

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2017 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
однонуклеотидных полиморфизмов гена *HFE*
методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени
с детекцией кривых плавления
«РеалБест-Генетика Гемохроматоз (*HFE* 187 C/G)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена *HFE* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления «РеалБест-Генетика Гемохроматоз (*HFE* 187 C/G)» предназначен для определения однонуклеотидного полиморфизма 187 C/G (*His63Asp*) гена *HFE* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с плавлением продуктов гибридизации с флуоресцентной меткой с последующим анализом кривых плавления.

Выделение ДНК из клинического материала (бuccального эпителия, цельной крови) осуществляется с помощью наборов «РеалБест-Генетика ДНК-экспресс» или «РеалБест экстракция 100».

Набор предназначен для применения с регистрирующими амплификаторами: «CFX96» (фирма «Bio-Rad», США) или «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Набор реагентов рассчитан на проведение анализа 48 образцов, включая контрольные.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Белок гемоферритин (*HFE*) в норме взаимодействует с рецептором трансферрина 1 (*TFR1*), понижая его чувствительность к трансферрину - белку-переносчику железа. В случае полиморфизма 845 G/A в гене *HFE* белок полностью теряет способность связываться с *TFR1*; при полиморфизмах 187 C/G и 193 A/T аффинность к *TFR1* снижается в меньшей степени. Это приводит к тому, что на фоне повышения уровня сывороточного железа формируется

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором по производству Ткачевым В.К. и нач. отделения производства ПЦР наборов Трухиной А.В.

ложный сигнал о низком содержании железа в организме, вследствие чего усиливается захват железа и его избыточное накопление в клетках. При превышении концентрации железа в тканях более чем в 10–20 раз по сравнению с нормой развивается заболевание наследственный HFE-ассоциированный гемохроматоз (гемохроматоз I типа). Проведение молекулярно-генетического анализа позволяет подтвердить наследственную природу гемохроматоза и исключить вторичный характер перегрузки железом.

2.1. Принцип метода.

Принцип метода основан на амплификации выбранного участка ДНК человека и последующей детекции кривых плавления гибридных комплексов продуктов ПЦР и специфичных зондов. Процесс амплификации заключается в повторяющихся циклах: температурная денатурация ДНК-матрицы, отжиг праймеров с комплементарными последовательностями ДНК-матрицы, синтез комплементарной цепи с этих праймеров Taq ДНК-полимеразой.

После реакции амплификации понижение температуры приводит к гибридизации специфичного ДНК-зонда с продуктом амплификации и к снижению уровня флуоресцентного сигнала в пробирке. В процессе температурного плавления образовавшихся дуплексов происходит высвобождение ДНК-зонда, несущего флуоресцентный краситель. В случае неполной комплементарности ДНК-зонда и выбранного участка ДНК, температура плавления дуплекса будет ниже, чем в случае полной комплементарности. Таким образом, для двух аллельных вариантов температуры плавления дуплексов зонда и продуктов амплификации отличаются, благодаря этому идентифицируется генотип (нормальная гомозигота, гетерозигота, мутантная гомозигота).

2.2. Состав набора:

В состав набора входят следующие компоненты:

- контрольный образец «Нормальная гомозигота» (КО1) – 1 пробирка, 1 мл;
- контрольный образец «Мутантная гомозигота» (КО2) – 1 пробирка, 1 мл;
- готовая реакционная смесь для ПЦР (ГРС), лиофилизированная – 48 пробирок;
- элюирующий раствор «Генетика» – 2 фл. по 12 мл.

Принадлежности:

- оптическая плёнка – 1 лист.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность определения однонуклеотидного полиморфизма 187 C/G гена *HFE* определяется по стандартному образцу предприятия, СОП (рег. № 05-2-610).

Специфичность составляет 100 % при условии, что генотип по однонуклеотидному полиморфизму 187 C/G гена *HFE* в образцах №1 и №2 определяется в соответствии с инструкцией к СОП.

3.2. Для КО1 должно фиксироваться наличие одного пика плавления, соответствующего генотипу «Нормальная гомозигота», и определяться значение температуры плавления: $(47 \pm 3)^\circ\text{C}$.

3.3. Для КО2 должно фиксироваться наличие одного пика плавления, соответствующего генотипу «Мутантная гомозигота», и определяться значение температуры плавления: $(57 \pm 3)^\circ\text{C}$.

3.4. Диагностическая специфичность определения полиморфизма 187 C/G гена *HFE*: клинические испытания, проведенные на 217 образцах, показали 100% специфичность (интервал 98,6% - 100%, с доверительной вероятностью 90 %).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Внимание! Несоблюдение приведённых ниже требований может привести к искажению результатов ПЦР.

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

4.3. Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения ДНК/РНК и постановки ПЦР согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые медицинские перчатки.

4.5. Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором дозаторов переменного объема, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.

4.6. Для проведения реакции амплификации с детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени необходимо использовать только одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов.

4.7. Не допускается использование одних и тех же наконечников при добавлении разных образцов.

4.8. После окончания работ для дезинфекции и предотвращения контаминации все ра-

бочие поверхности и оборудование следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Затем обработать регламентированными санитарными правилами дезинфицирующими средствами (такими, как: 0,2% раствор «ДП-2Т»; 1-3% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 0,5-1% раствор «Мистраль»; 0,5-2% раствор «Велтолен»).

4.9. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

4.10. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- амплификатор с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени:
«CFX96» (фирма «Bio-Rad», США), «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия);
- ламинарный бокс 2-го класса биологической защиты (бокс абактериальной воздушной среды типа БАВп-01, «Ламинар-с», АО «Ламинарные системы, Россия);
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру (2-8) °С;
- мини-шейкер PSU-2T (фирма «BioSan», Латвия);
- микроцентрифуга типа «Eppendorf MiniSpin» (фирма «Eppendorf», Германия);
- дозаторы одноканальные с переменным объемом, со сменными наконечниками (фирма «Biohit», Финляндия);
- встряхиватель для пробирок (Bio-Vortex V-1 plus, фирма «BioSan», Латвия);
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые (перчатки «NeoTouch», фирма «Ansell HealthCare», Германия);
- одноразовые наконечники для дозаторов с защитным фильтром /аэрозольным барьером (фирма «FinnTir», Финляндия);
- штативы для микропробирок вместимостью 1,5 – 2 мл и 0,2 мл (фирма «Хеликон», Россия);
- контейнер для сброса отходов («Контейнер для сброса острого инструментария – ЕК-01», фирма «КМ-ПРОЕКТ», Россия);
- магнитный штатив для пробирок (фирма АО «Вектор-Бест», Россия);

— нож канцелярский.

6. ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ

6.1. Подготовка анализируемых образцов.

Для анализа подготовить клинические образцы (буккального эпителия, цельной крови) с помощью наборов для выделения ДНК «РеалБест-Генетика ДНК-экспресс» или «РеалБест экстракция 100».

Каждая группа образцов, проходящая через процедуру выделения ДНК, должна содержать КО1 и КО2, которые являются компонентами данного набора.

6.1.1. Выделение ДНК с помощью набора реагентов «РеалБест экстракция 100».

Выделение ДНК из образцов проводить без добавления внутреннего контрольного образца (ВКО). КО1 и КО2 проходят процедуру выделения ДНК аналогично положительному контрольному образцу (ПКО) (см. инструкцию набора для выделения).

Элюцию образцов проводить в 200 мкл элюирующего раствора, входящего в состав набора для выделения. Затем добавить 400 мкл элюирующего раствора «Генетика», входящего в состав данного набора. Тщательно перемешать на вортексе. Центрифугировать на микроцентрифуге при 13000 об/мин 1 минуту. Установить пробирки в магнитный штатив.

6.1.2. Выделение ДНК с помощью набора реагентов «РеалБест-Генетика ДНК-экспресс».

Выделение ДНК из образцов проводить согласно инструкции набора. Пробы готовы к постановке ПЦР-анализа.

6.1.3. Выделенную ДНК хранить при температуре (2-8) °С не более 24 часов.

6.2. Подготовка реагентов.

Перед началом работы извлечь набор из холодильника, выдержать пробирки с ГРС в упаковке (не вскрывая!) при температуре (18-25) °С не менее 30 минут. Затем вскрыть упаковку, аккуратно с помощью канцелярского ножа отрезать необходимое количество (по числу подготовленных проб, включая контрольные образцы: 1 КО1 и 1 КО2) пробирок с ГРС. Отрезать пробирки следует вместе с покрывающей их пленкой.

Внимание! Оставшиеся неиспользованными пробирки с ГРС упаковать в цефленовый пакет с осушителем, удалить из него лишний воздух и плотно закрыть зажим.

После первого вскрытия упаковки срок годности ГРС при температуре хранения (2-8) °С составляет 3 месяца.

КО1 и КО2 после вскрытия пробирок хранить при температуре (2-8) °С не более 1 месяца или аликвотами по 50 мкл при температуре минус (18-24) °С не более 3 месяцев.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Необходимое количество пробирок с ГРС пронумеровать и расположить в штативе.

Внимание! Надписи следует располагать на боковой части пробирок. Оптическая плёнка должна оставаться чистой!

7.2. В каждую пробирку дозатором с отдельным наконечником с фильтром внести по 50 мкл раствора выделенной ДНК. Не захватывать осадок!

Плотно заклеить пробирки оптической плёнкой.

7.3. Поместить пробирки в мини-шейкер. Перемешать содержимое пробирок с частотой вращения 1200 об/мин в течение 1 минуты.

7.4. Поместить пробирки в амплификатор.

7.5. Запрограммировать прибор для проведения амплификации специфического фрагмента ДНК человека и регистрации кривых плавления.

Программирование амплификатора проводить в соответствии с инструкцией к прибору и пп. 7.6.-7.9.

7.6. Запрограммировать протокол проведения реакции амплификации и детекции кривых плавления:

для прибора «CFX96»:

— 1 стадия: 50 °C – 2 минуты;

— 2 стадия: 95 °C – 2 минуты;

— 3 стадия: 50 циклов (94 °C – 10 секунд, 60 °C – 20 секунд);

— 4 стадия: «кривая плавления» от 27 °C до 75 °C с шагом 1 °C в течение 5 секунд (измерение флуоресценции проводить на каждом шаге);

— 5 стадия: 10 °C – 1 минута.

для прибора «ДТ-96»:

— 1 стадия: 50 °C – 2 минуты;

— 2 стадия: 95 °C – 2 минуты;

— 3 стадия: 50 циклов (94 °C – 10 секунд, 60 °C – 20 секунд);

— 4 стадия: «кривая плавления» от 27 °C до 75 °C с шагом 1 °C в течение 13 секунд (измерение флуоресценции проводить на каждом шаге);

— 5 стадия: 10 °C – хранение.

7.7. Выбрать канал «ROX» для детекции кривых плавления дуплексов специфичного зонда и продукта амплификации для регистрации однонуклеотидного полиморфизма 187 C/G.

7.8. Запрограммировать положение пробирок с исследуемыми и контрольными

образцами согласно инструкции к используемому прибору.

7.9. Запустить программу и провести реакцию амплификации с регистрацией флуоресценции в режиме реального времени.

8. АНАЛИЗ И УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Условия анализа и учёта результатов

Для КО1 в канале детекции «ROX» должно фиксироваться наличие одного пика плавления, соответствующего генотипу «Нормальная гомозигота», и определяться значение температуры плавления.

Для КО2 в канале детекции «ROX» должно фиксироваться наличие одного пика плавления, соответствующего генотипу «Мутантная гомозигота», и определяться значение температуры плавления.

8.2. Анализ результатов определения однонуклеотидного полиморфизма 187 C/G.

8.2.1. Для каждого исследуемого образца в канале детекции «ROX» должен фиксироваться один (в случае гомозиготного носительства) или два (в случае гетерозиготного носительства) пика плавления и определяться значение температуры плавления.

8.2.2. Генотип анализируемого образца по полиморфизму 187 C/G учитывается как «Нормальная гомозигота 187 C/C», если для этого образца фиксируется наличие одного пика плавления, при этом значение отличается не более чем на 2 °C от температуры плавления для КО1.

8.2.3. Генотип анализируемого образца по полиморфизму 187 C/G учитывается как «Мутантная гомозигота 187 G/G», если для этого образца фиксируется наличие одного пика плавления, при этом значение отличается не более чем на 2 °C от температуры плавления для КО2.

8.2.4. Генотип анализируемого образца по полиморфизму 187 C/G учитывается как «Гетерозигота 187 C/G», если для этого образца фиксируется наличие двух пиков плавления, при этом значение одного отличается не более чем на 2 °C от температуры плавления для КО1, а температура второго отличается не более чем на 2 °C от температуры плавления для КО2.

8.3. Результат генотипирования считается сомнительным, если температура плавления продуктов гибридизации отличается более чем на 2 °C от значений, полученных для КО1 и/или КО2. Сомнительные результаты не подлежат анализу и учёту. В случае сомнительного результата необходимо провести повторный анализ данного образца, начиная с этапа выделения ДНК или забора материала.

8.4. Диагностическая значимость определения однонуклеотидных полиморфизмов гена *HFE* описана в литературе:

1. Adams P.C., Reboussin D.M., Barton J.C. et al. Hemochromatosis and iron-overload screening in a racially diverse population// N. Engl. J. Med. - 2005. - Vol. 352. – P. 1769–1778.

2. Powell L.W., Dixon J.L., Ramm G.A. et al. Screening for hemochromatosis in asymptomatic subjects with or without a family history// Arch Intern. Med. - 2006. - Vol. 166. - P. 294–301.

3. Powell L.E. New developments in hereditary hemochromatosis// Ces. a Slov.Gastroent. and Hepatology. - 2008. - Vol. 62 (Suppl. 2). - P. 67–70.

4. Полунина Т.Е., Маев И.В. Синдром перегрузки железом: современное состояние проблемы// Фарматека. - 2008. - № 13. - С. 54–61.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток.

9.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение данной инструкции по применению набора.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

10.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

10.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора «РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 187 C/G)», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел. (383) 332-92-49, 227-60-30; тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Начальник отделения
АО «Вектор-Бест»

А.В. Трухина

Директор по производству
АО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

Руководитель отдела
«Клинические исследования»
ООО «Независимая лаборатория ИНВИТРО»
м.п.

Р.С. Годунов



Прошнуровано, пронумеровано и
скреплено печатью 9 листов.

Отв. за учет договоров

ООО "Независимая лаборатория ИНВИТРО"

Годунов Р.С.

"31" мая

2014 г.



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2017 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
однонуклеотидных полиморфизмов гена *HFE*
методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени
с детекцией кривых плавления

«РеалБест-Генетика Гемохроматоз (*HFE* 193 A/T)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена *HFE* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления «РеалБест-Генетика Гемохроматоз (*HFE* 193 A/T)» предназначен для определения однонуклеотидного полиморфизма 193 A/T (*Ser65Cys*) гена *HFE* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с плавлением продуктов гибридизации с флуоресцентной меткой с последующим анализом кривых плавления.

Выделение ДНК из клинического материала (бuccального эпителия, цельной крови) осуществляется с помощью наборов «РеалБест-Генетика ДНК-экспресс» или «РеалБест экстракция 100».

Набор предназначен для применения с регистрирующими амплификаторами: «CFX96» (фирма «Bio-Rad», США) или «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Набор реагентов рассчитан на проведение анализа 48 образцов, включая контрольные.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Белок гемоферритин (*HFE*) в норме взаимодействует с рецептором трансферрина 1 (*TFR1*), понижая его чувствительность к трансферрину – белку-переносчику железа. В случае полиморфизма 845 G/A в гене *HFE* белок полностью теряет способность связываться с *TFR1*; при полиморфизмах 187 C/G и 193 A/T аффинность к *TFR1* снижается в меньшей степени. Это приводит к тому, что на фоне повышения уровня сывороточного железа формиру-

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором по производству Ткачевым В.К. и нач. отделения производства ПЦР наборов Трухиной А.В.

ется ложный сигнал о низком содержании железа в организме, вследствие чего усиливается захват железа и его избыточное накопление в клетках. При превышении концентрации железа в тканях более чем в 10–20 раз по сравнению с нормой развивается заболевание наследственный HFE-ассоциированный гемохроматоз (гемохроматоз I типа). Проведение молекулярно-генетического анализа позволяет подтвердить наследственную природу гемохроматоза и исключить вторичный характер перегрузки железом.

2.1. Принцип метода.

Принцип метода основан на амплификации выбранного участка ДНК человека и последующей детекции кривых плавления гибридных комплексов продуктов ПЦР и специфичных зондов. Процесс амплификации заключается в повторяющихся циклах: температурная денатурация ДНК-матрицы, отжиг праймеров с комплементарными последовательностями ДНК-матрицы, синтез комплементарной цепи с этих праймеров Taq ДНК-полимеразой.

После реакции амплификации понижение температуры приводит к гибридизации специфичного ДНК-зонда с продуктом амплификации и к снижению уровня флуоресцентного сигнала в пробирке. В процессе температурного плавления образовавшихся дуплексов происходит высвобождение ДНК-зонда, несущего флуоресцентный краситель. В случае неполной комплементарности ДНК-зонда и выбранного участка ДНК, температура плавления дуплекса будет ниже, чем в случае полной комплементарности. Таким образом, для двух аллельных вариантов температуры плавления дуплексов зонда и продуктов амплификации отличаются, благодаря этому идентифицируется генотип (нормальная гомозигота, гетерозигота, мутантная гомозигота).

2.2. Состав набора:

В состав набора входят следующие компоненты:

- контрольный образец «Нормальная гомозигота» (KO1) – 1 пробирка, 1 мл;
- контрольный образец «Мутантная гомозигота» (KO2) – 1 пробирка, 1 мл;
- готовая реакционная смесь для ПЦР (ГРС), лиофилизированная – 48 пробирок;
- элюирующий раствор «Генетика» – 2 фл. по 12 мл.

Принадлежности:

- оптическая плёнка – 1 лист.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность определения однонуклеотидного полиморфизма 193 А/Т гена *HFE* определяется по стандартному образцу предприятия, СОП (рег. № 05-2-610).

Специфичность составляет 100 % при условии, что генотип по однонуклеотидному полиморфизму 193 А/Т гена *HFE* в образцах №1 и №2 определяется в соответствии с инструкцией к СОП.

3.2. Для КО1 должно фиксироваться наличие одного пика плавления, соответствующего генотипу «Нормальная гомозигота», и определяться значение температуры плавления: $(46 \pm 3)^\circ\text{C}$.

3.3. Для КО2 должно фиксироваться наличие одного пика плавления, соответствующего генотипу «Мутантная гомозигота», и определяться значение температуры плавления: $(54 \pm 3)^\circ\text{C}$.

3.4. Диагностическая специфичность определения полиморфизма 193 А/Т гена *HFE*: клинические испытания, проведенные на 217 образцах, показали 100% специфичность (интервал 98,6% - 100%, с доверительной вероятностью 90 %).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Внимание! Несоблюдение приведённых ниже требований может привести к искажению результатов ПЦР.

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

4.3. Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения ДНК/РНК и постановки ПЦР согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые медицинские перчатки.

4.5. Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором дозаторов переменного объема, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.

4.6. Для проведения реакции амплификации с детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени необходимо использовать только одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов.

4.7. Не допускается использование одних и тех же наконечников при добавлении разных образцов.

4.8. После окончания работ для дезинфекции и предотвращения контаминации все ра-

бочие поверхности и оборудование следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Затем обработать регламентированными санитарными правилами дезинфицирующими средствами (такими, как: 0,2% раствор «ДП-2Т»; 1-3% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 0,5-1% раствор «Мистраль»; 0,5-2% раствор «Велтолен»).

4.9. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

4.10. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- амплификатор с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени: «CFX96» (фирма «Bio-Rad», США), «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия);
- ламинарный бокс 2-го класса биологической защиты (бокс абактериальной воздушной среды типа БАВп-01, «Ламинар-с», АО «Ламинарные системы, Россия);
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру (2-8) °С;
- мини-шейкер PSU-2T (фирма «BioSan», Латвия);
- микроцентрифуга типа «Eppendorf MiniSpin» (фирма «Eppendorf», Германия);
- дозаторы одноканальные с переменным объемом, со сменными наконечниками (фирма «Biohit», Финляндия);
- встряхиватель для пробирок (Bio-Vortex V-1 plus, фирма «BioSan», Латвия);
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые (перчатки «NeoTouch», фирма «Ansell HealthCare», Германия);
- одноразовые наконечники для дозаторов с защитным фильтром /аэрозольным барьером (фирма «FinnTip», Финляндия);
- штативы для микропробирок вместимостью 1,5 – 2 мл и 0,2 мл (фирма «Хеликон», Россия);
- контейнер для сброса отходов («Контейнер для сброса острого инструментария – ЕК-01», фирма «КМ-ПРОЕКТ», Россия);
- магнитный штатив для пробирок (фирма АО «Вектор-Бест», Россия);

– нож канцелярский.

6. ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ

6.1. Подготовка анализируемых образцов.

Для анализа подготовить клинические образцы (буккального эпителия, цельной крови) с помощью наборов для выделения ДНК «РеалБест-Генетика ДНК-экспресс» или «РеалБест экстракция 100».

Каждая группа образцов, проходящая через процедуру выделения ДНК, должна содержать КО1 и КО2, которые являются компонентами данного набора.

6.1.1. Выделение ДНК с помощью набора реагентов «РеалБест экстракция 100».

Выделение ДНК из образцов проводить без добавления внутреннего контрольного образца (ВКО). КО1 и КО2 проходят процедуру выделения ДНК аналогично положительному контрольному образцу (ПКО) (см. инструкцию набора для выделения).

Элюцию образцов проводить в 200 мкл элюирующего раствора, входящего в состав набора для выделения. Затем добавить 400 мкл элюирующего раствора «Генетика», входящего в состав данного набора. Тщательно перемешать на вортексе. Центрифугировать на микроцентрифуге при 13000 об/мин 1 минуту. Установить пробирки в магнитный штатив.

6.1.2. Выделение ДНК с помощью набора реагентов «РеалБест-Генетика ДНК-экспресс».

Выделение ДНК из образцов проводить согласно инструкции набора. Пробы готовы к постановке ПЦР-анализа.

6.1.3. Выделенную ДНК хранить при температуре (2-8) °С не более 24 часов.

6.2. Подготовка реагентов.

Перед началом работы извлечь набор из холодильника, выдержать пробирки с ГРС в упаковке (не вскрывая!) при температуре (18-25) °С не менее 30 минут. Затем вскрыть упаковку, аккуратно с помощью канцелярского ножа отрезать необходимое количество (по числу подготовленных проб, включая контрольные образцы: 1 КО1 и 1 КО2) пробирок с ГРС. Отрезать пробирки следует вместе с покрывающей их пленкой.

Внимание! Оставшиеся неиспользованными пробирки с ГРС упаковать в цефленовый пакет с осушителем, удалить из него лишний воздух и плотно закрыть зажим.

После первого вскрытия упаковки срок годности ГРС при температуре хранения (2-8) °С составляет 3 месяца.

КО1 и КО2 после вскрытия пробирок хранить при температуре (2-8) °С не более 1 месяца или аликвотами по 50 мкл при температуре минус (18-24) °С не более 3 месяцев.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Необходимое количество пробирок с ГРС пронумеровать и расположить в штативе.

Внимание! Надписи следует располагать на боковой части пробирок. Оптическая плёнка должна оставаться чистой!

7.2. В каждую пробирку дозатором с отдельным наконечником с фильтром внести по 50 мкл раствора выделенной ДНК. Не захватывать осадок!

Плотно заклеить пробирки оптической плёнкой.

7.3. Поместить пробирки в мини-шейкер. Перемешать содержимое пробирок с частотой вращения 1200 об/мин в течение 1 минуты.

7.4. Поместить пробирки в амплификатор.

7.5. Запрограммировать прибор для проведения амплификации специфического фрагмента ДНК человека и регистрации кривых плавления.

Программирование амплификатора проводить в соответствии с инструкцией к прибору и пп. 7.6.-7.9.

7.6. Запрограммировать протокол проведения реакции амплификации и детекции кривых плавления:

для прибора «CFX96»:

— 1 стадия: 50 °C – 2 мин;

— 2 стадия: 95 °C – 2 мин;

— 3 стадия: 50 циклов (94 °C – 10 сек, 60 °C – 20 сек);

— 4 стадия: «кривая плавления» от 27 °C до 75 °C с шагом 1 °C в течение 5 сек (измерение флуоресценции проводить на каждом шаге);

— 5 стадия: 10 °C – 1 мин.

для прибора «ДТ-96»:

— 1 стадия: 50 °C – 2 мин;

— 2 стадия: 95 °C – 2 мин;

— 3 стадия: 50 циклов (94 °C – 10 сек, 60 °C – 20 сек);

— 4 стадия: «кривая плавления» от 27 °C до 75 °C с шагом 1 °C в течение 13 сек (измерение флуоресценции проводить на каждом шаге);

— 5 стадия: 10 °C – хранение.

7.7. Выбрать канал «FAM» для детекции кривых плавления дуплексов специфичного зонда и продукта амплификации для регистрации однонуклеотидного полиморфизма 193 А/Т.

7.8. Запрограммировать положение пробирок с исследуемыми и контрольными

образцами согласно инструкции к используемому прибору.

7.9. Запустить программу и провести реакцию амплификации с регистрацией флуоресценции в режиме реального времени.

8. АНАЛИЗ И УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Условия анализа и учёта результатов

Для КО1 в канале детекции «FAM» должно фиксироваться наличие одного пика плавления, соответствующего генотипу «Нормальная гомозигота», и определяться значение температуры плавления.

Для КО2 в канале детекции «FAM» должно фиксироваться наличие одного пика плавления, соответствующего генотипу «Мутантная гомозигота», и определяться значение температуры плавления.

8.2. Анализ результатов определения однонуклеотидного полиморфизма 193 А/Т.

8.2.1. Для каждого исследуемого образца в канале детекции «FAM» должен фиксироваться один (в случае гомозиготного носительства) или два (в случае гетерозиготного носительства) пика плавления и определяться значение температуры плавления.

8.2.2. Генотип анализируемого образца по полиморфизму 193 А/Т учитывается как «Нормальная гомозигота 193 А/А», если для этого образца фиксируется наличие одного пика плавления, при этом значение отличается не более чем на 2 °С от температуры плавления КО1.

8.2.3. Генотип анализируемого образца по полиморфизму 193 А/Т учитывается как «Мутантная гомозигота 193 Т/Т», если для этого образца фиксируется наличие одного пика плавления, при этом значение отличается не более чем на 2 °С от температуры плавления для образца КО2.

8.2.4. Генотип анализируемого образца по полиморфизму 193 А/Т учитывается как «Гетерозигота 193 А/Т», если для этого образца фиксируется наличие двух пиков плавления, при этом значение одного отличается не более чем на 2 °С от температуры плавления для образца КО1, а температура второго отличается не более чем на 2 °С от температуры плавления для образца КО2.

8.3. Результат генотипирования считается сомнительным, если температура плавления продуктов гибридизации отличается более чем на 2 °С от значений, полученных для КО1 и/или КО2. Сомнительные результаты не подлежат анализу и учёту. В случае сомнительного результата необходимо провести повторный анализ данного образца, начиная с этапа выделения ДНК или забора материала.

8.4. Диагностическая значимость определения однонуклеотидных полиморфизмов гена *HFE* описана в литературе:

1. Adams P.C., Reboussin D.M., Barton J.C. et al. Hemochromatosis and iron-overload screening in a racially diverse population// N. Engl. J. Med. - 2005. - Vol. 352. – P. 1769–1778.
2. Powell L.W., Dixon J.L., Ramm G.A. et al. Screening for hemochromatosis in asymptomatic subjects with or without a family history// Arch Intern. Med. - 2006. - Vol. 166. - P. 294–301.
3. Powell L.E. New developments in hereditary hemochromatosis// Ces. a Slov.Gastroent. and Hepatology. - 2008. - Vol. 62 (Suppl. 2). - P. 67–70.
4. Полунина Т.Е., Маев И.В. Синдром перегрузки железом: современное состояние проблемы// Фарматека. - 2008. - № 13. - С. 54–61.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток.

9.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение данной инструкции по применению набора.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

10.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

10.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора «РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 193 A/T)», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел. (383) 332-92-49, 227-60-30; тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Начальник отделения
АО «Вектор-Бест»

А.В. Трухина

Директор по производству
АО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

Руководитель отдела
«Клинические исследования»
ООО «Независимая лаборатория ИНВИТРО»
м.п.



Р.С. Годунов

Прошнуровано, пронумеровано и
скреплено печатью 9 листов.

Отв. за учет договоров

ООО "Независимая лаборатория ИНВИТРО"

Годунов Р.С.

"31" мар

2014



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»



М.Д. Хусаинов

2017 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
однонуклеотидных полиморфизмов гена *HFE*
методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени
с детекцией кривых плавления

«РеалБест-Генетика Гемохроматоз (*HFE* 845 G/A)»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена *HFE* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления «РеалБест-Генетика Гемохроматоз (*HFE* 845 G/A)» предназначен для определения однонуклеотидного полиморфизма 845 G/A (*Cys282Tyr*) гена *HFE* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с плавлением продуктов гибридизации с флуоресцентной меткой с последующим анализом кривых плавления.

Выделение ДНК из клинического материала (бuccального эпителия, цельной крови) осуществляется с помощью наборов «РеалБест-Генетика ДНК-экспресс» или «РеалБест экстракция 100».

Набор предназначен для применения с регистрирующими амплификаторами: «CFX96» (фирма «Bio-Rad», США) или «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Набор реагентов рассчитан на проведение анализа 48 образцов, включая контрольные.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Белок гемоферритин (*HFE*) в норме взаимодействует с рецептором трансферрина 1 (*TFR1*), понижая его чувствительность к трансферрину – белку-переносчику железа. В случае полиморфизма 845 G/A в гене *HFE* белок полностью теряет способность связываться с *TFR1*; при полиморфизмах 187 C/G и 193 A/T аффинность к *TFR1* снижается в меньшей степени. Это приводит к тому, что на фоне повышения уровня сывороточного железа формиру-

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором по производству Ткачевым В.К. и нач. отделения производства ПЦР наборов Трухиной А.В.

ется ложный сигнал о низком содержании железа в организме, вследствие чего усиливается захват железа и его избыточное накопление в клетках. При превышении концентрации железа в тканях более чем в 10–20 раз по сравнению с нормой развивается заболевание наследственный HFE-ассоциированный гемохроматоз (гемохроматоз I типа). Проведение молекулярно-генетического анализа позволяет подтвердить наследственную природу гемохроматоза и исключить вторичный характер перегрузки железом.

2.1. Принцип метода.

Принцип метода основан на амплификации выбранного участка ДНК человека и последующей детекции кривых плавления гибридных комплексов продуктов ПЦР и специфичных зондов. Процесс амплификации заключается в повторяющихся циклах: температурная денатурация ДНК-матрицы, отжиг праймеров с комплементарными последовательностями ДНК-матрицы, синтез комплементарной цепи с этих праймеров Taq ДНК-полимеразой.

После реакции амплификации понижение температуры приводит к гибридизации специфичного ДНК-зонда с продуктом амплификации и к снижению уровня флуоресцентного сигнала в пробирке. В процессе температурного плавления образовавшихся дуплексов происходит высвобождение ДНК-зонда, несущего флуоресцентный краситель. В случае неполной комплементарности ДНК-зонда и выбранного участка ДНК, температура плавления дуплекса будет ниже, чем в случае полной комплементарности. Таким образом, для двух аллельных вариантов температуры плавления дуплексов зонда и продуктов амплификации отличаются, благодаря этому идентифицируется генотип (нормальная гомозигота, гетерозигота, мутантная гомозигота).

2.2. Состав набора:

В состав набора входят следующие компоненты:

- контрольный образец «Нормальная гомозигота» (КО1) – 1 пробирка, 1 мл;
- контрольный образец «Мутантная гомозигота» (КО2) – 1 пробирка, 1 мл;
- готовая реакционная смесь для ПЦР (ГРС), лиофилизированная – 48 пробирок;
- элюирующий раствор «Генетика» – 2 фл. по 12 мл.

Принадлежности:

- оптическая плёнка – 1 лист.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфичность определения однонуклеотидного полиморфизма 193 А/Т гена *HFE* определяется по стандартному образцу предприятия, СОП (рег. № 05-2-610).

Специфичность составляет 100 % при условии, что генотип по однонуклеотидному полиморфизму 193 А/Т гена *HFE* в образцах №1 и №2 определяется в соответствии с инструкцией к СОП.

3.2. Для КО1 должно фиксироваться наличие одного пика плавления, соответствующего генотипу «Нормальная гомозигота», и определяться значение температуры плавления: $(40 \pm 3)^\circ\text{C}$.

3.3. Для КО2 должно фиксироваться наличие одного пика плавления, соответствующего генотипу «Мутантная гомозигота», и определяться значение температуры плавления: $(48 \pm 3)^\circ\text{C}$.

3.4. Диагностическая специфичность определения полиморфизма 845 G/A гена *HFE*: клинические испытания, проведенные на 217 образцах, показали 100% специфичность (интервал 98,6% - 100%, с доверительной вероятностью 90 %).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Внимание! Несоблюдение приведённых ниже требований может привести к искажению результатов ПЦР.

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

4.3. Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения ДНК/РНК и постановки ПЦР согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые медицинские перчатки.

4.5. Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором дозаторов переменного объема, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.

4.6. Для проведения реакции амплификации с детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени необходимо использовать только одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов.

4.7. Не допускается использование одних и тех же наконечников при добавлении разных образцов.

4.8. После окончания работ для дезинфекции и предотвращения контаминации все ра-

бочие поверхности и оборудование следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Затем обработать регламентированными санитарными правилами дезинфицирующими средствами (такими, как: 0,2% раствор «ДП-2Т»; 1-3% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 0,5-1% раствор «Мистраль»; 0,5-2% раствор «Велтолен»).

4.9. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

4.10. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- амплификатор с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени:
«CFX96» (фирма «Bio-Rad», США), «ДТ-96» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия);
- ламинарный бокс 2-го класса биологической защиты (бокс абактериальной воздушной среды типа БАВп-01, «Ламинар-с», АО «Ламинарные системы, Россия);
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру (2-8) °С;
- мини-шейкер PSU-2T (фирма «BioSan», Латвия);
- микроцентрифуга типа «Eppendorf MiniSpin» (фирма «Eppendorf», Германия);
- дозаторы одноканальные с переменным объемом, со сменными наконечниками (фирма «Biohit», Финляндия);
- встряхиватель для пробирок (Bio-Vortex V-1 plus, фирма «BioSan», Латвия);
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые (перчатки «NeoTouch», фирма «Ansell HealthCare», Германия);
- одноразовые наконечники для дозаторов с защитным фильтром /аэрозольным барьером (фирма «FinnTip», Финляндия);
- штативы для микропробирок вместимостью 1,5 – 2 мл и 0,2 мл (фирма «Хеликон», Россия);
- контейнер для сброса отходов («Контейнер для сброса острого инструментария – ЕК-01», фирма «КМ-ПРОЕКТ», Россия);
- магнитный штатив для пробирок (фирма АО «Вектор-Бест», Россия);

– нож канцелярский.

6. ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ

6.1. Подготовка анализируемых образцов.

Для анализа подготовить клинические образцы (буккального эпителия, цельной крови) с помощью наборов для выделения ДНК «РеалБест-Генетика ДНК-экспресс» или «РеалБест экстракция 100».

Каждая группа образцов, проходящая через процедуру выделения ДНК, должна содержать КО1 и КО2, которые являются компонентами данного набора.

6.1.1. Выделение ДНК с помощью набора реагентов «РеалБест экстракция 100».

Выделение ДНК из образцов проводить без добавления внутреннего контрольного образца (ВКО). КО1 и КО2 проходят процедуру выделения ДНК аналогично положительному контрольному образцу (ПКО) (см. инструкцию набора для выделения).

Элюцию образцов проводить в 200 мкл элюирующего раствора, входящего в состав набора для выделения. Затем добавить 400 мкл элюирующего раствора «Генетика», входящего в состав данного набора. Тщательно перемешать на вортексе. Центрифугировать на микроцентрифуге при 13000 об/мин 1 минуту. Установить пробирки в магнитный штатив.

6.1.2. Выделение ДНК с помощью набора реагентов «РеалБест-Генетика ДНК-экспресс».

Выделение ДНК из образцов проводить согласно инструкции набора. Пробы готовы к постановке ПЦР-анализа.

6.1.3. Выделенную ДНК хранить при температуре (2-8) °С не более 24 часов.

6.2. Подготовка реагентов.

Перед началом работы извлечь набор из холодильника, выдержать пробирки с ГРС в упаковке (не вскрывая!) при температуре (18-25) °С не менее 30 минут. Затем вскрыть упаковку, аккуратно с помощью канцелярского ножа отрезать необходимое количество (по числу подготовленных проб, включая контрольные образцы: 1 КО1 и 1 КО2) пробирок с ГРС. Отрезать пробирки следует вместе с покрывающей их пленкой.

Внимание! Оставшиеся неиспользованными пробирки с ГРС упаковать в цефленовый пакет с осушителем, удалить из него лишний воздух и плотно закрыть зажим.

После первого вскрытия упаковки срок годности ГРС при температуре хранения (2-8) °С составляет 3 месяца.

КО1 и КО2 после вскрытия пробирок хранить при температуре (2-8) °С не более 1 месяца или аликвотами по 50 мкл при температуре минус (18-24) °С не более 3 месяцев.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Необходимое количество пробирок с ГРС пронумеровать и расположить в штативе.

Внимание! Надписи следует располагать на боковой части пробирок. Оптическая плёнка должна оставаться чистой!

7.2. В каждую пробирку дозатором с отдельным наконечником с фильтром внести по 50 мкл раствора выделенной ДНК. Не захватывать осадок!

Плотно заклеить пробирки оптической плёнкой.

7.3. Поместить пробирки в мини-шейкер. Перемешать содержимое пробирок с частотой вращения 1200 об/мин в течение 1 минуты.

7.4. Поместить пробирки в амплификатор.

7.5. Запрограммировать прибор для проведения амплификации специфического фрагмента ДНК человека и регистрации кривых плавления.

Программирование амплификатора проводить в соответствии с инструкцией к прибору и пп. 7.6.-7.9.

7.6. Запрограммировать протокол проведения реакции амплификации и детекции кривых плавления:

для прибора «CFX96»:

— 1 стадия: 50 °C – 2 мин;

— 2 стадия: 95 °C – 2 мин;

— 3 стадия: 50 циклов (94 °C – 10 сек, 60 °C – 20 сек);

— 4 стадия: «кривая плавления» от 27 °C до 75 °C с шагом 1 °C в течение 5 сек (измерение флуоресценции проводить на каждом шаге);

— 5 стадия: 10 °C – 1 мин.

для прибора «ДТ-96»:

— 1 стадия: 50 °C – 2 мин;

— 2 стадия: 95 °C – 2 мин;

— 3 стадия: 50 циклов (94 °C – 10 сек, 60 °C – 20 сек);

— 4 стадия: «кривая плавления» от 27 °C до 75 °C с шагом 1 °C в течение 13 сек (измерение флуоресценции проводить на каждом шаге);

— 5 стадия: 10 °C – хранение.

7.7. Выбрать канал «FAM» для детекции кривых плавления дуплексов специфического зонда и продукта амплификации для регистрации однонуклеотидного полиморфизма 845 G/A.

7.8. Запрограммировать положение пробирок с исследуемыми и контрольными

образцами согласно инструкции к используемому прибору.

7.9. Запустить программу и провести реакцию амплификации с регистрацией флуоресценции в режиме реального времени.

8. АНАЛИЗ И УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Условия анализа и учёта результатов

Для КО1 в канале детекции «FAM» должно фиксироваться наличие одного пика плавления, соответствующего генотипу «Нормальная гомозигота», и определяться значение температуры плавления.

Для КО2 в канале детекции «FAM» должно фиксироваться наличие одного пика плавления, соответствующего генотипу «Мутантная гомозигота», и определяться значение температуры плавления.

8.2. Анализ результатов определения однонуклеотидного полиморфизма 845 G/A.

8.2.1. Для каждого исследуемого образца в канале детекции «FAM» должен фиксироваться один (в случае гомозиготного носительства) или два (в случае гетерозиготного носительства) пика плавления и определяться значение температуры плавления.

8.2.2. Генотип анализируемого образца по полиморфизму 845 G/A учитывается как «Нормальная гомозигота 845 G/G», если для этого образца фиксируется наличие одного пика плавления, при этом значение отличается не более чем на 2 °C от температуры плавления КО1.

8.2.3. Генотип анализируемого образца по полиморфизму 845 G/A учитывается как «Мутантная гомозигота 845 A/A», если для этого образца фиксируется наличие одного пика плавления, при этом значение отличается не более чем на 2 °C от температуры плавления для образца КО2.

8.2.4. Генотип анализируемого образца по полиморфизму 845 G/A учитывается как «Гетерозигота 845 G/A», если для этого образца фиксируется наличие двух пиков плавления, при этом значение одного отличается не более чем на 2 °C от температуры плавления для образца КО1, а температура второго отличается не более чем на 2 °C от температуры плавления для образца КО2.

8.3. Результат генотипирования считается сомнительным, если температура плавления продуктов гибридизации отличается более чем на 2 °C от значений, полученных для КО1 и/или КО2. Сомнительные результаты не подлежат анализу и учёту. В случае сомнительного результата необходимо провести повторный анализ данного образца, начиная с этапа выделения ДНК или забора материала.

8.4. Диагностическая значимость определения однонуклеотидных полиморфизмов гена *HFE* описана в литературе:

1. Adams P.C., Reboussin D.M., Barton J.C. et al. Hemochromatosis and iron-overload screening in a racially diverse population// N. Engl. J. Med. - 2005. - Vol. 352. – P. 1769–1778.

2. Powell L.W., Dixon J.L., Ramm G.A. et al. Screening for hemochromatosis in asymptomatic subjects with or without a family history// Arch Intern. Med. - 2006. - Vol. 166. - P. 294–301.

3. Powell L.E. New developments in hereditary hemochromatosis// Ces. a Slov.Gastroent. and Hepatology. - 2008. - Vol. 62 (Suppl. 2). - P. 67–70.

4. Полунина Т.Е., Маев И.В. Синдром перегрузки железом: современное состояние проблемы// Фарматека. - 2008. - № 13. - С. 54–61.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток.

9.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.4. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение данной инструкции по применению набора.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

10.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

10.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора «РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 845 G/A)», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел. (383) 332-92-49, 227-60-30; тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Начальник отделения
АО «Вектор-Бест»

А.В. Трухина

Директор по производству
АО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

Руководитель отдела
«Клинические исследования»
ООО «Независимая лаборатория ИНВИТРО»
м.п.

Р.С. Годунов



Прошнуровано, пронумеровано и
скреплено печатью 9 листов.

Отв. за учет договоров

ООО "Независимая лаборатория ИНВИТРО"

Годунов Р.С.

"31" мая 2017 г.



ПАСПОРТ № 903-16

РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 187 C/G)

Набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена HFE методом
полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления

ТУ 9398-547-23548172-2016

Номер серии 1

Дата изготовления 2016-04-08

Дата выдачи паспорта 2016-04-08

Срок годности наборов до 2017-04-08

Хранить при температуре 2-8°C. Транспортировать при
температуре 2-8°C. Допускается транспортирование при
температуре до 25°C не более 10 суток.



Наименование показателя	Характеристика и нормы	Рез-ты контроля
Внешний вид		
Контрольный образец "Нормальная гомозигота" (КО1), серия 1	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл (соответствует)
Контрольный образец "Мутантная гомозигота" (КО2), серия 1	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл (соответствует)
Готовая реакционная смесь для ПЦР (ГРС), серия 1	Аморфная масса белого цвета, 48 пробирок (6 стрипов по 8 пробирок)	Аморфная масса белого цвета, 48 пробирок (6 стрипов по 8 пробирок) (соответствует)
Элюирующий раствор "Генетика", серия 1	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 флакона по 12 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 флакона по 12 мл (соответствует)
Принадлежности:		
Оптическая пленка	1 лист	1 лист (соответствует)
Технические характеристики		
Температура плавления дуплекса специфичного ДНК-зонда и продукта амплификации для КО1, °C	47±3	47 (соответствует)
Температура плавления дуплекса специфичного ДНК-зонда и продукта амплификации для КО2, °C	57±3	57 (соответствует)
Специфичность определения однонуклеотидного полиморфизма HFE по стандартному образцу предприятия СОП 05-2-610, %	100	100 (соответствует)

В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт.

Включение: Показатели качества, комплектность, упаковка и маркировка соответствуют требованиям
ТУ 9398-547-23548172-2016

Научный сотрудник ОБТК

В.В. ШАПРОВ



ПАСПОРТ № 1003-16

РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 187 C/G)

Набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена HFE методом
линейной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления

ТУ 9398-547-23548172-2016

Номер серии 2

Дата изготовления 2016-04-12

Дата выдачи паспорта 2016-04-12

Срок годности наборов до 2017-04-12

Хранить при температуре 2-8°C. Транспортировать при
температуре 2-8°C. Допускается транспортирование при
температуре до 25°C не более 10 суток.

Наименование показателя	Характеристика и нормы	Рез-ты контроля
Внешний вид		
Контрольный образец "Нормальная гомозигота" (KO1), серия 2	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл (соответствует)
Контрольный образец "Мутантная гомозигота" (KO2), серия 2	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл (соответствует)
Базовая реакционная смесь для ПЦР (ГРС), серия 2	Аморфная масса белого цвета, 48 пробирок (6 стрипов по 8 пробирок)	Аморфная масса белого цвета, 48 пробирок (6 стрипов по 8 пробирок) (соответствует)
Буферный раствор "Генетика", серия 2	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 флакона по 12 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 флакона по 12 мл (соответствует)
Срок годности:		
Печатная пленка	1 лист	1 лист (соответствует)
Технические характеристики		
Температура плавления дуплекса специфичного ДНК-продукта и продукта амплификации для KO1, °C	47±3	47 (соответствует)
Температура плавления дуплекса специфичного ДНК-продукта и продукта амплификации для KO2, °C	57±3	57 (соответствует)
Специфичность определения однонуклеотидного полиморфизма HFE по стандартному образцу предприятия СОП 05-2-610, %	100	100 (соответствует)

В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт.

Заключение: Показатели качества, комплектность, упаковка и маркировка соответствуют требованиям
ТУ 9398-547-23548172-2016

М.П. ОБТК

В.В. ШАПРОВ



ПАСПОРТ № 904-16

РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 193 A/T)

набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена HFE методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления

ТУ 9398-547-23548172-2016

Номер серии 1

Дата изготовления 2016-04-08
 Дата выдачи паспорта 2016-04-08

Срок годности наборов до 2017-04-08

хранить при температуре 2-8°C. Транспортировать при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 суток.



Наименование показателя	Характеристика и нормы	Рез-ты контроля
внешний вид		
контрольный образец "Нормальная гомозигота" (KO1), серия 1	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл (соответствует)
контрольный образец "Мутантная гомозигота" (KO2), серия 1	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл (соответствует)
исходная реакционная смесь для ПЦР (ГРС), серия 1	Аморфная масса белого цвета, 48 пробирок (6 стрипов по 8 пробирок)	Аморфная масса белого цвета, 48 пробирок (6 стрипов по 8 пробирок) (соответствует)
растворяющий раствор "Генетика", серия 1	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 флакона по 12 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 флакона по 12 мл (соответствует)
надлежности:		
техническая пленка	1 лист	1 лист (соответствует)
Технические характеристики		
температура плавления дуплекса специфичного ДНК-продукта и продукта амплификации для KO1, °C	46±3	46 (соответствует)
температура плавления дуплекса специфичного ДНК-продукта и продукта амплификации для KO2, °C	54±3	54 (соответствует)
специфичность определения однонуклеотидного полиморфизма HFE по стандартному образцу предприятия СОП 05-2-610, %	100	100 (соответствует)

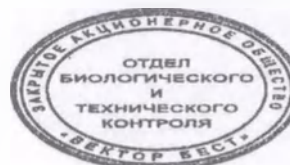
В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт.

Заключение: Показатели качества, комплектность, упаковка и маркировка соответствуют требованиям ТУ 9398-547-23548172-2016

Заместитель ОБТК

Handwritten signature

В.В. ШАПРОВ



ПАСПОРТ № 1004-16

РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 193 A/T)

реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена HFE методом
микроанализа цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления

ТУ 9398-547-23548172-2016

Номер серии 2

Дата изготовления 2016-04-12
Дата выдачи паспорта 2016-04-12

Срок годности наборов до 2017-04-12

при температуре 2-8°C. Транспортировать при
температуре 2-8°C. Допускается транспортирование при
температуре до 25°C не более 10 суток.



Наименование показателя	Характеристика и нормы	Рез-ты контроля
Внешний вид		
Исходный образец "Нормальная гомозигота" (КО1), 2	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл (соответствует)
Контрольный образец "Мутантная гомозигота" (КО2), 2	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл (соответствует)
Суспензионная реакционная смесь для ПЦР (ГРС), серия 2	Аморфная масса белого цвета, 48 пробирок (6 стрипов по 8 пробирок)	Аморфная масса белого цвета, 48 пробирок (6 стрипов по 8 пробирок) (соответствует)
Растворяющий раствор "Генетика", серия 2	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 флакона по 12 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 флакона по 12 мл (соответствует)
Содержимое упаковки:		
Печатная пленка	1 лист	1 лист (соответствует)
Технические характеристики		
Температура плавления дуплекса специфичного ДНК- продукта и продукта амплификации для КО1, °C	46±3	46 (соответствует)
Температура плавления дуплекса специфичного ДНК- продукта и продукта амплификации для КО2, °C	54±3	54 (соответствует)
Специфичность определения однонуклеотидного полиморфизма HFE по стандартному образцу предприятия СОП 05-2-610, %	100	100 (соответствует)

В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт.

Заключение: Показатели качества, комплектность, упаковка и маркировка соответствуют требованиям
ТУ 9398-547-23548172-2016

Мальчик ОБТК

В.В. ШАПРОВ

В.В. ШАПРОВ



ПАСПОРТ № 905-16

РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 845 G/A)

набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена HFE методом
матричной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления

ТУ 9398-547-23548172-2016

Номер серии 1

Дата изготовления 2016-04-08

Дата выдачи паспорта 2016-04-08

Срок годности наборов до 2017-04-08

хранить при температуре 2-8°C. Транспортировать при
температуре 2-8°C. Допускается транспортирование при
температуре до 25°C не более 10 суток.

Наименование показателя	Характеристика и нормы	Рез-ты контроля
Внешний вид		
Исходный образец "Нормальная гомозигота" (KO1), 1 шт	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл (соответствует)
Контрольный образец "Мутантная гомозигота" (KO2), 1 шт	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл (соответствует)
Суспензионная реакционная смесь для ПЦР (ГРС), серия 1	Аморфная масса белого цвета, 48 пробирок (6 стрипов по 8 пробирок)	Аморфная масса белого цвета, 48 пробирок (6 стрипов по 8 пробирок) (соответствует)
Растворяющий раствор "Генетика", серия 1	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 флакона по 12 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 флакона по 12 мл (соответствует)
Срок годности:		
Печатная пленка	1 лист	1 лист (соответствует)
Технические характеристики		
Температура плавления дуплекса специфичного ДНК-продукта и продукта амплификации для KO1, °C	40±3	40 (соответствует)
Температура плавления дуплекса специфичного ДНК-продукта и продукта амплификации для KO2, °C	48±3	48 (соответствует)
Специфичность определения однонуклеотидного полиморфизма HFE по стандартному образцу при помощи СОП 05-2-610, %	100	100 (соответствует)

В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт.

Закключение: Показатели качества, комплектность, упаковка и маркировка соответствуют требованиям
ТУ 9398-547-23548172-2016

Менеджер ОБТК

В.В. ШАПРОВ



ПАСПОРТ № 1005-16

РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 845 G/A)

Набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена HFE методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления

ТУ 9398-547-23548172-2016

Номер серии 2

Дата изготовления 2016-04-12
Дата выдачи паспорта 2016-04-12

Срок годности набора до 2017-04-12

Хранить при температуре 2-8°C. Транспортировать при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 суток.

Наименование показателя	Характеристика и нормы	Рез-ты контроля
Внешний вид		
Контрольный образец "Нормальная гомозигота" (KO1), серия 2	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл (соответствует)
Контрольный образец "Мутантная гомозигота" (KO2), серия 2	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка, 1 мл (соответствует)
Суспензионная реакционная смесь для ПЦР (ГРС), серия 2	Аморфная масса белого цвета, 48 пробирок (6 стрипов по 8 пробирок)	Аморфная масса белого цвета, 48 пробирок (6 стрипов по 8 пробирок) (соответствует)
Растворяющий раствор "Генетика", серия 2	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 флакона по 12 мл	Прозрачная бесцветная жидкость, 2 флакона по 12 мл (соответствует)
Принадлежности:		
Печечная пленка	1 лист	1 лист (соответствует)
Технические характеристики		
Температура плавления дуплекса специфического ДНК-продукта и продукта амплификации для KO1, °C	40±3	40 (соответствует)
Температура плавления дуплекса специфического ДНК-продукта и продукта амплификации для KO2, °C	48±3	48 (соответствует)
Специфичность определения однонуклеотидного полиморфизма HFE по стандартному образцу по приложению СОП 05-2-610, %	100	100 (соответствует)

В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт.

Вывод: Показатели качества, комплектность, упаковка и маркировка соответствуют требованиям ТУ 9398-547-23548172-2016

Менеджер ОБТК

В.В. ШАПРОВ





Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
6 листов

[Handwritten signature]



«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ЗАО «Вектор-Бест»
М.Д. Хусаинов
«02» апреля 2016 г.

Образцы маркировки на Набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена HFE методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления (РеалБест-Генетика Гемохроматоз)

1. Образцы этикеток на компоненты набора “РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 187 C/G)”

Наименование компонента	Этикетка
Готовая реакционная смесь для ПЦР	
Контрольный образец “Нормальная гомозигота”	
Контрольный образец “Мутантная гомозигота”	
Элюирующий раствор “Генетика”	

2. Образцы этикеток на коробку набора “РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 187 C/G)”

2.1. Верхняя этикетка.

набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена HFE методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления
РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 187 C/G)
состав: 1. Контрольный образец “Нормальная гомозигота” 2. Контрольный образец “Мутантная гомозигота” 3. Готовая реакционная смесь для ПЦР 4. Элюирующий раствор “Генетика” Принадлежности: Оптическая пленка
ТУ 9398-547-23548172-2016 РУ

2.2. Боковая этикетка.

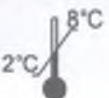
РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 187 C/G)

Примечание. Непосредственно на коробку типографским способом наносятся следующие надписи:

1. ЗАО “Вектор-Бест”

2. Россия, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово, тел/факс: (383) 332-67-49, 332-67-52

3. Образцы этикеток на ящик для наборов "РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 187 C/G)"

	REF	D-XXXX	набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена <i>HFE</i> методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления	
		РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 187 C/G)		
		XXXX-XX-XX		
		YYYY-YY-YY	LOT	X
	Масса нетто набора	XX кг		
Масса нетто	XX кг	Кол-во наборов	X X X X	
Масса брутто	XX кг			
	ЗАО «Вектор-Бест» 630559 Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, АБК			

«СОГЛАСОВАНО»

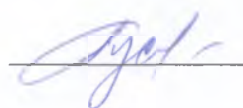
Директор по производству
ЗАО «Вектор-Бест»



В.К. Ткачев

«05 апреля» 2016 г.

Коммерческий директор
ЗАО «Вектор-Бест»

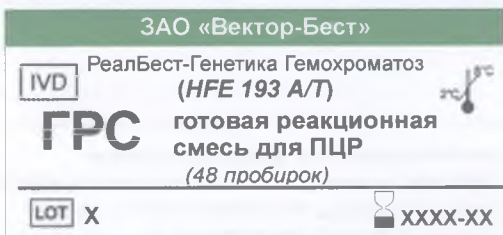
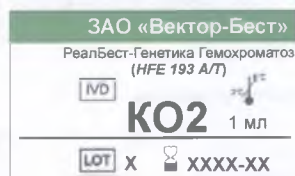
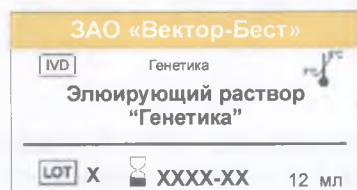


Ю.М. Гусев

«05 апреля» 2016 г.

Образцы маркировки на Набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена HFE методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления (РеалБест-Генетика Гемохроматоз)

1. Образцы этикеток на компоненты набора «РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 193 A/T)»

Наименование компонента	Этикетка
Готовая реакционная смесь для ПЦР	
Контрольный образец «Нормальная гомозигота»	
Контрольный образец «Мутантная гомозигота»	
Элюирующий раствор «Генетика»	

2. Образцы этикеток на коробку набора «РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 193 A/ T)»

2.1. Верхняя этикетка.

набор реагентов для определения
однонуклеотидных полиморфизмов гена HFE
методом полимеразной цепной реакции
в режиме реального времени
с детекцией кривых плавления

**РеалБест-Генетика
Гемохроматоз (HFE 193 A/T)**

состав:

1. Контрольный образец «Нормальная гомозигота»
2. Контрольный образец «Мутантная гомозигота»
3. Готовая реакционная смесь для ПЦР
4. Элюирующий раствор «Генетика»

Принадлежности:
Оптическая пленка

ТУ 9398-547-23548172-2016
РУ

2.2. Боковая этикетка.

набор реагентов для определения
однонуклеотидных полиморфизмов гена HFE
методом полимеразной цепной реакции
в режиме реального времени
с детекцией кривых плавления

LOT X

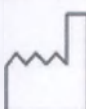

**РеалБест-Генетика
Гемохроматоз (HFE 193 A/T)**

Примечание. Непосредственно на коробку типографским способом наносятся следующие надписи:

1. ЗАО «Вектор-Бест»

2. Россия, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово, тел/факс: (383) 332-67-49, 332-67-52

3. Образцы этикеток на ящик для наборов "РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 193 A/T)"

	REF	D-XXXX	набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена <i>HFE</i> методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления					
		XXXX-XX-XX	РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 193 A/T)					
		YYYY-YY-YY	LOT	<table border="1"> <tr> <td>X</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	X			
	X							
	Масса нетто набора	XX кг	Кол-во наборов	<table border="1"> <tr> <td>X</td> <td>X</td> <td>X</td> <td>X</td> </tr> </table>	X	X	X	X
X	X	X			X			
Масса нетто	XX кг							
Масса брутто	XX кг							
	ЗАО «Вектор-Бест» 630559 Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, АБК							

«СОГЛАСОВАНО»

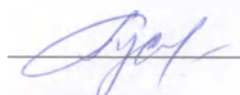
Директор по производству
ЗАО «Вектор-Бест»

Коммерческий директор
ЗАО «Вектор-Бест»



В.К. Ткачев

«05» апреля 2016 г.



Ю.М. Гусев

«05» апреля 2016 г.



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ЗАО «Вектор-Бест»
М.Д. Хусаинов
2016 г.

Образцы маркировки на Набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена HFE методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления (РеалБест-Генетика Гемохроматоз)

1. Образцы этикеток на компоненты набора «РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 845 G/A)»

Наименование компонента	Этикетка
Готовая реакционная смесь для ПЦР	
Контрольный образец «Нормальная гомозигота»	
Контрольный образец «Мутантная гомозигота»	
Элюирующий раствор «Генетика»	

2. Образцы этикеток на коробку набора «РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 845 G/A)»

2.1. Верхняя этикетка.

набор реагентов для определения
однонуклеотидных полиморфизмов гена HFE
методом полимеразной цепной реакции
в режиме реального времени
с детекцией кривых плавления

**РеалБест-Генетика
Гемохроматоз (HFE 845 G/A)**

состав:
1. Контрольный образец «Нормальная гомозигота»
2. Контрольный образец «Мутантная гомозигота»
3. Готовая реакционная смесь для ПЦР
4. Элюирующий раствор «Генетика»
Принадлежности:
Оптическая пленка

ТУ 9398-547-23548172-2016
РУ

2.2. Боковая этикетка.

LOT X
XXXX-XX-XX

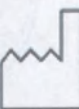
**РеалБест-Генетика
Гемохроматоз (HFE 845 G/A)**

Примечание. Непосредственно на коробку типографским способом наносятся следующие надписи:

1. ЗАО «Вектор-Бест»

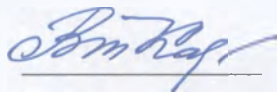
2. Россия, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово, тел/факс: (383) 332-67-49, 332-67-52

3. Образцы этикеток на ящик для наборов "РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 845 G/A)"

	 REF	D-XXXX			набор реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов гена <i>HFE</i> методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с детекцией кривых плавления			
		РеалБест-Генетика Гемохроматоз (HFE 845 G/A)						
		XXXX-XX-XX						
		YYYY-YY-YY			 LOT	X		
	Масса нетто набора		XX кг					
	Масса нетто		XX кг					
	Масса брутто		XX кг		Кол-во наборов	X X X X		
		ЗАО «Вектор-Бест» 630559 Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, АБК						

«СОГЛАСОВАНО»
 Директор по производству
 ЗАО «Вектор-Бест»

Коммерческий директор
 ЗАО «Вектор-Бест»



В.К. Ткачев
 «05» апреля 2016 г.



Ю.М. Гусев
 «05» апреля 2016 г.



Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью
6 листов