ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

Служба клиентской поддержки:
8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный).
E-mail: hotline@dna-technology.ru
www.dna-technology.ru

1167 2026-04-08

Регистрационный номер
Г004-00110-00/04717587 от 03.04.2026

В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов BRAF 3 в фасовке S.
Перед началом работы изучите инструкцию.

Набор реагентов для определения соматических мутаций в гене BRAF (V600, V600E и V600K) методом ПЦР в режиме реального времени

(BRAF 3)

REF **R1-H486-S3/4 (Фасовка S, стрипы)**

Информация о наборе реагентов

Назначение:
Набор реагентов предназначен для определения соматических мутаций V600 в гене BRAF с дифференциацией мутаций V600E и V600K в препаратах ДНК, полученных из фиксированных в формалине парафинизированных образцов солидных опухолей, методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с целью подбора таргетной терапии низкомолекулярными BRAF и MEK-ингибиторами.

Выделение ДНК:
Рекомендуются: набор реагентов для предварительной обработки биоматериала ПРОБА-ПК и комплект реагентов для выделения НК ПРОБА-НК-ПЛЮС (ООО «ДНК-Технология ТС»).

Специализированное оборудование:
Детектирующие амплификаторы планшетного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированные в установленном порядке в РФ, например, детектирующие амплификаторы «ДТпрайм»[1], «ДТпрайм II»[1] и «ДТлайт»[2] (ООО «НПО ДНК-Технология»).

Количество анализируемых образцов:
48 определений (не более 12 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

Состав набора реагентов:

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смеси для амплификации, запечатанные парафином	Прозрачная бесцветная, розовая или голубая жидкость под воскообразным белым слоем	12 стрипов по 8 пробирок	по 20 мкл
ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Полимераза ТехноТаq МАХ	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	50 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец[3]	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов	12 шт.		

Таблица 1 – Перечень выявляемых мутаций в гене BRAF, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации

№ пробирки в стрипе	Каналы детекции				Цветовая маркировка смеси для амплификации
	Fam	Hex	Rox	Cy5	
1, 3, 5, 7	V600*	–	Маркер	КВМ	Голубая
2, 4, 6, 8	V600E**	V600K	–	КВМ	Бесцветная или розовая
* – определение мутаций в 600 кодоне (V600E, V600Ec, V600K, V600D, V600Dc, V600R, V600G, V600M без дифференциации) ** – определение мутаций V600E и V600Ec без дифференциации					

[1] – модификация *M*
[2] – модификация *S*
[3] – на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «К+»

Проведение анализа

1 Выделение ДНК

Для образцов фиксированных в формалине парафинизированных тканей, обязательна депарафинизация образцов и обработка протеиназой К.

Для предварительной обработки биоматериала рекомендуется набор реагентов ПРОБА-ПК. Предварительную обработку материала проводят в соответствии с инструкцией по применению используемого набора/комплекта реагентов.

Для выделения ДНК рекомендуется использовать наборы/комплекты реагентов, имеющие регистрационные удостоверения на медицинское изделие и предназначенные для соответствующих видов биоматериала с целью последующего исследования ДНК методом ПЦР, например, ПРОБА-НК-ПЛЮС.

Выделение ДНК проводят в соответствии с инструкцией по применению используемого набора/комплекта реагентов.

ВНИМАНИЕ! Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец и провести его через все этапы пробоподготовки. Для этого рекомендуется использовать физиологический раствор или отрицательный контрольный образец, входящий в состав набора/комплекта реагентов для выделения нуклеиновых кислот в объёме, указанном в инструкции по применению соответствующего набора/комплекта реагентов.

2 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

ВНИМАНИЕ!

1. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!
2. Следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

2.1 Промаркируйте по 2 стрипованные пробирки со смесями для амплификации, запечатанными парафином, для каждого неизвестного образца, для отрицательного контрольного образца (К–) и для положительного контрольного образца (К+) (таблица 2).

Примечание – Один стрип рассчитан на исследование 4 образцов.

ВНИМАНИЕ! Количество реагентов рассчитано не более чем на 12 постановок при условии вариабельного количества неизвестных образцов, 1 отрицательного контрольного образца и 1 положительного контрольного образца в каждой постановке.

Таблица 2 – Пример маркировки пробирок для исследования 2 неизвестных образцов

Анализируемые образцы	Маркировка пробирок в стрипе
Неизвестный образец №1	Пробирки 1, 2
Неизвестный образец №2	Пробирки 3, 4
«К–»	Пробирки 5, 6
«К+»	Пробирки 7, 8

2.2 Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и полимеразой ТехноТаq МАХ на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Полимеразу ТехноТаq МАХ необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

2.3 Приготовьте смесь ПЦР-буфера с полимеразой ТехноТаq МАХ. Для этого смешайте в отдельной одноразовой пробирке:

- 10 х (N+1) мкл ПЦР-буфера,
- 0,5 х (N+1) мкл полимеразы ТехноТаq МАХ,

где N – количество промаркированных пробирок с учётом «К–» и «К+».

2.4 Встряхните пробирку с приготовленной смесью ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаq МАХ на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Смесь ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаq МАХ необходимо готовить непосредственно перед использованием, хранение смеси не допускается.

2.5 Добавьте во все промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 10 мкл смеси ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаq МАХ.

ВНИМАНИЕ! После добавления смеси ПЦР-буфера и полимеразы ТехноТаq МАХ в пробирки со смесью для амплификации необходимо сразу же выполнить 2.6 – 2.13.

2.6 Добавьте в каждую пробирку по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Неплотно прикройте стрипы крышками.

2.7 Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ!

1. Для препарата ДНК и отрицательного контрольного образца перед внесением в пробирки с реакционной смесью необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата ДНК, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.
2. При использовании для выделения ДНК комплекта реагентов ПРОБА-НК-ПЛЮС необходимо встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
3. Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышку только того стрипа, в который будет вноситься данный образец, и закрывать его перед внесением следующего. Необходимо закрывать стрипы плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

2.8 Внесите в соответствующие промаркированные стрипованные пробирки, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В пробирки, промаркированные «К–» и «К+», ДНК не вносится.

2.9 Внесите в стрипованные пробирки, промаркированные «К–», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК.

2.10 Внесите в стрипованные пробирки, промаркированные «К+», не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл положительного контрольного образца.

2.11 Центрифугируйте все стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

2.12 Установите все стрипы в детектирующий амплификатор.

2.13 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий тест[1]. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 2.12) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 3.

Таблица 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТпрайм II» и «ДТлайт»

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	30	1		Цикл
	94	5	00			
2	94	0	30	10		Цикл
	68,1 инкремент по температуре Δt – 0,3	0	20		√	
3	94	0	10	40		Цикл
	65	0	20		√	
4	80	0	01	1		Цикл
5	25[2]	…	…	Хранение		Хранение
√ – режим оптических измерений						

3 **Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводятся автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов.

Рекомендуется пройти обучение по проведению анализа и интерпретации результатов, обратившись в службу клиентской поддержки.

Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов (таблица 4).

[1] – тест для детектирующих амплификаторов серии ДТ создаётся путём ввода параметров (параметры теста указаны в Приложении А инструкции по применению) или предоставляется производителем набора реагентов
[2] – допускается хранение при температуре 10 °С

Таблица 4 – Интерпретация результатов ПЦР для контрольных образцов

Отрицательный контрольный образец	
Мутации не должны быть обнаружены (для мутантных аллелей значения Cp не указаны или Cp > 45; для КВМ значения Cp не указаны или Cp > 38)	**Отрицательный результат** Результаты постановки валидны
Для мутантных аллелей значения Cp ≤ 45 для КВМ значения Cp ≤ 38	Результаты всей постановочной серии считают недостоверными. Необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.
Положительный контрольный образец	
Все мутации должны быть обнаружены (значения Cp для мутантных аллелей и КВМ указаны); доля мутантных аллелей должна составлять 10–100%	**Положительный результат** Результаты постановки валидны
Значения Cp для мутантных аллелей и КВМ не указаны; доли мутантных аллелей не соответствуют заданному диапазону	Результаты постановки считают недостоверными. Требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.

Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТаq MAX, в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

Допускается транспортирование полимеразы ТехноТаq MAX в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25 °С не более 5 суток.

Все компоненты набора реагентов, за исключением полимеразы ТехноТаq MAX, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

Смеси для амплификации, запечатанные парафином, следует хранить в защищённом от света месте.

Полимеразу ТехноТаq MAX следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

Срок годности набора реагентов – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, следует обращаться в службу клиентской поддержки.

Символы, используемые при маркировке набора реагентов

IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*	REF	Номер по каталогу
	Температурный диапазон		Изготовитель
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Не допускать воздействия солнечного света
	Использовать до		Нестерильно
LOT	Код партии (серии)		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Дата изготовления		