

амплификации. Интенсивность сигнала пропорциональна концентрации продукта ПЦР, что в сочетании с возможностью оценить кинетику процесса позволяет проводить количественное определение выбранной последовательности.

Для постановки ПЦР в реальном времени необходим амплификатор, обладающий способностью возбуждать и детектировать флуоресценцию на каждом цикле амплификации. Прибор состоит из трех блоков: амплификатора (термический блок), флуоресцентного детектора и компьютера с прилагаемым программным обеспечением.

Для выявления продуктов амплификации в режиме реального времени используют интеркалирующие красители (например, SybrGreen I) или специфические флуоресцентные зонды (например, система TaqMan). В первом варианте флуоресцентный краситель связывается с синтезируемой двухцепочечной ДНК с возникновением флуоресцентного свечения.

Во втором варианте используются ДНК-зонды, в состав которых введена флуоресцентная метка и гаситель флуоресценции. На стадии элонгации полимераза синтезирует комплементарную цепь ДНК и по достижении участка зонда расщепляет его, благодаря наличию 5'-экзонуклеазной активности. В результате происходит разъединение флуоресцентной метки и гасителя, что приводит к появлению детектируемого свечения.

Используемые реагенты, оборудование, условия ПЦР и программу расчета указывают в фармакопейной статье и нормативной документации или приводят ссылку на инструкцию по применению набора реагентов для ПЦР.

Оценка результатов

Полученные результаты учитывают, если одновременные испытания положительных и отрицательных стандартных или контрольных образцов дают соответственно положительные и отрицательные ответы.

При необходимости определения нуклеиновой кислоты, для которой