



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «Сесана»
И.С. Гнатюк
«04» марта 2024 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНЕУПЛОИДИЙ
В ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО
СЕКВЕНИРОВАНИЯ «МИКРОСКРИН»
по ТУ 21.20.23-003-95224908-2020**

Оглавление

1. Информация об изделии	4
1.1. Назначение	4
1.2. Область применения	4
1.3. Материал для исследования	4
1.4. Целевой анализ	4
1.5. Принцип метода	4
1.6. Пользователи	5
1.7. Показания к применению	5
1.8. Противопоказания к применению	5
1.9. Классификация	5
1.10. Стерильность	5
1.11. Производительность	5
1.12. Интерферирующие вещества, ограничения по использованию анализируемого материала и другие факторы влияющие на точность исследования	5
1.13. Ограничения метода	6
2. Комплектность набора реагентов	7
2.1. Состав набора реагентов	7
3. Аналитические и диагностические характеристики	8
3.1. Аналитические характеристики	8
3.2. Диагностические характеристики	8
4. Требования безопасности	8
4.1. Меры предосторожности	8
5. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором реагентов и не входящие в состав набора	9
5.1. Оборудование, материалы и реагенты	9
5.2. Одноразовые расходные материалы	10
6. Требования к применению и хранению набора реагентов после вскрытия внутренней упаковки	10
7. Работа с набором реагентов	10
7.1. Подготовка ДНК	10
7.2. Фрагментация геномной ДНК	11
7.3. Лигирование	11
7.4. Очистка после лигирования	12
7.5. Индексирование посредством ПЦР-амплификации	13
7.6. Очистка после ПЦР	13
7.7. Оценка полученных полногеномных библиотек	14
7.8. Разведение и пулирование полногеномных библиотек	14
7.9. Секвенирование библиотек	14
7.10. Анализ данных секвенирования	14
8. Руководство пользователя программного обеспечения	15
8.1. Назначение программы	15
8.1.1. Функции ПО	15
8.2. Условия выполнения программы	15
8.3. Установка программы	15
8.4. Выполнение программы	15
8.4.1. Запуск программы	16
8.4.2. Загрузка файлов образцов в ПО	16
8.4.3. Сохранение результатов анализа	17

8.4.4. Удаление результатов анализа	17
8.4.5. Завершение работы с ПО	17
8.4.6. Информационная безопасность.....	18
9. Указания по транспортированию, хранению и применению	18
9.1. Транспортирование	18
9.2. Хранение.....	18
9.3. Указания по применению	18
10. Гарантии изготовителя.....	18
11. Требования к утилизации.....	18
12. Контакты.....	19
13. Список использованной литературы	19
14. Символы и обозначения, использованные при маркировке набора реагентов	20

1. Информация об изделии

1.1. Назначение

Набор реагентов «МИКРОСКРИН» предназначен для определения хромосомных аномалий качественным методом – анеуплоидий по аутосомам 13, 18, 21 и половым хромосомам X и Y путем секвенирования ДНК, выделенной из цельной крови человека и последующим анализом с помощью программного обеспечения «Микроскрин-анализ» (далее по тексту – ПО). Набор реагентов применяется как вспомогательное средство в диагностике генетических синдромов. Специфическими патологиями, для диагностики которых предназначен набор, являются синдромы Дауна, Эдвардса, Патау, Шерешевского-Тернера, Клайнфельтера.

1.2. Область применения

Клиническая лабораторная диагностика, лабораторная генетика.

1.3. Материал для исследования

Материалом для исследования является ДНК, выделенная из цельной крови человека, с концентрацией 20 нг/мкл +/- 2 нг/мкл и спектральными характеристиками A260/280: 1,7–2,2.

Для получения образцов ДНК рекомендуется использовать «Комплект реагентов для выделения ДНК по ТУ 9398-037-4642062-2009» в комплектации «ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА», производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ №ФСР 2010/08696 от 25.10.2016 г.

Допускается использовать аналогичные зарегистрированные наборы реагентов для выделения ДНК из цельной крови, обеспечивающие необходимые спектральные характеристики и концентрацию выделенной ДНК и валидированные для использования совместно с набором реагентов «МИКРОСКРИН».

1.4. Целевой анализ

Целевым анализом, выявляемым при помощи набора реагентов, являются структурные элементы клеток человека – хромосомы.

1.5. Принцип метода

В основе метода лежит случайная фрагментация образца ДНК, в результате которой образуются фрагменты ДНК размером от 100 до 300 пар нуклеотидов. Количество таких фрагментов коррелирует с размером и числом хромосом в биоматериале, из которого выделена ДНК. Для установления принадлежности каждого фрагмента ДНК определенной хромосоме используется метод секвенирования нового поколения (NGS). Для этого фрагменты ДНК подвергаются специальным лабораторным манипуляциям, в результате которых получается библиотека модифицированных и амплифицированных фрагментов ДНК. Нуклеотидная последовательность фрагментов определяется с помощью генетического анализатора – секвенатора. С помощью ПО определяется принадлежность каждого фрагмента определенной хромосоме (происходит выравнивание на геном человека). Далее определяется количество фрагментов, соответствующих каждой хромосоме, которые удовлетворяют установленным критериям качества. При помощи созданной референсной модели и математического алгоритма определяется количество хромосом в исследуемом образце.

Основные этапы исследования:

- подготовка исходных образцов ДНК путем определения ее характеристик и нормализация до требуемой концентрации при необходимости;
- приготовление полногеномной библиотеки, включающее подэтапы: фрагментация геномной ДНК, совмещенная с репарацией и аденилированием; лигирование адаптеров; очистка после лигирования; индексирование посредством ПЦР-амплификации и очистка;

- определение (оценка) размеров и концентрации полученной полногеномной библиотеки, разведение библиотек до одинаковой стандартной концентрации (нормализация) и их объединение (пулирование);
- секвенирование библиотек (этап выполняется с помощью рекомендованного в инструкции оборудования);
- анализ данных секвенирования и определение анеуплоидий. Формирование отчета с результатами исследования. Данный этап проводится с использованием ПО.

1.6. Пользователи

Квалифицированный персонал, имеющий медицинское и/или биологическое образование, владеющий методами молекулярной диагностики и правилами работы в клинико-диагностической лаборатории, в т.ч. сотрудники лабораторий, врачи лабораторной диагностики и средний медицинский персонал.

1.7. Показания к применению

Подозрение на хромосомную патологию, связанную с изменением числа копий хромосом, у взрослого или ребенка.

1.8. Противопоказания к применению

Применяемый способ исследования относится к неинвазивным процедурам, не несет угрозы здоровью человека и не вызывает осложнений. Противопоказания к применению отсутствуют.

1.9. Классификация

В соответствии с Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава России № 4н от 06.06.2012 г.:

Класс потенциального риска набора - 2б;

Класс потенциального риска ПО - 2б;

Вид медицинского изделия – 310670 (Множественная врожденная анеуплоидия скрининг ИВД, набор, анализ нуклеиновых кислот);

Класс безопасности ПО - А по ГОСТ Р МЭК 62304.

Код Общероссийского классификатора по видам экономической деятельности (ОКПД2) - 21.20.23.110 (Постановление Правительства РФ №1268 от 30 ноября 2016 г.).

1.10. Стерильность

Набор реагентов не стерилен.

1.11. Производительность

Один набор реагентов обеспечивает исследование десяти клинических образцов ДНК.

Примерное время подготовки полногеномной библиотеки – 4 часа. Для обработки данных секвенирования одного образца с помощью ПО требуется не более 30 минут.

1.12. Интерферирующие вещества, ограничения по использованию анализируемого материала и другие факторы влияющие на точность исследования

Интерферирующие вещества – это эндогенные или экзогенные вещества в биологическом материале клинических проб, которые могут повлиять на результат исследования. Данные об интерферирующих веществах были получены из литературных источников при разработке набора реагентов [1-7] и подтверждены в ходе клинических исследований.

Установленные интерферирующие вещества указаны в таблице 1.

Признаком ингибирования ПЦР может являться отсутствие ПЦР продукта или концентрация библиотеки ниже 4 нМ. Используемый метод анализа предусматривает контроль качества на промежуточных этапах исследования (оценка ингибирования ПЦР-реакции), что позволяет исключить несоответствующие образцы из аналитического процесса. В случае наличия признаков ингибирования ПЦР рекомендуется проверить

соответствие образца требованиям, указанным в инструкции по применению набора для выделения ДНК.

Таблица 1. Интерферирующие вещества

Интерферирующее вещество	Источник интерферента	Влияние на работу набора реагентов	Методы предотвращения
ЭДТА	Цельная кровь в соответствующих пробирках	Повышенная концентрация ЭДТА (более 1,8 мг/мл) ингибирует ПЦР	Концентрация ЭДТА в пробирке для сбора цельной крови не должна превышать 1,8 мг/мл. Необходимо брать кровь в объеме, на который рассчитана пробирка, меньший объем недопустим.
Гепарин	Цельная кровь в соответствующих пробирках	Гепарин в количестве > 48 единиц на 1 мл крови ингибирует ПЦР	Не использовать для исследования кровь, взятую в пробирки с гепарином
Белки крови (гемоглобин, иммуноглобулины)	Цельная кровь	Остаточные количества белков крови в образце ДНК могут ингибировать ПЦР. Полное ингибирование ряда ДНК полимераз наблюдается при наличии 1,3 мкг гемоглобина в ПЦР смеси.	Использование только зарегистрированных наборов для выделения ДНК из крови, строгое соблюдение протокола. Оценка чистоты ДНК на спектрофотометре (соотношение 260/280).
Этанол	Наборы для выделения ДНК. Компонент протокола при приготовлении библиотек (очистка)	Остаточные количества этанола ингибирует работу ферментов, используемых при приготовлении библиотек. Ингибирование ферментов наблюдается при наличии этанола 0,5%	Использование только зарегистрированных наборов для выделения ДНК, строгое соблюдение протокола. Тщательное удаление этанола на этапах очистки, полное высушивание магнитных частиц.
Нуклеазы	Лабораторный пластик, окружающая среда	Нуклеазы способны разрушать ДНК на всех этапах приготовления библиотек, что приводит к некачественным результатам.	Использование только пластика с маркировкой, подтверждающей отсутствие нуклеаз. Использование наконечников для пипеток с фильтрами. Работа в одноразовых перчатках, использование ПЦР-бокса/ламинара.

Контаминация образцов интерферирующим веществами, должна быть исключена на преаналитическом этапе исследования. Следует соблюдать тщательность при сборе биологического материала. Биологический материал с признаками контаминации не должен использоваться для исследования.

1.13. Ограничения метода

Нарушение целостности упаковки при транспортировании.

Использование набора реагентов с истекшим сроком годности или нарушение условий хранения набора реагентов.

Наличие у пациента мозаичных хромосомных анеуплоидий, делеций и дупликаций.

2. Комплектность набора реагентов

Комплект поставки набора реагентов «МИКРОСКРИН», в составе:

1. Набор реагентов «МИКРОСКРИН» – 1 шт. (коробка №1 и коробка №2):

Коробка №1:

1. Фермент 1 (Ф1): 1 пробирка, 12 мкл.
2. Фермент 2 (Ф2): 1 пробирка, 24 мкл.
3. Фермент 3 (Ф3): 1 пробирка, 12 мкл.
4. Фермент 4 (Ф4): 1 пробирка, 40 мкл.
5. Буфер 1 (Б1): 1 пробирка, 150 мкл.
6. Буфер 2 (Б2): 1 пробирка, 230 мкл.
7. Буфер 3 (Б3): 1 пробирка, 300 мкл.
8. Адаптеры (А): 1 пробирка, 40 мкл.
9. Праймеры 1.1 (П1.1): 1 пробирка, 5 мкл.
10. Праймеры 1.2 (П1.2): 1 пробирка, 5 мкл.
11. Праймеры 1.3 (П1.3): 1 пробирка, 5 мкл.
12. Праймеры 1.4 (П1.4): 1 пробирка, 5 мкл.
13. Праймеры 1.5 (П1.5): 1 пробирка, 5 мкл.
14. Праймеры 1.6 (П1.6): 1 пробирка, 5 мкл.
15. Праймеры 1.7 (П1.7): 1 пробирка, 5 мкл.
16. Праймеры 1.8 (П1.8): 1 пробирка, 5 мкл.
17. Праймеры 1.9 (П1.9): 1 пробирка, 5 мкл.
18. Праймеры 1.10 (П1.10): 1 пробирка, 5 мкл.

Коробка №2:

19. Вода без нуклеаз (ВБН): 5 пробирок по 2000 мкл.
20. Буфер 4 (Б4): 1 пробирка, 270 мкл.
21. Магнитные частицы (МЧ): 1 пробирка, 1000 мкл.

2. Инструкция по применению – 1 шт.;

3. Паспорт качества – 1 шт. на серию;

4. Программное обеспечение и руководство пользователя программного обеспечения, предоставляется производителем на электронную почту пользователя при заказе набора реагентов – 1 шт.

2.1. Состав набора реагентов

Номинальный объем и внешний вид компонентов набора реагентов «МИКРОСКРИН» должны соответствовать таблице 2.

Таблица 2. Состав набора и внешний вид его реагентов

№	Наименование компонента	Кол-во пробирок	Номинальный объем, мкл	Внешний вид
Коробка №1:				
1.	Фермент 1 (Ф1)	1	12	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость
2.	Фермент 2 (Ф2)	1	24	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость
3.	Фермент 3 (Ф3)	1	12	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость
4.	Фермент 4 (Ф4)	1	40	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость
5.	Буфер 1 (Б1)	1	150	Прозрачная бесцветная жидкость
6.	Буфер 2 (Б2)	1	230	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость
7.	Буфер 3 (Б3)	1	300	Прозрачная бесцветная жидкость
8.	Адаптеры (А)	1	40	Прозрачная бесцветная жидкость
9.	Праймеры 1.1 (П1.1)	1	5	Прозрачная бесцветная жидкость
10.	Праймеры 1.2 (П1.2)	1	5	Прозрачная бесцветная жидкость
11.	Праймеры 1.3 (П1.3)	1	5	Прозрачная бесцветная жидкость
12.	Праймеры 1.4 (П1.4)	1	5	Прозрачная бесцветная жидкость

№	Наименование компонента	Кол-во пробирок	Номинальный объем, мкл	Внешний вид
13.	Праймеры 1.5 (П1.5)	1	5	Прозрачная бесцветная жидкость
14.	Праймеры 1.6 (П1.6)	1	5	Прозрачная бесцветная жидкость
15.	Праймеры 1.7 (П1.7)	1	5	Прозрачная бесцветная жидкость
16.	Праймеры 1.8 (П1.8)	1	5	Прозрачная бесцветная жидкость
17.	Праймеры 1.9 (П1.9)	1	5	Прозрачная бесцветная жидкость
18.	Праймеры 1.10 (П1.10)	1	5	Прозрачная бесцветная жидкость
Коробка №2:				
19.	Вода без нуклеаз (ВБН)	5	2000	Прозрачная бесцветная жидкость
20.	Буфер 4 (Б4)	1	270	Прозрачная бесцветная жидкость
21.	Магнитные частицы (МЧ)	1	1000	Темно-коричневая вязкая жидкость, расслаивающаяся при стоянии

3. Аналитические и диагностические характеристики

3.1. Аналитические характеристики

Аналитическая чувствительность – минимальное количество хромосом, выявляемое набором – 1 хромосома.

Различие между количеством определяемых хромосом – 1 хромосома.

Аналитическая специфичность – не менее 98%.

Аналитическая точность (прецизионность) в условиях воспроизводимости – 100%.

Аналитическая точность (прецизионность) в условиях повторяемости – 100%.

3.2. Диагностические характеристики

Диагностические характеристики набора реагентов приведены в таблице 3.

Таблица 3. Диагностические характеристики набора реагентов

Кариотип	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
Трисомия по 13 хромосоме	не менее 95,20%	не менее 98,3%
Трисомия по 18 хромосоме	не менее 95,38%	не менее 98,3%
Трисомия по 21	не менее 95,98%	не менее 98,3%
Анеуплоидии по половым хромосомам X и Y	не менее 95,20%	не менее 98,3%

Чувствительность и специфичность метода может быть снижена, если:

- у пациента имеются другие хромосомные нарушения (анеуплоидии других хромосом, делеции и дупликации);
- в случае мозаичных хромосомных анеуплоидий.

4. Требования безопасности

Все реагенты в используемых концентрациях нетоксичны и не требуют специальных мер безопасности при использовании и утилизации.

Допустимые концентрации вредных веществ, выделяемых в рабочей зоне, при производстве и применении набора реагентов регламентируются требованиями, правилами и нормами СанПиН 1.2.3685.

Общие требования безопасности технологического процесса и охраны окружающей среды должны соответствовать ГОСТ Р 17.0.0.06.

Набор реагентов предназначен только для одноразового использования.

4.1. Меры предосторожности

Работа с набором реагентов должна проводиться в лабораториях, соответствующим требованиям ГОСТ Р 52905, с соблюдением правил СанПиН 3.3686 и МУ 1.3.2569.

К работе с набором реагентов должен допускаться только квалифицированный и обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории персонал.

При работе с набором реагентов должны использоваться стандартные медицинские одноразовые перчатки без опудривания.

Необходимо обработать рабочую поверхность до и после работы во избежание контаминации.

Допустимо использование только одноразовых расходных материалов (наконечники, пробирки и пр.) свободных от ДНКаз и РНКаз.

Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагентов отличается от заявленного.

Не использовать набор реагентов с истёкшим сроком годности или при нарушении условий хранения набора.

Не использовать набор реагентов при нарушении условий хранения повреждении упаковки при транспортировании.

Применять набор следует строго по назначению, согласно данной инструкции.

5. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором реагентов и не входящие в состав набора

5.1. Оборудование, материалы и реагенты

- Генетический секвенатор MiSeq, NextSeq, или другой обеспечивающий вывод результатов секвенирования в виде *.fq.gz файла;
- Компьютер персональный с минимальными системными требованиями:

Количество и тип процессоров	8-ядерный процессор или 4-ядерный с гиперпоточностью
Объем оперативной памяти	8 ГБ
Дисковая подсистема	SSD емкостью не менее 1000 Гб
Графический контроллер	Объем памяти от 1 ГБ
Видеомонитор	ЖК-монитор с рабочим разрешением не менее 1920x1080
Операционная система	Windows 10
Клавиатура	Есть
Мышь	Есть

- Прибор для капиллярного электрофореза, например, Caliper LabChip, Caliper LabTouch производства компании Perkin Elmer, Bioanalyzer 2100 производства компании Agilent Technologies или аналог;

- Флуориметр со следующими характеристиками:
источник излучения: синий LED (~470 нм), красный LED (~635 нм);
фильтры экстинкции: синий: 430-495 нм, красный: 600-645 нм;
фильтры эмиссии: зелёный 510-580 нм, красный 665-720 нм;
детекция в диапазоне 300-1000 нм.

Например, Qubit 4 (производитель Thermo Scientific) или аналог;

- Набор для количественного определения двухцепочечной ДНК в растворах в интервале 0,1 – 100 нг/мкл с использованием интеркаляторов оптимизированный для используемого флуориметра, например, Qubit dsDNA HS Assay Kit (производитель Thermo Scientific) или любой аналогичный набор, например, Spectra HS (производитель Raissol^{lm}, Россия), оптимизированный для прибора Qubit, в случае использования данного прибора;

- Мини-центрифуга-вортекс с возможностью одновременного встряхивания и разделения/центрифугирования образцов различных жидкостей, со скоростью вращения ротора не менее 2500 об/мин и временем разгона до максимальной скорости не более 10 с;

- Центрифуга с адаптерами/бакетами для стрипов со скоростью вращения ротора не менее 2000 об/мин;
- Спектрофотометр с детекцией в микрообъемах, детектируемая длина волны 230-260-280 нм для определения концентрации и качества растворов нуклеиновых кислот;
- Термоциклер с диапазоном задаваемых температур – в пределах от плюс 4°C до плюс 99,90°C;
- ПЦР-бокс с УФ лампой, обеспечивающий защиту рабочего места от внешнего загрязнения и чистую работу с ДНК-пробами, представляющий собой устройство с рабочим проемом, через который оператор может проводить манипуляции внутри бокса;
- Морозильник, позволяющий поддерживать стабильную температуру в диапазоне от минус 25°C до минус 20°C;
- Холодильник, позволяющий поддерживать стабильную температуру в диапазоне от плюс 4°C до плюс 8°C;
- Дозаторы автоматические лабораторные одно- и многоканальные с переменным объемом 0,5-10, 2-20 и 20-200, 100-1000 мкл;
- Штатив-охладитель (2 шт.) с поддержанием температуры -20°C;
- Магнитный штатив для пробирок объемом 0,2 мл;
- Штативы для пробирок объемом 0,5; 1,5 и 2,0 мл;
- Емкость для сброса использованных наконечников;
- Этанол 95% медицинский (использовать 95% этанол любого производителя, развести до концентрации 80% в воде без нуклеаз из набора «МИКРОСКРИН»).

5.2.Одноразовые расходные материалы

- Наконечники для дозаторов одноразовые с фильтром на 10, 20, 200 и 1000 мкл;
- Перчатки медицинские одноразовые, неопудренные;
- Халат медицинский одноразовый;
- Пробирки микроцентрифужные объемом 0,5-1,5-2,0 мл;
- Пробирки микроцентрифужные LoBind (либо аналогичные со сниженной адгезионной способностью пластика) объемом 1,5 мл;
- Пробирки объемом 0,2 мл или пробирки в стрипах объемом 0,2 мл.

6. Требования к применению и хранению набора реагентов после вскрытия внутренней упаковки

Перед использованием реагенты из набора необходимо поместить в условия, соответствующие п.8 инструкции по применению. Время использования набора реагентов – 12 часов после размораживания. Повторное замораживание не допускается.

Непосредственно перед применением все компоненты набора реагентов, кроме магнитных частиц, необходимо кратковременно центрифугировать.

7. Работа с набором реагентов

7.1.Подготовка ДНК

Материалы из набора: вода без нуклеаз.

Другие материалы и оборудование: спектрофотометр, набор для выделения ДНК, дозаторы, пробирки объемом 0,2 мл.

Процесс подготовки ДНК:

1. Выделить ДНК из биологического материала в соответствии с эксплуатационной документацией к используемому набору для выделения ДНК.
2. Измерить концентрацию полученной ДНК на спектрофотометре в соответствии с эксплуатационной документацией производителя.

3. Рассчитать необходимый объем ДНК каждого пациента для разведения до концентрации 20 нг/мкл в объеме 10 мкл.

4. Развести ДНК в преПЦР зоне с использованием воды без нуклеаз до концентрации 20 нг/мкл.

5. Внести в пробирки объемом 0,2 мл по 10 мкл каждого образца.

7.2. Фрагментация геномной ДНК

Материалы из набора: Буфер 1, Фермент 1, Фермент 2.

Другие материалы и оборудование: штатив-охладитель -20°C, мини-центрифуга-вортекс, дозаторы, термоциклер, пробирки объемом 0,2 мл, пробирки объемом 1,5 мл.

Процесс фрагментации геномной ДНК:

1. Запустить на термоциклере программу для фрагментации:

Этап	Время	Температурный режим
Удержание	∞	+ 4°C
Фрагментация	25 минут	+ 65°C
Репарация и аденилирование	10 минут	+ 75°C
Хранение	∞	+ 4°C

2. Подготовить реагенты для фрагментации. Буфер 1 поместить на плюс 4°C на 20 минут для разморозки, фермент 1 и фермент 2 поместить в штатив-охладитель, поддерживающий температуру минус 20°C, непосредственно перед использованием.

3. Приготовить в отдельной пробирке реакционную смесь следующего состава (на 1 образец): Буфер 1 – 13,4 мкл, Фермент 1 – 1 мкл, Фермент 2 – 1,6 мкл.

4. Тщательно, но плавно перемешать приготовленную реакционную смесь, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.

5. Внести по 16 мкл реакционной смеси в каждую пробирку объемом 0,2 мл.

6. Перемешать содержимое пробирок плавным пипетированием, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования. Поместить пробирки в термоциклер, после установки пробирок выполнить “Skip step” – перевести программу на второй этап.

7. По завершению фрагментации образцы необходимо процессировать далее. В отдельном случае образцы могут инкубироваться на этапе плюс 4°C не более часа.

7.3. Лигирование

Материалы из набора: Адаптеры, Фермент 3, Буфер 2.

Другие материалы и оборудование: пробирки объемом 1,5 мл, термоциклер, мини-центрифуга-вортекс, штатив-охладитель -20°C, дозаторы.

Процесс лигирования:

1. Подготовить реагенты для проведения лигирования. Буфер 2 поместить на комнатную температуру на 20 минут для разморозки.

ВАЖНО! Убедиться в отсутствии белого хлопьевидного осадка в буфере. В случае наличия осадка перемешивать буфер до полного растворения.

Адаптеры поместить на плюс 4°C на 20 минут для разморозки. Фермент 3 поместить в штатив-охладитель, поддерживающий температуру минус 20°C, непосредственно перед использованием.

2. Запустить на термоциклере программу для лигирования:

Этап	Время	Температурный режим
Удержание	∞	+ 4°C
Лигирование	30 минут	+ 22°C
Хранение	∞	+ 4°C

3. Приготовить в отдельной пробирке на холодном штативе реакционную смесь для лигирования следующего состава (на 1 образец): Буфер 2 – 20,5 мкл; Адаптеры – 3,5 мкл, Фермент 3 – 1 мкл.

4. Тщательно перемешать реакционную смесь, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.

5. Внести по 25 мкл реакционной смеси к каждому образцу после фрагментации, перемешать, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.

6. Поместить пробирки в термоциклер, после установки пробирок выполнить “Skip step” – перевести программу на второй этап.

7. После завершения программы приступить к очистке. В отдельных случаях образцы могут находиться при плюс 4°C 1-2 часа.

ВАЖНО! Не замораживать образцы после окончания лигирования.

7.4.Очистка после лигирования

Материалы из набора: Магнитные частицы, вода без нуклеаз.

Другие материалы и оборудование: этанол 80% свежеприготовленный, мини-центрифуга-вортекс, магнитный штатив, термоциклер, дозаторы, пробирки объемом 0,2 мл.

Процесс очистки после лигирования:

1. Магнитные частицы перед использованием необходимо инкубировать при комнатной температуре в течение 30 минут. Интенсивно перемешать частицы непосредственно перед добавлением к образцу. Раствор частиц должен быть полностью гомогенным.

2. Добавить 35 мкл частиц к каждому образцу, прошедшему лигирование, провортексировать до гомогенного состояния, кратковременно открутить на центрифуге, чтобы убрать суспензию со стенок, не допуская образования осадка частиц. Инкубировать 5 минут при комнатной температуре.

3. Поместить пробирки с образцами на 2 минуты (или более) на магнитный штатив до достижения полной прозрачности раствора.

4. Аккуратно удалить супернатант, не задевая частицы.

5. Добавить 180 мкл 80% этанола к каждому образцу, изменить положение пробирок в магнитном штативе, чтобы частицы оказались на противоположной стенке пробирки. Повторить действие еще 3 раза. Удалить спирт, не задевая частицы.

6. Добавить повторно 180 мкл 80% этанола к каждому образцу, изменить положение пробирок в магнитном штативе, чтоб частицы оказались на противоположной стенке. Повторить действие еще 3 раза, удалить спирт не задевая частиц. Открутить кратковременно на центрифуге, вернуть пробирки на магнитный штатив, убрать остатки спирта наконечниками на 10 мкл.

7. Открыть крышки пробирок, инкубировать образцы до полного испарения спирта (кластер частиц трескается и рассыпается). Допускается для подсушивания использовать термоциклер, предварительно нагретый до 37°C, сушить в течение 4-7 минут.

8. Добавить 22 мкл воды без нуклеаз к осадку частиц, провортексировать до гомогенного состояния, инкубировать 5 минут при комнатной температуре с последующим кратковременным центрифугированием.

9. Поместить пробирки с образцами на 2 минуты на магнитный штатив до достижения полной прозрачности раствора.

10. Перенести 20 мкл раствора в новую пробирку объемом 0,2 мл, не задевая магнитные частицы.

7.5. Индексирование посредством ПЦР-амплификации

Материалы из набора: Буфер 3, Фермент 4, Праймеры (1.1-1.10).

Другие материалы и оборудование: термоциклер, пробирки объемом 0,2 мл, пробирки объемом 1,5 мл, мини-центрифуга-вортекс, дозаторы, штатив-охладитель -20°C.

Процесс индексирования посредством ПЦР-амплификации:

1. Подготовить реагенты для проведения ПЦР-амплификации. Буфер 3 и Праймеры 1 поместить на температуру плюс 4°C на 20 минут для разморозки. Фермент 4 поместить в штатив-охладитель, поддерживающий температуру минус 20°C, непосредственно перед использованием. Размораживается столько пробирок праймеров, сколько образцов используется в реакции, для каждого образца используется своя пробирка, номера пробирок должны различаться (1.1-1.10). После размораживания Буфер 3 провортексировать и кратковременно центрифугировать. Праймеры необходимо кратковременно центрифугировать, затем пипетировать.

2. К каждому образцу добавить 2 мкл праймера.

3. Приготовить в отдельной пробирке реакционную смесь следующего состава (на 1 образец): Буфер 3 – 25 мкл, Фермент 4 – 4 мкл. Реакционную смесь перемешать, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.

4. Внести по 29 мкл реакционной смеси к каждому образцу. Перемешать, сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.

5. Поместить образцы в термоциклер и запустить следующую программу:

Этап	Условия	Кол-во циклов
Первичная денатурация	95°C – 1 минута	1
Денатурация Отжиг праймеров Элонгация	95°C – 15 секунд 56°C – 30 секунд 72°C – 17 секунд	8
Финальная элонгация	72°C – 2 минуты	1
Удержание	+ 4°C	1

7.6. Очистка после ПЦР

Материалы из набора: Магнитные частицы, Буфер 4.

Другие материалы и оборудование: этанол 80 % свежеприготовленный, мини-центрифуга-вортекс, магнитный штатив, дозаторы, пробирки объемом 0,2 мл, термоциклер.

Процесс очистки после ПЦР:

1. Магнитные частицы перед использованием необходимо инкубировать при комнатной температуре в течение 30 минут. Интенсивно перемешать частицы непосредственно перед добавлением к образцу. Раствор частиц должен быть полностью гомогенным.

2. Добавить 50 мкл частиц к каждому образцу, провортексировать до гомогенного состояния, кратковременно открутить на мини-центрифуге, чтобы убрать суспензию со стенок, не допуская образования осадка частиц. Инкубировать 5 минут при комнатной температуре.

3. Поместить пробирки с образцами на 2 минуты (или более) на магнитный штатив до достижения полной прозрачности раствора.

4. Аккуратно удалить супернатант, не задевая частицы.

5. Добавить 180 мкл 80 % этанола к каждому образцу, изменить положение пробирок в магнитном штативе, чтобы частицы оказались на противоположной стенке пробирки. Повторить действие еще 3 раза. Удалить спирт, не задевая частицы.

6. Добавить повторно 180 мкл 80 % этанола к каждому образцу, изменить положение пробирок в магнитном штативе, чтобы частицы оказались на противоположной стенке. Повторить действие еще 3 раза, удалить спирт не задевая частиц. Открутить кратковременно на центрифуге, вернуть пробирки на магнитный штатив, убрать остатки спирта наконечниками на 10 мкл.

7. Открыть крышки пробирок, инкубировать образцы до полного испарения спирта (кластер частиц трескается и рассыпается). Допускается для подсушивания использовать термоциклер, предварительно нагретый до 37°C, сушить в течение 4-7 минут.

8. Добавить 22 мкл Буфера 4 к осадку частиц, провортексировать до гомогенного состояния, инкубировать 5 минут при комнатной температуре с последующим кратковременным центрифугированием.

9. Поместить пробирки с образцами на 2 минуты на магнитный штатив до достижения полной прозрачности раствора.

10. Перенести 20 мкл раствора в новые пробирки объемом 0,2 мл, не задевая магнитные частицы.

7.7. Оценка полученных полногеномных библиотек

С помощью капиллярного электрофореза устанавливается размер полученных полногеномных библиотек.

Концентрацию полногеномных библиотек определяют на флуориметре с использованием интеркаляторов. Например, с помощью флуориметра Qubit (производитель Thermo Scientific) и набора реагентов для определения концентрации двуцепочечной ДНК оптимизированного для данного прибора Qubit dsDNA HS Assay Kit (производитель Thermo Scientific) или аналога Spectra HS (производитель Raissol™, Россия).

Для перевода полученных значений из нг/мкл в нМ необходимо использовать следующую формулу: $C \text{ [нг/мкл]} \times 1000000 / 649 / \text{Размер фрагмента [п.н.]} = Q \text{ [нМ]}$.

Оценка результатов:

- Большинство полученных фрагментов должны иметь размер в диапазоне 280-320 пн.
- Молярная концентрация полученной библиотеки должна составлять не менее 4 нМ.

7.8. Разведение и пулирование полногеномных библиотек

Материалы из набора реагентов: вода без нуклеаз.

Другие материалы и оборудование: полногеномные библиотеки с известной концентрацией (измерена на предыдущем этапе), пробирки LoBind 1,5 мл.

Каждую библиотеку необходимо развести до 4нМ, руководствуясь значением концентрации, полученной на предыдущем этапе. Для разведения используется 10 мкл исходной библиотеки и вода без нуклеаз. Затем необходимо смешать разведенные библиотеки в равных объемах.

7.9. Секвенирование библиотек

Материалы из набора: нет

Другие материалы и оборудование: Секвенатор MiSeq/NextSeq или аналог, набор для секвенирования, прилагаемый к секвенатору.

Пулированные библиотеки готовятся к секвенированию и секвенируются в соответствии с эксплуатационной документацией к секвенатору.

Параметры секвенирования:

- одноконцевые прочтения размером 50 нуклеотидов (50 циклов секвенирования).
- набор для секвенирования и общее количество пулированных образцов должны обеспечивать получение не менее 300 000 прочтений на образец.

7.10. Анализ данных секвенирования

Анализ данных секвенирования и определение анеуплоидий в образцах ДНК осуществляется с помощью ПО, прилагаемого к набору реагентов.

Перед началом работы с ПО необходимо ознакомиться с руководством пользователя программного обеспечения, приведенном в п. 9.

8. Руководство пользователя программного обеспечения

8.1. Назначение программы

ПО предназначено для определения хромосомных аномалий качественным методом – анеуплоидий по ауто索мам 13, 18, 21 и половым хромосомам X и Y путем анализа данных, полученных методом секвенирования полногеномных библиотек, приготовленных с помощью набора реагентов «МИКРОСКРИН».

Описание ПО:

- Язык интерфейса: русский;
- Разработчик и изготовитель: ООО «Сесана»;
- Предоставляется производителем на электронную почту пользователя при заказе набора реагентов.

8.1.1. Функции ПО

ПО обеспечивает выполнение следующих функций:

- выбор файлов данных секвенирования в формате *.fq.gz полученных из загрузки с секвенатора;
- запуск анализа;
- отображение статуса анализа;
- просмотр результатов анализа;
- сохранение результатов анализа в *.csv файл;
- удаление результатов анализа;
- вывод справки (руководство пользователя).

8.2. Условия выполнения программы

Корректное функционирование ПО возможно при соблюдении минимальных требований к аппаратному и общесистемному программному обеспечению персонального компьютера, указанных в пп. 5.1.

Пользователи: квалифицированный персонал, имеющий медицинское и/или биологическое образование, владеющий методами молекулярной диагностики и правилами работы в клиничко-диагностической лаборатории, в т.ч. сотрудники лабораторий, врачи лабораторной диагностики и средний медицинский персонал. Пользователь ПО должен обладать практическими навыками работы с персональным компьютером.

8.3. Установка программы

Для установки программы требуется как минимум 100 Мб свободного дискового пространства.

Шаг 1. Создайте каталог для размещения файлов программы на рабочем компьютере, например C:\microscrin\.

Шаг 2. Загрузите архив установочных файлов приложения в данный каталог.

Шаг 3. Распакуйте архив вместе с подкаталогами в данный каталог. В каталоге должны появиться следующие файлы:

- microscrin_2_0.exe (основной файл программы)
- st1.fq.gz (данные секвенирования стандартного образца СТ1)
- st2.fq.gz (данные секвенирования стандартного образца СТ2)
- usermanual.pdf (Руководство пользователя)

Основным исполняемым файлом ПО является файл microscrin_2_0.exe.

8.4. Выполнение программы

Для выполнения программы и обработки файлов требуется как минимум 900 Гб свободного дискового пространства, доступ в Internet и наличие объема трафика, аналогичного размеру анализируемых файлов.

8.4.1. Запуск программы

Запуск ПО осуществляется с помощью запуска файла microscrin_2_0.exe;

В результате загрузки на экране отобразится окно программы.

Стартовое окно ПО состоит из 3х блоков (рисунок 1):

- I. Главное меню для выбора действий:
 - Выбрать файл для анализа.
 - Обновить.
 - Сохранить.
 - Удалить.
 - Справка.
- II. Левый блок для отображения загруженных файлов и результата анализа.
- III. Центально-правый блок для отображения результатов.

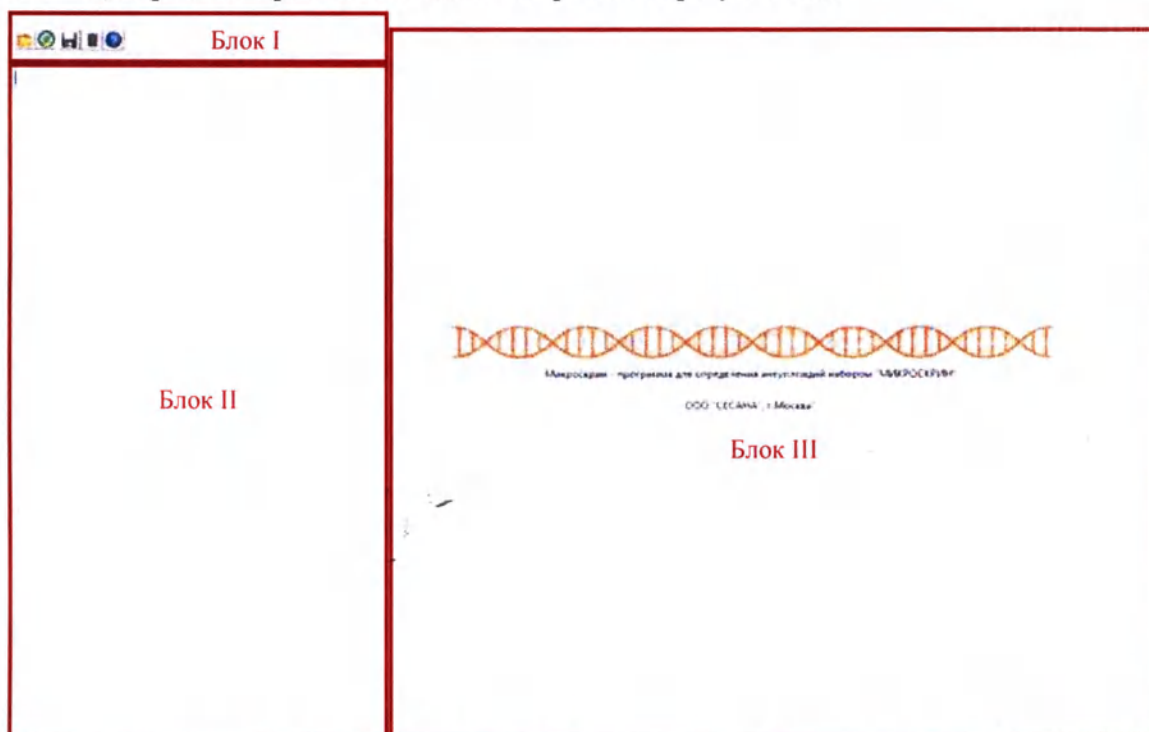


Рисунок 1 – Стартовое меню программы

8.4.2. Загрузка файлов образцов в ПО

Нажмите кнопку  «Выбрать файл для анализа». Откроется окно для выбора файла. Выберите файл с данными в формате *.fq.gz.

Выбранный файл будет загружен в ПО и начнется обработка.

В блоке II появится имя обрабатываемого файла и статус анализа.

После выполнения анализа в блоке III отобразятся его результаты (рисунок 2, рисунок 3):

- Таблица с результатами тестирования по каждой хромосоме (Норма/Обнаружена моносомия/Обнаружена трисомия).
- Графическое отображение количества копий каждой хромосомы.

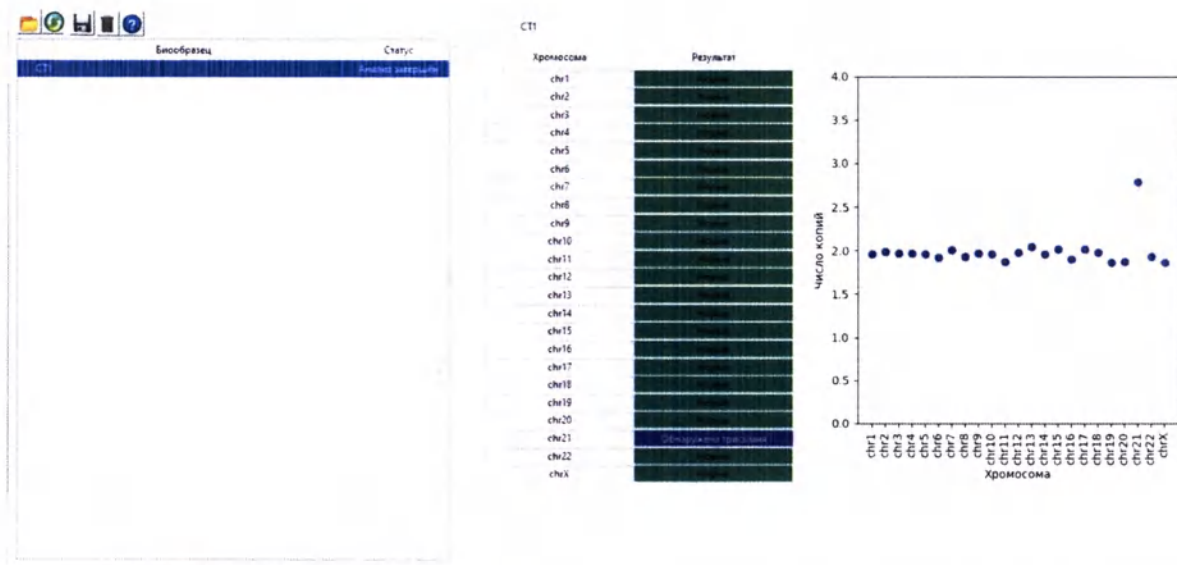


Рисунок 2 – Результаты анализа данных секвенирования на примере стандартного образца CT1

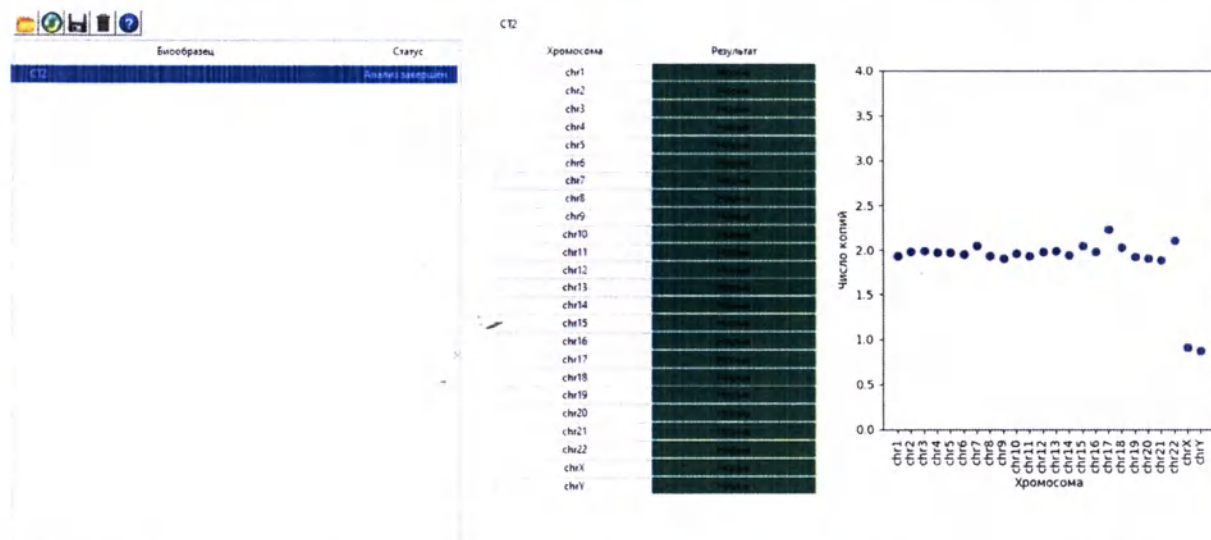


Рисунок 3 – Результаты анализа данных секвенирования на примере стандартного образца CT2

8.4.3. Сохранение результатов анализа

Результаты анализа могут сохраняться в текстовом файле формата *.csv.

Шаг 1. Для этого необходимо нажать кнопку  «Сохранить» в блоке I. На экране отобразится диалоговое окно для ввода имени файла и выбора пути сохранения создаваемого файла.

Шаг 2. Нажмите кнопку [OK].

Файл сохранится в указанную папку.

8.4.4. Удаление результатов анализа

Для удаления результатов анализа нажмите кнопку  «Удалить» в блоке I. Появится диалоговое окно для подтверждения удаления файла и результатов анализа.

8.4.5. Завершение работы с ПО

Завершение работы с ПО осуществляется нажатием на кнопку «X» в верхней правой части экрана.

Далее подтвердите свой выбор, нажав кнопку [Да] в диалоговом окне, отобразившемся на экране, после чего работа с программой будет завершена.

8.4.6. Информационная безопасность

В ПО не осуществляется хранение и обработка персональных данных. Таким образом, к данной программе не применимы нормы и требования по защите персональных данных.

В ПО не предусмотрены встроенные средства защиты от несанкционированного доступа (НД) и от копирования. Защита от НД осуществляется стандартными средствами операционной системы (ОС), а именно настройкой прав пользователей на доступ к ПО.

9. Указания по транспортированию, хранению и применению

9.1.Транспортирование

Транспортирование набора реагентов должно производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Набор реагентов «МИКРОСКРИН» коробка №1 необходимо транспортировать при температуре от минус 22°C до минус 15°C в упаковке предприятия-изготовителя.

Набор реагентов «МИКРОСКРИН» коробка №2 необходимо транспортировать при температуре от плюс 2°C до плюс 8°C, не допуская замораживания, в упаковке предприятия-изготовителя.

Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

9.2.Хранение

Набор реагентов «МИКРОСКРИН» коробка №1 необходимо хранить при температуре от минус 22°C до минус 15°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев).

Набор реагентов «МИКРОСКРИН» коробка №2 необходимо хранить при температуре от плюс 2°C до плюс 8°C, не допуская замораживания, в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев).

Набор реагентов, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит.

9.3.Указания по применению

Монтаж, настройка, калибровка медицинского изделия для ввода в эксплуатацию не требуется. Перед началом работы необходима однократная установка ПО на персональный компьютер.

Набор реагентов должен применяться согласно инструкции по применению. В процессе работы необходимо соблюдать меры предосторожности, указанные в пп. 4.1 настоящей инструкции.

Набор реагентов должен применяться в следующих условиях: температура в помещении лаборатории от 20°C до 28°C, относительная влажность от 40 до 75%.

Набор реагентов необходимо использовать в течение 12 часов с момента размораживания. Повторное замораживание не допускается.

Срок годности набора реагентов – 12 месяцев с даты изготовления при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации. Не применять набор реагентов с истекшим сроком годности.

10. Гарантии изготовителя

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям настоящих ТУ в течение всего срока годности при соблюдении потребителем условий транспортирования, хранения и применения, указанных в инструкции по применению.

11. Требования к утилизации

Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности следует утилизировать, как медицинские отходы класса А (эпидемиологически безопасные отходы, по составу приближенные к твердым

коммунальным отходам) по СанПиН 2.1.3684 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

Использованные в ходе выполнения работ пробирки и материалы утилизируют в соответствии с МУ 287-113.

Персонал, осуществляющий уничтожение набора реагентов, должен соблюдать правила безопасности проведения того или иного способа уничтожения.

12. Контакты

При возникновении претензий по качеству набора реагентов, нежелательных событий или инцидентов направлять информацию предприятию-изготовителю Общество с ограниченной ответственностью «Сесана» (ООО «Сесана») по адресу: 105005, г. Москва, Бауманская улица, д. 50/12 стр.1

Телефон службы клиентской поддержки: +7 (495) 128-82-74

E-mail службы поддержки: sales@sesana.ru

13. Список использованной литературы

1) Рекомендации по организации преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований. Кишкун А.А., Гильманов А.Ж., Долгих Т.И., Грищенко Д.А., Скороходова Т.Г., 2013.

2) PCR inhibitors – occurrence, properties and removal. C. Schrader A. Schielke L. Ellerbroek R. John. Journal of Applied Microbiology. 2012.

3) Effects of Heparin on Polymerase Chain Reaction for Blood White Cells. Masaharu Yokota, Noriyuki Tatsumi, Oytip Nathalang, Tetsuaki Yamada, and Izumi Tsuda. Journal of Clinical Laboratory Analysis 13:133–140 (1999).

4) Purification and characterization of PCR inhibitory components in blood cells. Al-Soud, W.A. and Rådström, P. (2001) J. Clin. Microbiol. 39, 485–93.

5) Identification and characterization of immunoglobulin G in blood as a major inhibitor of diagnostic PCR. Al-Soud, W.A. et al. (2000) J. Clin. Microbiol. 38, 345–50.

6) Overcoming Inhibition in Real-Time Diagnostic PCR. J. Hedman, P. Rådström. (2013) Methods Mol Biol. 943:17-48.

7) Pre-PCR processing: Strategies to generate PCR-compatible samples. Rådström, P. et al. (2004) Mol. Biotechnol. 26, 133–46.

14. Символы и обозначения, использованные при маркировке набора реагентов

Символ	Расшифровка
	Обратитесь к инструкции по применению
	Этой стороной вверх. Хранить в вертикальном положении.
	Хрупкое, обращаться осторожно

Прошито и пронумеровано на 20
(двадцати) листах
И.С. Гудков
подпись расшифровка подписи



ПАСПОРТ КАЧЕСТВА 202310-47

Набор реагентов для выявления анеуплоидий в геноме человека методом высокопроизводительного секвенирования «МИКРОСКРИН» по ТУ 21.20.23-003-95224908-2020

Номер серии: 202310-47
Дата выпуска: 10.2023
Годен до: 10.2024

Количество в серии, шт.: 50
Анализ сделан по ТУ 21.20.23-003-95224908-2020

Наименование компонента	Внешний вид	Объем реагента (мкл)	Количество в наборе (шт.)	Результат
Коробка №1				
Фермент 1 (Ф1)	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	12	1	соответствует
Фермент 2 (Ф2)	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	24	1	соответствует
Фермент 3 (Ф3)	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	12	1	соответствует
Фермент 4 (Ф4)	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	40	1	соответствует
Буфер 1 (Б1)	Прозрачная бесцветная жидкость	150	1	соответствует
Буфер 2 (Б2)	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	230	1	соответствует
Буфер 3 (Б3)	Прозрачная бесцветная жидкость	300	1	соответствует
Адаптеры (А)	Прозрачная бесцветная жидкость	40	1	соответствует
Праймеры 1.1 (П1.1)	Прозрачная бесцветная жидкость	5	1	соответствует
Праймеры 1.2 (П1.2)	Прозрачная бесцветная жидкость	5	1	соответствует
Праймеры 1.3 (П1.3)	Прозрачная бесцветная жидкость	5	1	соответствует
Праймеры 1.4 (П1.4)	Прозрачная бесцветная жидкость	5	1	соответствует
Праймеры 1.5 (П1.5)	Прозрачная бесцветная жидкость	5	1	соответствует
Праймеры 1.6 (П1.6)	Прозрачная бесцветная жидкость	5	1	соответствует
Праймеры 1.7 (П1.7)	Прозрачная бесцветная жидкость	5	1	соответствует
Праймеры 1.8 (П1.8)	Прозрачная бесцветная жидкость	5	1	соответствует
Праймеры 1.9 (П1.9)	Прозрачная бесцветная жидкость	5	1	соответствует
Праймеры 1.10 (П1.10)	Прозрачная бесцветная жидкость	5	1	соответствует
Коробка №2				
Вода без нуклеаз (ВБН)	Прозрачная бесцветная жидкость	2000	5	соответствует
Буфер 4 (Б4)	Прозрачная бесцветная жидкость	270	1	соответствует
Магнитные частицы (МЧ)	Темно-коричневая вязкая жидкость, расслаивающаяся при стоянии	1000	1	соответствует
Инструкция по применению набора реагентов			1	соответствует

Результаты контроля				
Характеристика		Регламентирующий документ	Результат	
Комплектность		пп. 2.1 ТУ 21.20.23-003-95224908-2020	соответствует	
Маркировка		п. 5 ТУ 21.20.23-003-95224908-2020	соответствует	
Упаковка		п. 6 ТУ 21.20.23-003-95224908-2020	соответствует	
Аналитические характеристики				
Характеристика		норма по ТУ	Полученное значение	Результат
Аналитическая чувствительность		Минимальное выявляемое количество хромосом – 1 хромосома. Различие между количеством определяемых хромосом – 1 хромосома	Минимальное выявляемое количество хромосом – 1 хромосома. Различие между количеством определяемых хромосом – 1 хромосома	соответствует
Аналитическая специфичность		Не менее 98%	98,9%	соответствует

Хранение

Набор реагентов «МИКРОСКРИН» коробка №1 необходимо хранить при температуре от минус 22°C до минус 15°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев).

Набор реагентов «МИКРОСКРИН» коробка №2 необходимо хранить при температуре от плюс 2°C до плюс 8 °C, не допуская замораживания, в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев).

Набор реагентов, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит.

Транспортирование

Транспортирование набора реагентов должно производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Набор реагентов «МИКРОСКРИН» коробка №1 необходимо транспортировать при температуре от минус 22°C до минус 15 °C в транспортной упаковке в соответствии с пп. 6.3.

Набор реагентов «МИКРОСКРИН» коробка №2 необходимо транспортировать при температуре от плюс 2°C до плюс 8 °C, не допуская замораживания, в транспортной упаковке в соответствии с пп. 6.3.

Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Заключение: Набор реагентов для выявления анеуплоидий в геноме человека методом высокопроизводительного секвенирования «МИКРОСКРИН» по ТУ 21.20.23-003-95224908-2020 соответствует требованиям ТУ 21.20.23.110-003-95224908-2020.

Дата выдачи паспорта: 01.10.2023

Штамп ОТК



ПАСПОРТ КАЧЕСТВА 202309-015

ВНУТРИПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СТ1

Номер серии: 202309-015
Дата выпуска: 2023-09
Годен до: 2024-09
Количество в серии, шт.: 2

Применение стандартного образца:	В качестве контроля штатной работы набора реагентов для выявления анеуплоидий в геноме человека методом высокопроизводительного секвенирования «МИКРОСКРИН» по ТУ 21.20.23-003-95224908-2020 в целях контроля его соответствия аналитическим характеристикам (в отношении чувствительности)		
Описание	СТ1 – цельная полногеномная мужская ДНК без анеуплоидий со спектральными характеристиками A260/280: 1,7-2,2 и концентрацией 20 нг/мкл +/- 2 нг/мкл.		
Наименование показателей	Характеристики	Результат контроля	Результат
Внешний вид	Прозрачная бесцветная жидкость	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует
Объем компонента	1 мл (±10%)	1 мл	соответствует
Концентрация ДНК	Спектрофотометрический анализ: 20 нг/мкл +/- 2 нг/мкл.	20 нг/мкл	соответствует
Чистота образца	Спектрофотометрический анализ: спектр поглощения/пропускания соотношение A260/280 в пределах 1,7-2,2	1,9	соответствует
Качество ДНК	Электрофорез на 1,5% агарозном геле: мажорная полоса не менее 10 000 пар нуклеотидов с отсутствием шмера	Мажорная полоса более 10 000 пар с отсутствием шмера	соответствует

Хранение
Хранение при температуре от минус 22 до минус 15 °С, не более 12 месяцев с даты изготовления.
После вскрытия хранить в тех же условиях, что и до вскрытия.
Внутрипроизводственный стандарт, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит.

Транспортирование
Транспортирование всеми видами крытого транспорта при температуре окружающей среды минус от минус 22 до минус 15 °С.
Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия.
Стандартные образцы, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Заключение: внутрипроизводственный стандарт 1 (СТ1) может использоваться в качестве контроля штатной работы «Набора реагентов для выявления анеуплоидий в геноме человека методом высокопроизводительного секвенирования «МИКРОСКРИН» по ТУ 21.20.23-003-95224908-2020»

Дата выдачи паспорта: 08.09.2023

Штамп ОТК



ПАСПОРТ КАЧЕСТВА 202309-015

ВНУТРИПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СТ2

Номер серии: 202309-015
Дата выпуска: 2023-09
Годен до: 2024-09
Количество в серии, шт.: 2

Применение стандартного образца:	В качестве позитивного контроля штатной работы набора реагентов для выявления анеуплоидий в геноме человека методом высокопроизводительного секвенирования «МИКРОСКРИН» по ТУ 21.20.23-003-95224908-2020 в целях контроля его соответствия аналитическим характеристикам (в отношении чувствительности).		
Описание	СТ2 – цельная полногеномная женская ДНК с трисомией по 21-ой хромосоме, со спектральными характеристиками A260/280: 1,7-2,2 и концентрацией 20 нг/мкл +/- 2 нг/мкл.		
Наименование показателей	Характеристики	Результат контроля	Вывод
Внешний вид	Прозрачная бесцветная жидкость	Прозрачная бесцветная жидкость	соответствует
Объем компонента	1 мл (±10%)	1 мл	соответствует
Концентрация ДНК	Спектрофотометрический анализ: 20 нг/мкл +/- 2 нг/мкл.	21 нг/мкл	соответствует
Чистота образца	Спектрофотометрический анализ: спектр поглощения/пропускания соотношение A260/280 в пределах 1,7-2,2	1,8	соответствует
Качество ДНК	Электрофорез на 1,5% агарозном геле: мажорная полоса не менее 10 000 пар нуклеотидов с отсутствием ярких полос и шмер	10 000 пар нуклеотидов	соответствует

Хранение
Хранение при температуре от минус 22 до минус 15 °С, не более 12 месяцев с даты изготовления.
После вскрытия хранить в тех же условиях, что и до вскрытия.
Внутрипроизводственный стандарт, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит.

Транспортирование
Транспортирование всеми видами крытого транспорта при температуре окружающей среды минус от минус 22 до минус 15 °С.
Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия.
Стандартные образцы, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Заключение: внутрипроизводственный стандарт 2 (СТ2) может использоваться в качестве контроля штатной работы «Набора реагентов для выявления анеуплоидий в геноме человека методом высокопроизводительного секвенирования «МИКРОСКРИН» по ТУ 21.20.23-003-95224908-2020»

Дата выдачи паспорта: 08.09.2023

Штамп ОТК

