с контролем

- |                          |   |
|--------------------------|---|
| a) Ингибирующее действие | Всегда убеждайтесь в отсутствии остатков буфера на фильтре после центрифугирования во время бисульфитного конвертирования.<br>Повторите бисульфитное конвертирование. |
| b) Ошибка пипетирования  | Проверьте методику пипетирования и постановку реакции. Повторите цикл ПЦР.  |

Если проблема сохраняется, обратитесь в Техническую службу QIAGEN.

# Ограничения

Реагенты QIASure Methylation Test разрешается использовать только для диагностики *in vitro*.

Применение тест-систем для ПЦР требует соблюдения принципов надлежащей лабораторной практики, в том числе в отношении технического обслуживания оборудования, предусмотренных для молекулярной биологии и соответствующих действующим нормативным требованиям и стандартам.

Реагенты и инструкции, прилагаемые к данному набору, утверждены как оптимальные с точки зрения эффективности работы.

Тест-система QIASure Methylation Test предназначена для применения профессиональными пользователями, обученными работе с приборами Rotor-Gene Q MDx и программой Rotor-Gene AssayManager версии 1.0.

Данный продукт должен использоваться только персоналом, прошедшим специальное обучение методикам постановки *real-time* PCR и методикам выполнения диагностических исследований *in vitro*. Все полученные диагностические результаты должны интерпретироваться с учетом других результатов клинического обследования и лабораторных анализов.

Для получения оптимальных результатов ПЦР необходимо строго соблюдать указания инструкции по применению (руководства).

Следует соблюдать сроки годности, указанные на коробке и на этикетках всех компонентов. Не используйте компоненты с истекшим сроком годности.

Для проб с низким качеством/малым количеством ДНК (напр., если значения  $C_t$  для АСТВ едва соответствуют критерию приемлемости; если значения  $C_t$  составляют от 25 до 26,4) могут быть получены ложноотрицательные результаты. Рекомендуется повторный анализ в одной повторности. Получение отрицательного результата при

---

повторном анализе означает, что проба отрицательна по гиперметилированию, а получение положительного результата в этом случае означает, что проба положительна по гиперметилированию.

Все реагенты, входящие в комплект поставки QIASure Methylation Test, предназначены для использования исключительно с другими реагентами в составе того же набора. Несоблюдение этого условия может привести к ухудшению качества работы системы.

Тест-система QIASure Methylation Test допущена к применению у ВИЧ-положительных женщин.

Тест-система QIASure Methylation Test допущена к применению для анализа цервикальных образцов, собранных и сохраненных в среде для сбора образцов PreservCyt или STM, а также собранных самостоятельно вагинальных соскобов в физиологическом растворе (0,9 % [м/о] NaCl). Тест-система QIASure Methylation Test не допущена к применению для анализа цервикальных образцов, собранных и сохраненных в средах для сбора образцов, содержащих формальдегид, напр. в среде BD® Surepath® или ее аналогах. Формальдегид вызывает перекрестное сшивание ДНК, которое может помешать выполнению анализа с помощью QIASure Methylation Test.

К применению в сочетании с тест-системой для ПЦР-анализа QIASure Methylation Test допущен только прибор Rotor-Gene Q MDx.

Любое использование данного продукта не в соответствии с инструкцией и/или внесение изменений в его компоненты влечет за собой освобождение компании Self-screen B.V. от обязательств в отношении него.

Пользователь отвечает за проверку качества работы системы при выполнении любых проводимых в его лаборатории процедур, не охваченных проведенными внутренними скрининговыми исследованиями качества работы системы.

# Рабочие характеристики

## Предел обнаружения (LOD)

Аналитическая чувствительность QIASure Methylation Test определялась как предел обнаружения 95 % (LOD 95 %) с использованием серии разведений плазмиды, содержащей все три последовательности ампликона (т. е. *ACTB*, *FAM19A4*, и *hsa-mir124-2*; в диапазоне от 750 000 до 0,25 копии на одну ПЦР). 95 % LOD для объектов анализа определялся как наименьшее разведение плазмиды, дающее положительные результаты минимум в 35 из 36 случаев ( $C_T < 40$ ). Всего было проведено 12 опытов четырьмя операторами (1 цикл на оператора в день) в использовании трех партий продукта и трех разных систем RGQ. В рамках каждого опыта выполнялся анализ 11 разведений плазмиды в трех повторностях. 95 % LOD для всех трех объектов анализа составил 7,5 копий на одну ПЦР.

## Линейность

Линейность для тест-системы QIASure определялась по данным 12 опытов, которые проводились для определения 95 % LOD. Для двух объектов анализа, *FAM19A4* и *hsa-mir124-2*, а также референсного гена *ACTB* была зафиксирована линейная амплификация в диапазоне от 750 000 до 7,5 копии на одну ПЦР.

## Прецизионность

Прецизионность QIASure Methylation Test определялась как вариативность результатов внутри одного анализа (вариативность по нескольким результатам анализа проб одинаковой концентрации в рамках одного опыта) и общая вариативность результатов анализа (вариативность по нескольким результатам анализа, полученным разными операторами на разных приборах с использованием разных партий продукта, в разных лабораториях). Анализ проводился на бисульфит-конвертированной ДНК, полученной из цервикального образца, положительного по ВПЧ (вирус папилломы человека) высокого риска, для которого был получен

положительный результат по гиперметилированию с сигналами как для *FAM19A4*, так и для *hsa-mir124-2* и концентрация аналитов в котором превышала концентрацию LOD приблизительно в 3 раза. Анализ проводился в двух повторностях в 8 циклах четырьмя операторами (один цикл на оператора в день) с использованием двух разных партий продукта и трех разных приборов RGQ, в двух лабораториях, что позволило получить 16 результатов для каждой пробы. Для значений  $C_T$  и  $\Delta\Delta C_T$  определялся коэффициент вариации (coefficient of variation, CV) (Таблица 3).

**Таблица 3. CV (coefficient of variation)% значений  $C_T$  и  $\Delta\Delta C_T$  для цервикальной пробы, положительной по метилированию**

	Тип пробы	Вариативность результатов разных анализов	Общая вариативность результатов анализа
Значение $C_T$	Внутренний контроль качества пробы (т. е. АСТВ)	0,3 %	1,32 %
	<i>FAM19A4</i>	1,02 %	1,52 %
	<i>hsa-mir124-2</i>	1,16%	1,64%
Значение $\Delta\Delta C_T$	<i>FAM19A4</i>	3,70%	5,97%
	<i>hsa-mir124-2</i>	4,21%	5,75%

Общий статистический разброс значений  $C_T$  для пробы указанной выше концентрации составил 1,32 % для внутреннего контроля качества пробы (АСТВ), 1,52 % — для *FAM19A4* и 1,64 % — для *hsa-mir124-2*. Общий статистический разброс значений  $\Delta\Delta C_T$  для пробы указанной выше концентрации составил 5,97% для *FAM19A4* и 5,75% — для *hsa-mir124-2*.

## Интерферирующие вещества

В качестве ингибиторов, способных оказывать действие на ход ПЦР, были выбраны десульфонирующий и промывочный буферы из набора для бисульфитного конвертирования. Вещества, потенциально присутствующие в исходной пробе, не исследовались исходя из того факта, что ДНК пробы дважды очищается кремниевыми гранулами, т. е. выполняются выделение ДНК из исходной пробы и очистка ДНК после бисульфитного конвертирования. Было зафиксировано интерферирующее влияние десульфонирующего и промывочного буферов в следовых количествах на ход ПЦР.



---

Оно было выявлено по недействительному результату анализа для внутреннего контроля качества пробы.

## Клиническая эффективность

### Цервикальные образцы, положительные по ВПЧ\*

Клиническая эффективность QIASure Methylation Test в отношении цервикальной интраэпителиальной неоплазии 3-й степени (ЦИН 3) и рака шейки матки (т. е. ЦИН 3+) оценивалась путем анализа 267 цервикальных образцов, положительных по ВПЧ высокого риска\*†, взятых у женщин в возрасте 18–85 лет. Для девяти проб (3,4 %) были получены значения  $S_t$  для АСТВ выше 26,4 и результаты анализа были признаны недействительными. Из 258 проб с действительными результатами анализа 117 цервикальных проб были получены у женщин без признаков ЦИН 2 или более тяжелой степени после 18 месяцев последующего наблюдения (сокращенно —  $\leq$ ЦИН 1), 42 — у пациенток с ЦИН 2, 30 — у пациенток с ЦИН 3, 59 — у больных с плоскоклеточной карциномой и 10 — у больных с аденокарциномой. Цервикальные пробы собирались в среду для сбора образцов PreservCyt (Hologic). Из цервикальных проб выделялась ДНК, и 250 нг ДНК использовалось в качестве исходного материала для реакции бисульфитного конвертирования (EZ DNA Methylation Kit, ZYMO Research). Из 250 нг модифицированной ДНК 20 % использовалось для ПЦР (это соответствовало 50 нг исходной целевой ДНК/одну ПЦР). Ниже представлены процентные показатели полученных при использовании QIASure Methylation Test положительных результатов, стратифицированные по клиническим конечным точкам (Таблица 4).

\* Цервикальные образцы, собранные врачом.

**Таблица 4. Процентные показатели положительных результатов, полученных при использовании QIASure Methylation Test**

Клиническая конечная точка	Соотношение	Процентный показатель положительных результатов (95 % ДИ)
≤ЦИН 1	24/117	20,5 % (14,1–28,8)
ЦИН 2	16/42	38,1 % (24,8–53,4)
ЦИН 3	20/30	66,7 % (48,4–84,0)
Плоскоклеточная карцинома	59/59	100,0 % (94,0–100,0)
Аденокарцинома	10/10	100,0 % (69,0–100,0)

Для цервикальных проб, положительных по ВПЧ высокого риска, чувствительность применительно к ЦИН 3+ составила 89,9 % (89/99; 95 % ДИ: 82,2–94,5), а применительно к карциноме чувствительность равнялась 100 % (69/69, 95 % ДИ: 94–100).\*

## Самостоятельно собранные вагинальные соскобы, положительные по ВПЧ

Клиническая эффективность QIASure Methylation Test применительно к самостоятельно собранным вагинальным соскобам в отношении распознавания цервикальной интраэпителиальной неоплазии 3-й степени и рака шейки матки (т. е. ЦИН 3+) оценивалась путем анализа 247 вагинальных образцов, положительных по ВПЧ высокого риска. Для 14 проб (5,7 %) значения Ст для АСТВ были >26,4 и результаты анализа были признаны недействительными. Из проб с действительными результатами анализа 148 самостоятельно собранных соскобов были получены у женщин с ≤ЦИН 1 после 18 месяцев последующего наблюдения, 24 — у пациенток с ЦИН 2, 50 — у пациенток с ЦИН 3, 8 — у больных с плоскоклеточной карциномой и 3 — у больных с аденокарциномой. Из вагинальных образцов выделялась ДНК, и 250 нг ДНК использовалось в качестве исходного материала для реакции бисульфитного конвертирования (EZ DNA methylation kit, ZYMO Research). Из 250 нг бисульфит-конвертированной ДНК 20 % использовалось для ПЦР (это соответствовало 50 нг исходной целевой ДНК/одну ПЦР). Ниже представлены процентные показатели полученных при использовании QIASure Methylation Test положительных результатов, стратифицированные по клиническим конечным точкам (Таблица 5).

\* **Замечание.** Гиперметилирование объектов анализа в пробах, полученных у женщин с ЦИН поздних стадий и/или раком шейки матки, может не выявляться из-за вариабельности способов забора проб, например при неправильном заборе пробы.

**Таблица 5. Процентные показатели положительных результатов, полученных при использовании QIASure Methylation Test**

Клиническая конечная точка	Соотношение	Процентный показатель положительных результатов (95 % ДИ)
≤ЦИН 1	34/148	23,0 % (16,9–30,4)
ЦИН 2	7/24	29,2 % (14,6–49,8)
ЦИН 3	33/50	66,0 % (52,0–77,7)
Плоскоклеточная карцинома	8/8	100,0 % (63,1–100,0)
Аденокарцинома	3/3	100,0 % (29,2–100,0)

Для вагинальных соскобов, положительных по ВПЧ высокого риска, чувствительность применительно к ЦИН 3+ составила 72,1% (44/61; 95 % ДИ: 59,7–81,9), а применительно к карциноме чувствительность равнялась 100 % (11/11, 95 % ДИ: 72–100).\*

### Эффективность исследования *FAM19A4* и *hsa-mir124-2* как способа выявления поздно трансформирующихся очагов ЦИН.

Анализ метилирования промоторов в клетках-хозяевах позволяет прицельно выявлять очаги ЦИН на так называемых поздних стадиях, которые характеризуются ракоподобным профилем метилирования и высоким краткосрочным риском перехода в рак 7, 8). Эффективность анализа на гиперметилирование промоторов *FAM19A4* и *hsa-mir124-2* оценивалась путем анализа 29 положительных по ВПЧ высокого риска образцов, полученных у женщин с поздно трансформирующейся ЦИН 2/3 и 19 положительных по ВПЧ высокого риска образцов, полученных у женщин с рано трансформирующейся ЦИН 2/3. Метилирование соотносилось в особенности с поздними стадиями заболевания, причем положительный по гиперметилированию результат был получен для всех очагов поздно трансформирующейся ЦИН 2/3 (100 %; 29/29; 95 % ДИ: 88–100), тогда как для рано трансформирующейся ЦИН 2/3 положительный результат был получен в 47 % случаев (9/19; 95 % ДИ: 27–69).

\* **Замечание.** Гиперметилирование объектов анализа в пробах, полученных у женщин с ЦИН поздних стадий и/или раком шейки матки, может не выявляться из-за вариабельности способов забора проб, например при неправильном заборе пробы.

## Надежность

Надежность QIASure Methylation Test определялась как степень совпадения результатов, полученных с помощью QIASure Methylation Test, и результатов, полученных с использованием версии тест-системы, предназначенной только для исследовательских целей (Research Use Only, RUO). Анализ выполнялся на бисульфит-конвертированной геномной ДНК, полученной из 10 цервикальных проб, положительных по ВПЧ высокого риска, 5 из которых были ранее признаны отрицательными по гиперметилированию применительно к обоим маркерам, а другие 5 — положительными по метилированию (напр., минимум по одному из 2 маркеров). Анализ проводился в двух повторностях и 8 циклах четырьмя операторами (один цикл на оператора в день) с использованием двух разных партий продукта и трех разных приборов Rotor-Gene Q MDx, в двух лабораториях. Всего для каждой пробы было получено 16 результатов (Таблица 6).

**Таблица 6. Совпадение результатов, полученных с помощью QIASure Methylation Test и версией тест-системы, предназначенной только для исследовательских целей (Research Use Only, RUO)**

Номер пробы	Результат, полученный на тест-системе RUO	Совпадения с RUO в лаб. 1	Совпадения с RUO в лаб. 2
1	Отр.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
2	Отр.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
3	Отр.	62,5 % (5/8)	62,5 % (5/8)
4	Отр.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
5	Отр.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
Подитог		92,5 % (37/40)	92,5 % (37/40)
6	Пол.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
7	Пол.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
8	Пол.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
9	Пол.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
10	Пол.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
Подитог		100 % (40/40)	100 % (40/40)
<b>Всего (положительных и отрицательных)</b>		<b>96,25 % (77/80)</b>	<b>96,25 % (77/80)</b>

---

Для четырех из пяти проб, ранее признанных отрицательными по метилированию, было продемонстрировано 100 % совпадение при использовании QIASure Methylation Test в обеих лабораториях. Для пробы 3 процент совпадения составил 62,5 % (5/8) для обеих лабораторий. Наблюдаемые отклонения относились к *FAM19A4* и фиксировались в случаях, когда его концентрация приблизительно равнялась порогу обнаружения для тест-системы. Общий показатель совпадения для отрицательных по метилированию проб составил 92,5 % (37/40).

Для всех 5 проб, ранее признанных положительными по метилированию, было продемонстрировано 100 % совпадение с референсной тест-системой — таким образом, общий процент совпадения составил 100 % (40/40).

### Бисульфитное конвертирование непосредственно на цервикальных образцах

















Протокол «Бисульфитное конвертирование непосредственно на цервикальных образцах» проверялся путем сопоставления с референсным протоколом (т. е. протоколом бисульфитного конвертирования с предшествующим контролем количества ДНК в пробе) на материале 119 цервикальных соскобов. После контрольного анализа проводился анализ с использованием QIASure Methylation Test. Показатель успеха при бисульфитном конвертировании непосредственно на цервикальных пробах с использованием в качестве исходного материала 2,5 % цервикального образца составил 95,8 % (114/119) и возрос до 100 % после повторного анализа образцов с недействительным результатом с использованием в качестве исходного материала 10 % образца. Процент совпадения результатов анализа с применением QIASure Methylation Test при сравнении протоколов бисульфитного конвертирования составил 90,8 % (108/119; при значении каппа 0,75).

# Литература

1. Costello, J.F., and Plass, C. (2001) Methylation matters. *J. Med. Genet.* **38**, 285–303.
2. Wiltong, S.M., et al. (2010) Methylation-mediated silencing and tumour suppressive function of *hsa-mir124* in cervical cancer. *Mol. Cancer* **9**, 167.
3. De Strooper, L.M., et al., (2014) Methylation analysis of the *FAM19A4* gene in cervical scrapes is highly efficient in detecting cervical carcinomas and advanced CIN2/3 lesions. *Cancer Prev. Res.* **7**, 1251–7.
4. De Strooper, L.M., et al. (2014) *CADM1*, *MAL* and *mir124-2* methylation analysis in cervical scrapes to detect cervical and endometrial cancer. *J. Clin. Pathol.* **67**, 1067–71.
5. De Strooper, L.M., et al. (2016) Comparing the performance of *FAM19A4* methylation analysis, cytology and HPV 16/18 genotyping for the detection of cervical (pre)cancer in high-risk HPV-positive women of a gynecologic outpatient population (COMETH study). *Int. J. Cancer* **138**, 992–1002.
6. De Strooper, L.M., et al. (2016) Validation of the *FAM19A4/mir124-2* DNA methylation test for both lavage- and brush-based self-samples to detect cervical (pre)cancer in HPV-positive women. *Gynecol. Oncol.* **141**, 341–7.
7. Bierkens, M. et al. (2013) *CADM1* and *MAL* promoter methylation levels in hrHPV-positive cervical scrapes increase proportional to degree and duration of underlying cervical disease. *Int. J. Cancer* **133**, 1293–9.
8. Steenbergen, R.D.M. et al. (2014) Clinical implications of (epi)genetic changes in HPV-induced precancerous lesions. *Nat. Rev. Cancer* **14**, 395–405.
9. Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* **25**, 402–8.
10. De Strooper, L.M., et al. (2018) Cervical cancer risk in HPV-positive women after a negative *FAM19A4/miR124-2* methylation test: A post hoc analysis in the POBASCAM trial with 14 year follow-up. *Int. J. Cancer* **143**, 1541-1548.

# Обозначения

На упаковке и этикетках могут присутствовать следующие символы.

Символ	Значение символа
	Срок годности
	Изделие медицинского назначения для диагностики in vitro
	Символ маркировки CE
	Содержит реагенты для <N> реакций
	Номер по каталогу
	Номер партии
	Номер материала
	Компоненты
	Содержит
	Номер
<b>Rn</b>	«R» — редакция инструкции по применению (руководства), «n» — номер редакции
	Глобальный торговый номер единицы
	Ограничение по температуре
	Изготовитель
	Подлежит защите от воздействия света
	Обратитесь к инструкции по применению
	Внимание!

---

## Контактная информация

По вопросам технической поддержки и для получения дополнительной информации обращайтесь в Центр технической поддержки по адресу **[www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support)**, по тел. 00800-22-44-6000 или через отделы технической поддержки QIAGEN либо региональных дистрибьюторов (см. последнюю страницу обложки или веб-сайт **[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)**).



# Информация для заказа

Продукт	Содержание	№ по каталогу
QIASure Methylation Test Kit	Для 72 реакций: 2 мастер-микса, 2 калибратора.	616014
<b>Rotor-Gene Q MDx</b>		
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Циклер для Real-time PCR и анализатор кривых плавления с высоким разрешением с 5 каналами (зеленый, желтый, оранжевый, красный, алый) плюс канал HRM, ноутбук, программное обеспечение, дополнительные принадлежности; предусмотрена гарантия 1 год на детали и изготовление, а также услуги по установке и обучению	9002033
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Циклер для Real-time PCR и анализатор кривых плавления с высоким разрешением с 5 каналами (зеленый, желтый, оранжевый, красный, алый) плюс канал HRM, ноутбук, программное обеспечение, дополнительные принадлежности; предусмотрена гарантия 1 год на детали и изготовление (услуги по установке и обучению не включены)	9002032
<b>Дополнительные принадлежности к прибору Rotor-Gene Q MDx</b>		
Loading Block 72 x 0.1ml Tubes	Алюминиевый блок для ручной постановки реакции в 72 пробирках	9018901

## Информация для заказа

Продукт	Содержание	№ по каталогу
	0,1 мл с использованием одноканальной пипетки	
Strip Tubes and Caps, 0.1ml (250)	250 стрипов из 4 пробирок с колпачками для 1000 реакций	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1ml (2500)	10 x 250 стрипов из 4 пробирок с колпачками для 10 000 реакций	981106
<b>Rotor-Gene AssayManager — для стандартных процедур анализа с использованием приборов Rotor-Gene Q MDx</b>		
Rotor-Gene AssayManager	Программа для выполнения стандартных процедур анализа с использованием приборов Rotor-Gene Q и QIA Symphony RGQ; программа с одиночной лицензией для установки на один компьютер	9022739

Актуальную информацию о лицензиях, а также заявления об отказе от ответственности применительно к конкретным продуктам см. в соответствующем руководстве к набору QIAGEN или руководстве пользователя. С руководствами к наборам QIAGEN и руководствами пользователя можно ознакомиться на веб-сайте по адресу [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Их также можно заказать через техническую службу QIAGEN или регионального дистрибьютора.

---

Эта страница оставлена пустой намеренно.

# История изменения документа

Дата	Изменения
R4, июнь 2019 г.	Внесены изменения в графическую схему рабочего процесса в разделе «Принцип действия и порядок работы»; добавлен набор EpiTest Fast 96 Bisulfite Kit в раздел «Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки»; изменено содержание раздела «Информация по технике безопасности»; добавлена информация о цикле разогрева для RGQ MDx 5-plex HRM; изменен раздел «Подготовка проб»; добавлен новый пункт в раздел «Поиск и устранение неисправностей»; добавлена тема «Бисульфитное конвертирование непосредственно на цервикальных образцах» в раздел «Рабочие характеристики»; обновлен раздел «Литература»; внесены изменения в схему расположения пробирок

## Ограниченное лицензионное соглашение для QIASure Methylation Test

Использование настоящего продукта означает согласие покупателя или пользователя продукта со следующими условиями:

1. Изделие можно использовать исключительно в соответствии с протоколами, прилагаемыми к изделию, и настоящим руководством, причем только с компонентами, которые входят в состав набора. Компания QIAGEN не предоставляет лицензии в рамках своей интеллектуальной собственности на использование или объединение прилагаемых компонентов настоящего набора с какими-либо компонентами, не входящими в настоящий набор, за исключением случаев, описанных в протоколах, предоставляемых вместе с продуктом, данным руководством и дополнительных протоколах, доступных по адресу [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Некоторые из таких дополнительных протоколов предоставлены пользователями продукции компании QIAGEN для пользователей продукции компании QIAGEN. Такие протоколы не были всесторонне проверены или оптимизированы компанией QIAGEN. Компания QIAGEN не гарантирует их правильности, а также не гарантирует того, что они не нарушают прав третьих лиц.
2. Кроме официально заявленных лицензий, компания QIAGEN не предоставляет никаких гарантий того, что данный набор и/или его использование не нарушают прав третьих лиц.
3. Данный набор и его компоненты лицензированы для одnorазового использования и не подлежат повторному использованию, перепродаже или перепродаже.
4. Компания QIAGEN прямо отказывается от всех прочих лицензий, заявленных или подразумеваемых, кроме тех, о которых заявлено официально.
5. Покупатель и пользователь данного набора соглашаются не совершать и не допускать совершения другими лицами каких-либо действий, которые могут привести к любым действиям, запрещенным выше, или способствовать им. Компания QIAGEN может требовать исполнения запретов, предусмотренных настоящим ограниченным лицензионным соглашением, в судебном порядке в любом суде и получать возмещение всех понесенных ею следственных и судебных издержек, включая стоимость юридических услуг, по любому иску, направленному на исполнение настоящего ограниченного лицензионного соглашения или любого из своих прав на интеллектуальную собственность, связанных с набором и/или его компонентами.

Актуальные условия лицензии см. на сайте по адресу [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

**Официальным производителем QIASure Methylation Test является компания Self-screen B.V.**

**Тест-система QIASure Methylation Test производится Self-screen B.V., а ее продажа в Европе осуществляется компанией QIAGEN.**

Товарные знаки: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *digene*®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (группа QIAGEN); BD®, SurePath® (Becton Dickinson); EZ DNA Methylation™ (Zymo Research Corp.); NanoDrop® (NanoDrop Technologies LLC); PreservCyte® (Hologic, Inc.); Qubit® (Molecular Probes, Inc.). Используемые в настоящем документе зарегистрированные наименования, товарные знаки и т. п., даже не отмеченные специально как таковые, не должны рассматриваться как не защищенные законодательством.

06-2019 HB-2304-004 1117742 © QIAGEN, 2019 г. Все права защищены.

---

Контактная информация для заказа: [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Техническая поддержка: [support.qiagen.com](mailto:support.qiagen.com)  
Веб-сайт: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)