GeneFinder™ ApoE Real*Amp* kit
(기타 분자유전검사시약 II N20020.02[2])

본 제품은 **[체외진단의료기기]** 임.

1. 사용목적

사람의 전혈(K2-EDTA, K3-EDTA, Sodium Citrate)에서 추출한 DNA 에서 Apolipoprotein E(ApoE) 112, 158 아미노산을 실시간 중합효소 연쇄반응법(Real-time PCR)으로 정성하여 Apolipoprotein E(ApoE) 유전자형 확인에 도움을 주는 체외진단 의료기기

2. 시약의 명칭 및 구성

본 제품은 체외진단용 시약으로 ApoE RM, ApoE PM, ApoE PC 로 구성된다.
1 kit 당 50 회 테스트가 가능하다.

일련번호	명 칭	세부구성	외관상 특징	Cap label color	Volume
1	ApoE RM	단일구성	투명한 플라스틱 용기에 담겨있는 무색 투명의 액상시약	노란색	1 X 500 ㎕
2	ApoE PM	단일구성	암갈색 플라스틱 용기에 담겨있는 연파란색 액상시약	흰색	1 X 250 ㎕
3	ApoE PC	단일구성	투명한 플라스틱 용기에 담겨있는 무색 투명의 액상시약	붉은색	1 X 50 ㎕
사용설명서 1 부 (Quick Manual)					

3. 사용방법

1) 검체 준비 및 DNA 추출

본 제품에 사용되는 검체는 헤파린(Heparin)을 제외한 항응고제 (K2-EDTA, K3-EDTA, Sodium Citrate)가 포함되어 있는 튜브에 채혈 된 전혈에서 추출한 genomic DNA이다. 혈액 샘플은 반드시 실험실 가이드라인에 따라서 수집해야 한다.

검체 보관

검체(전혈)은 2℃~8℃ 에서 냉장 보관하고 3 일 이내의 신선한 혈액에서 DNA 추출해야 하며, -70℃ 이하에서 6 개월간 보관이 가능하다. 검체의 불필요한 반복 냉/해동은 동결 침전물 등 DNA 추출에 영향을 미치므로 한번 해동한 검체는 다시 냉동하지 않는다.

추출 장비 및 시약

상용화된 DNA extraction kit 제품을 사용할 것을 권장한다. 본 제품에 사용할 DNA 의 권장 농도는 10-100ng/㎕이다.

모델명	품목허가번호
MagNA Pure 24	체외수신17-1340호
MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit	체외수신17-1338호
QIAamp DSP DNA Mini Kit	서울체외수신14-251호

2) 검사 전 준비 과정

(1) 장비의 준비

본 제품에 적용할 수 있는 실시간 유전자 증폭장치는 아래와 같으며, 장비의 매뉴얼을 참고한다.

모델명	품목허가번호
Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR Instrument System	체외수인12-365호
Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR Instrument System	체외수인12-468호
CFX96™ Dx Real-Time PCR Detection System	체외수인10-205호
QuantStudio 5 Dx Real-Time PCR Instrument	체외수인18-4532호

핵산 증폭을 위하여 장비의 PCR 조건을 아래와 같이 설정한다.

Step	Temperature	Time	Cycle
1	96 ℃	5 min	1 cycle
2	96 ℃	25 sec	5 cycles
	70 ℃	45 sec	
	72 ℃	30 sec	
3	96 ℃	25 sec	30 cycles
	65 ℃*	45 sec	
	72 ℃	30 sec	

*3 Step 중 두 번째 단계인 65℃에서 data collection ON 을 하도록 선택한다.

(2) 시약의 준비

실험을 실시하기 직전에 ApoE RM, ApoE PM 및 ApoE PC 시약을 상온에서 완전히 녹이고 5 초간 원심 분리하여 실험에 즉시 사용한다.

3) 검사 과정

(1) Master mixture 를 제조하기 위하여 필요한 양만큼의 ApoE RM, ApoE PM 시약을 준비한다.
Note. 1 test 용 준비 시 ApoE RM 10 ㎕, ApoE PM 5 ㎕를 혼합한다.
(2) Master mixture 를 잘 혼합한 후 96 well plate 에 15 ㎕씩 분주한다.
(3) 검사하고자 하는 샘플을 5 ㎕씩 분주한다.
(4) PCR 과정의 오류를 확인하기 위하여 positive control 5 ㎕를 분주하고 no template control 로 D.W 5 ㎕를 분주한다.
(5) Real Time PCR 장비에 넣고 PCR 조건에 따라 증폭 반응을 실시한다.

4) 결과 판정

증폭반응에서 ApoE 유전자에 특이적인 probe 에 의해 방출된 형광 기록 수치는 장비의 소프트웨어에 의해 분석된다.

(1) 반응 완료 후 analysis 를 선택하고, 분석하고자 하는 channel 을 선택한다.

채널 (Channel)	112_T	112_C	158_C	158_T
	FAM	Texas Red/ROX	Cy5	VIC

(2) 각 장비 별로 다음과 같은 기준을 적용하여 데이터 분석을 실시한다.

장비	Threshold 설정				Baseline	양성 판정 기준(Ct)
	ABI	ABF	QS 5	CFX		
112_T	15,000	40,000	5,000	150	6-15	≦ 28
112_C	6,000	15,000	2,500	100		≦ 30
158_C	6,000	15,000	2,500	100		≦ 30
158_T	10,000	25,000	2,500	150		≦ 30

(3) 장비에서 측정된 샘플의 Ct 값을 확인하고 아래 표를 참조하여 결과를 판독한다.

Ct 값				결과	비고
112_T	112_C	158_C	158_T		
≤ 28	UD[§]	UD	≤ 30	ε2/ε2	-
≤ 28	UD	≤ 30	≤ 30	ε2/ε3	-
≤ 28	≤ 30	≤ 30	≤ 30	ε2/ε4	-
≤ 28	UD	≤ 30	UD	ε3/ε3	-
≤ 28	≤ 30	≤ 30	UD	ε3/ε4	-
UD	≤ 30	≤ 30	UD	ε4/ε4	-
≤ 28 or > 28 or UD	≤ 30 or UD	UD	UD	Invalid	핵산추출 과정부터 실험을 다시 실시한다.
UD	UD	≤ 30 or UD	≤ 30 or UD	Invalid	핵산추출 과정부터 실험을 다시 실시한다.
UD	UD	UD	UD	Invalid	핵산추출 과정부터 실험을 다시 실시한다.

[§], UD,: Undetermined

5) 정도관리

Positive control 및 No template control (Water Ultrapure)을 이용하여 사용방법에 따라서 실험 시 결과가 다음과 같이 측정되어야 한다.

Positive control (ApoE PC, Kit 에 함께 제공됨)

Ct 값 범위	112_T (FAM)	112_C (Texas Red/ ROX)	158_C (Cy5)	158_T (VIC)
Positive control	18±3	18±3	18±3	18±3

No Template control (Kit 에 포함되지 않음)

Ct 값 범위	112_T (FAM)	112_C (Texas Red/ROX)	158_C (Cy5)	158_T (VIC)
No Template control	UD*	UD	UD	UD

Note: UD*, * Undetermined 약자로 ABI7500, ABI7500 Fast, QuantStudio 5 장비의 display 에서 표기된다. 장비에 따라 증폭하지 않은 값을 표기하는 방식이 다르다.

Note: Bio-Rad CFX96: N/A, Not applicable

4. 성능

번호	성능 항목	결과
1	분석적 민감도 (LoD)	Reference material 6 종(ε2/ε2, ε2/ε3, ε2/ε4, ε3/ε3, ε3/ε4, ε4/ε4)을 선정하여 150 ng/㎕, 100 ng/㎕, 50 ng/㎕, 10 ng/㎕, 5 ng/㎕, 1 ng/㎕, 의 6 단계 농도로 희석하여 농도별로 24 회 반복 실험하였다. 모든 샘플에서 양성으로 나타나는 구간은 5 ng/㎕로 측정되었다.
2	분석적 특이도 (교차반응)	Reference material 6 종(ε2/ε2, ε2/ε3, ε2/ε4, ε3/ε3, ε3/ε4, ε4/ε4)과 DNA 바이러스, RNA 바이러스 및 세균을 포함한 21 종을 선정하여 실험하였다. 제품 3 개 로트를 이용하여 시험한 결과 reference material 외 모든 균주나 바이러스 표준물질에서 교차반응이 일어나지 않음을 확인하였다..
3	분석적 특이도 (간섭반응)	전혈 검체 2 종(ε2/ε3, ε3/ε4)에 내인성 간섭 요인인 Hemoglobin, Bilirubin, Triglycerides 간섭 물질과 외인성 요인인 검체 수집 튜브 구성요소로 K2 EDTA, K3 EDTA, Sodium citrate, Li-heparin 과 Ethanol 로 반복 실험한 결과 Li-heparin plasma 를 제외하고 간섭반응이 없음을 확인하였다.
4	정밀도 (반복성)	Reference material 4 종(ε2/ε2, ε2/ε4, ε3/ε3, ε4/ε4)을 선정하여 고농도, 중농도 및 저농도로 1 개 로트에서 20 일간 하루에 2 회씩, 2 회 반복을 실험하였다. 실험 결과 CV 5% 이내로 확인되었으며 100% 양성 검출하여 반복성을 확인하였다.
5	정밀도 (재현성)	Reference material 4 종(ε2/ε2, ε2/ε4, ε3/ε3, ε4/ε4)을 선정하여 고농도, 중농도 및 저농도로 제조일이 서로 다른 Lot 간, 검사자간, 시험 장소 간의 재현성을 5 반복 실험하였다. 실험 결과 CV% 5% 이내로 확인되었으며 100% 양성 검출하여 재현성을 확인하였다.

5. 사용시 주의사항 [경고 및 주의사항]

1) 일반적인 주의사항
(1) 체외진단용(전문가 사용)으로만 사용하십시오.
(2) 동 제품의 포장 내에 포함된 구성품만 사용하십시오.
(3) 개봉되었거나 포장이 손상된 제품은 사용하지 마십시오.
(4) 제품 박스 등이 손상된 경우 사용하지 말고 구입처에 연락하시기 바랍니다.
(5) 제품의 외부 포장에 인쇄된 사용기간이 지난 제품은 사용하지 마십시오.

2) 경고사항
(1) 모든 환자 검체는 감염성 물질로 간주하여 정해진 실험실 안전 절차에 따라 다루어야 합니다.
(2) 모든 인체 유래 물질은 잠재적인 감염성 물질로 간주하여 보편적인 예방조치를 취해야 합니다. 쏟았을 경우, 0.1% v/v 치아염소산나트륨을 이용하거나 또 다른 소독제로 즉시 소독하거나 적절한 현장 절차에 따르십시오.
(3) Aerosol-resistant tip 을 사용하고 시약 사용 시 매번 새로운 tip 을 사용하시기 바랍니다.
(4) 모든 실험실 소모품 등은 반드시 멸균된 것을 사용하고, 재사용을 금합니다.
(5) 검사가 정확히 수행될 수 있도록 제공된 절차 및 지침을 철저히 준수하십시오. 절차 및 지침을 벗어나면 최적의 검사 성능에 영향을 줄 수 있습니다.
(6) 검체 취급 및 과정에서 검체의 교차오염이 적절하게 통제되지 않는다면 위양성 결과가 나올 수 있습니다.
(7) 입으로 피펫을 금합니다. 검사실 내에서 식사, 음주, 흡연을 금합니다.

3) 검사 시 주의사항
(1) 본 제품 구성물은 해동 후 실온에 있는 시간을 최소화(30 분 이내)하며 간단히 볼텍싱 및 원심 분리하여 사용하십시오.
(2) 사용 전에 각 시약을 육안으로 살펴보아 누출 여부를 확인하십시오. 만약 누수 되는 곳이 있으면 사용하지 마십시오.
(3) 시약이 장비에 유출이 된 경우, 장비설명서에 따라 청소하고 장비표면의 오염을 제거하십시오.
(4) 모든 기구 및 장비는 주의 깊게 다루며, 캘리브레이션 등에 대해서는 기구 및 장비설명서를 따르시기 바랍니다.
(5) 검체는 전혈에서 추출한 genomic DNA 로 상용화된 추출 제품을 사용할 것을 권장합니다.
(6) 헤파린(Heparin)을 제외한 항응고제가 포함된 튜브로 채혈한 전혈에서 추출한 genomic DNA 사용합니다.

4) 결과 판정 시 주의사항
(1) 본 제품을 사용하여 얻어진 검사 결과만으로 질병의 진단 목적으로 사용하지 마십시오. 의료전문의가 본 검사 결과 및 임상 소견, 다른 임상 결과를 바탕으로 진단해야 합니다.
(2) 검체가 부적절하게 채취, 수송 또는 취급된 경우, 검체내 ApoE 농도가 검출한계 미만이거나 또는 검체 내 증폭 억제제가 포함되어 있는 경우 위음성(false negative) 결과가 나올 수 있으니, 음성 결과만으로 ApoE 진단 여부를 배제 할 수 없습니다.

5) 제품 폐기 시 주의사항
(1) 모든 폐기물은 관련 규정에 따라 처리하십시오.

6. 사용기간

일련번호	명칭	개봉여부	보관조건	사용기한 (제조일로부터)	비고
1	ApoE RM [RM: Reaction Mixture]	미개봉	-25℃ ~ -15℃	12 개월	완제품
		개봉		12 개월	냉.해동 12 회
2	ApoE PM [PM: Probe Mixture]	미개봉	-25℃ ~ -15℃	12 개월	완제품
		개봉		12 개월	냉.해동 12 회
3	ApoE PC [PC: Positive Control]	미개봉	-25℃ ~ -15℃	12 개월	완제품
		개봉		12 개월	냉.해동 12 회

• 사용기한은 용기의 외장 또는 박스를 참조하시기 바랍니다.

7. 기호(Symbol)

IVD	체외진단분석기용 시약 (IN VITRO DIAGNOSTIC MEDICAL DEVICE)
	사용설명서 (CONSULT INSTRUCTIONS FOR USE)
	온도 상하한선 (The upper and lower limits of temperature range)
	경고 (CAUTION)
	사용기한 (USE BY)
	제조자 (MANUFACTURER)
LOT	로트(배치)번호 (BATCH CODE)

8. 제조번호 및 사용기한: 제품 외장에 표기

제조업자: ㈜오상헬스케어
14040 경기도 안양시 동안구 안양천동로 132
TEL : 031-460-0300 FAX : (031) 460-9933
http://www.osanghc.com

허가번호: 체외 제인 24-480 호

제품명: **GeneFinder™ ApoE Real*Amp* Kit**

모델명: **IFMR-89**

ISC04505, Rev.2024-09 (02)