



Регистрационное удостоверение
№ ФСР 2010/08414 от 22 ноября 2016 года

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



219-8 2017-08-07

**Набор реагентов для определения генетических полиморфизмов,
ассоциированных с нарушениями функций сердечно-сосудистой
системы, методом полимеразной цепной реакции**

КардиоГенетика

**Комплект реагентов для определения генетических полиморфизмов,
ассоциированных с риском развития тромбофилии, методом ПЦР в
режиме реального времени**

КардиоГенетика Тромбофилия

Каталожный номер: R1-N901-N3/4 (48 определений)

**Комплект реагентов для определения генетических полиморфизмов,
ассоциированных с риском развития артериальной гипертензии,
методом ПЦР в режиме реального времени**

КардиоГенетика Гипертония

Каталожный номер: R1-N902-N3/4 (48 определений)

Информация о наборе

Назначение:

Набор реагентов КардиоГенетика предназначен для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями функций сердечно-сосудистой системы, что позволяет оценить степень генетической предрасположенности к развитию заболеваний сердца и сосудов.

Набор выпускается в следующих формах комплектации:

Комплект реагентов КардиоГенетика Тромбофилия, предназначенный для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии;

Комплект реагентов КардиоГенетика Гипертония, предназначенный для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития артериальной гипертензии.

Метод:

Полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени; анализ кривых плавления, качественный анализ.

Материал для исследования:

Периферическая кровь.

Выделение ДНК:

Рекомендуются комплекты реагентов для выделения ДНК ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА и ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА (ООО «НПО ДНК-Технология»).

Особенности набора:

Одновременная детекция – в одной пробирке определяются два аллельных варианта генетического полиморфизма.

Внутренний контроль (ВК) – позволяет оценить количество ДНК в амплификационной пробирке и исключить ошибки генотипирования.

Приборное обеспечение:

Амплификаторы детектирующие ДТлайт¹, ДТпрайм² или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»); версия программного обеспечения не ниже 7.3.5.57³.

ВНИМАНИЕ! Возможность использования других амплификаторов необходимо уточнить у представителя компании «ДНК-Технология».

Время проведения анализа (без учёта пробоподготовки):

от 2 часов.

Количество определений:

48

¹ – только модели 4S1, 4S2, 5S1, 5S2, 6S1, 6S2.

² – только модели 4M1, 4M3, 4M6, 5M1, 5M3, 5M6, 6M1, 6M3, 6M6.

³ – производитель рекомендует своевременно обновлять программное обеспечение для детектирующих амплификаторов. Актуальную версию программного обеспечения можно скачать на сайте компании «ДНК-Технология»: <http://www.dna-technology.ru/po/>

Состав комплекта

Реактив	Количество
Комплект КардиоГенетика Тромбофилия	
• Смеси для амплификации	
1. F2: 20210 G>A	960 мкл 1 пробирка
2. F5: 1691 G>A (Arg506Gln)	960 мкл 1 пробирка
3. F7: 10976 G>A (Arg353Gln)	960 мкл 1 пробирка
4. F13: G>T (Val34Leu)	960 мкл 1 пробирка
5. FGB: -455 G>A	960 мкл 1 пробирка
6. ITGA2: 807 C>T (Phe224Phe)	960 мкл 1 пробирка
7. ITGB3: 1565 T>C (Leu33Pro)	960 мкл 1 пробирка
8. SERPINE1 (PAI-1): -675 5G>4G	960 мкл 1 пробирка
• ПЦР-буфер	3,84 мл 1 флакон
• Taq-AT-полимераза	192 мкл 1 пробирка
• Минеральное масло	7,68 мл 1 флакон
Комплект КардиоГенетика Гипертония	
• Смеси для амплификации	
1. ADD1: 1378 G>T (Gly460Trp)	960 мкл 1 пробирка
2. AGT: 704 T>C (Met235Thr)	960 мкл 1 пробирка
3. AGT: 521 C>T (Thr174Met)	960 мкл 1 пробирка
4. AGTR1: 1166 A>C	960 мкл 1 пробирка
5. AGTR2: 1675 G>A	960 мкл 1 пробирка
6. CYP11B2: -344 C>T	960 мкл 1 пробирка
7. GNB3: 825 C>T	960 мкл 1 пробирка
8. NOS3: -786 T>C	960 мкл 1 пробирка
9. NOS3: 894 G>T (Glu298Asp)	960 мкл 1 пробирка
• ПЦР-буфер	4,32 мл 1 флакон
• Taq-AT-полимераза	216 мкл 1 пробирка
• Минеральное масло	8,64 мл 1 флакон

Каналы детекции аллельных вариантов и внутреннего контроля

Название смеси для амплификации	Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
Комплект КардиоГенетика Тромбофилия					
F2: 20210 G>A	G	A	-	BK	-
F5: 1691 G>A (Arg506Gln)	G	A	-	BK	-
F7: 10976 G>A (Arg353Gln)	G	A	-	BK	-
F13: G>T (Val34Leu)	G	T	-	BK	-
FGB: -455 G>A	G	A	-	BK	-
ITGA2: 807 C>T (Phe224Phe)	C	T	-	BK	-
ITGB3: 1565 T>C (Leu33Pro)	T	C	-	BK	-
SERPINE1 (PAI-1): -675 5G>4G	5G	4G	-	BK	-
Комплект КардиоГенетика Гипертония					
ADD1: 1378 G>T (Gly460Trp)	G	T	-	BK	-
AGT: 704 T>C (Met235Thr)	T	C	-	BK	-
AGT: 521 C>T (Thr174Met)	C	T	-	BK	-
AGTR1: 1166 A>C	A	C	-	BK	-
AGTR2: 1675 G>A	G	A	-	BK	-
CYP11B2: -344 C>T	C	T	-	BK	-
GNB3: 825 C>T	C	T	-	BK	-
NOS3: -786 T>C	C	T	-	BK	-
NOS3: 894 G>T (Glu298Asp)	G	T	-	BK	-

Проведение анализа

1 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

ВНИМАНИЕ! Количество анализируемой ДНК должно быть не менее 1,0 нг на амплификационную пробирку, что соответствует $Cp \leq 32,0$ на канале детекции BK (Cy5). При использовании меньшего количества ДНК ($Cp > 32,0$) производитель не гарантирует корректную работу набора.

1.1 Промаркируйте для каждого определяемого полиморфизма необходимое количество пробирок для амплификации объемом 0,2 мл (по одной для каждого исследуемого образца и отрицательного контрольного образца «К-»).

Изучите полную инструкцию № 143-12 от 2017-02-07 перед началом работы

Например, необходимо проанализировать пять образцов. Для комплекта КардиоГенетика Тромбофилия нужно промаркировать 40 пробирок для исследуемых образцов и восемь пробирок для «К-»; для комплекта КардиоГенетика Гипертония нужно промаркировать 45 пробирок для исследуемых образцов и девять пробирок для «К-». Общее количество пробирок – 48 и 54.

1.2 Встряхните пробирки со смесью для амплификации в течение 3–5 с и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.

1.3 Внесите в промаркированные пробирки по 20 мкл соответствующей смеси для амплификации (для каждого полиморфизма отдельным наконечником).

1.4 Встряхните пробирки с ПЦР-буфером и Таq-АТ-полимеразой в течение 3–5 с и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.

ВНИМАНИЕ! Таq-АТ-полимеразу необходимо вынимать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

1.5 Приготовьте смесь ПЦР-буфера с Таq-АТ-полимеразой. Смешайте в отдельной пробирке:

- 10 × (N+1) мкл ПЦР-буфера;
 - 0,5 × (N+1) мкл Таq-АТ-полимеразы,
- где N – количество промаркированных пробирок с учётом «К-».

Например, необходимо проанализировать пять образцов и один «К-». Для комплекта КардиоГенетика Тромбофилия: восемь полиморфизмов, промаркированных пробирок – 48. Нужно приготовить смесь ПЦР-буфера и Таq-АТ-полимеразы для 49 (48+1) пробирок, т.е. 490 мкл ПЦР-буфера + 24,5 мкл Таq-АТ-полимеразы.

Для комплекта КардиоГенетика Гипертония: девять полиморфизмов, промаркированных пробирок – 54. Нужно приготовить смесь ПЦР-буфера и Таq-АТ-полимеразы для 55 (54+1) пробирок, т.е. 550 мкл ПЦР-буфера + 27,5 мкл Таq-АТ-полимеразы.

1.6 Встряхните пробирку в течение 3–5 с и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.

ВНИМАНИЕ! Смесь ПЦР-буфера и Таq-АТ-полимеразы необходимо готовить непосредственно перед использованием.

1.7 Добавьте в каждую пробирку со смесью для амплификации по 10 мкл смеси ПЦР-буфера и Таq-АТ-полимеразы.

ВНИМАНИЕ! После добавления смеси ПЦР-буфера и Таq-АТ-полимеразы в пробирки со смесями для амплификации необходимо в течение двух часов выполнить пп. 1.8 – 1.13.

1.8 Добавьте в каждую пробирку по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки пробирок.

1.9 Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. Препараты ДНК следует вносить наконечниками с фильтром.

Внесите по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК в соответствующие пробирки для исследуемых образцов. В пробирки, маркированные «К-», ДНК не вносится.

1.10 Внесите по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК, в пробирки, маркированные «К-».

1.11 Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

1.12 Установите все пробирки в блок детектирующего амплификатора.

1.13 Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите ini файл с соответствующим названием (Thrombophilia.ini, Hypertension.ini). Далее и при последующих постановках добавьте в протокол соответствующие тесты или используйте многотестовый режим, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 1.12) и проведите ПЦР.

Примечание - Тип пробирки для отрицательных контрольных образцов следует указывать как «Образец».

2 **Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводится автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов.

Для образцов, прошедших ПЦР и содержащих достаточное для корректного анализа количество ДНК, программа определяет генотип исследуемого образца. Для образцов с недостаточным для анализа количеством ДНК (менее 1,0 нг на амплификационную пробирку, Cp>32,0 на канале детекции ВК) программа определяет недостоверный результат (нд).

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Смеси для амплификации, ПЦР-буфер и минеральное масло следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте в течение всего срока годности.

Taq-АТ-полимеразу следует хранить при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности.

Транспортирование набора осуществляют всеми видами крытого транспорта при температурах, соответствующих условиям хранения реагентов, входящих в состав набора.

Срок годности набора – 6 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями функций сердечно-сосудистой системы, методом полимеразной цепной реакции (КардиоГенетика), следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, корп.6, тел./факс +7 (495) 640-17-71.

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

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»:
http://www.dna-technology.ru/customer_support/

С полной инструкцией № 143-12 от 2017-02-07 можно ознакомиться на интернет-сайте компании «ДНК-Технология», по адресу: <http://www.dna-technology.ru/dnaproducts/reagents/med/> или обратитесь за полной инструкцией к представителю компании.

**Приложение А
(справочное)**

Т а б л и ц а А 1 - Генотипы и температуры плавления продуктов амплификации (только для приборов ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96)

Полиморфизм	Гомозигота Fam/Fam			Гомозигота Hex/Hex			Гетерозигота		
	Генотип	Fam,°C	Hex,°C	Генотип	Fam,°C	Hex,°C	Генотип	Fam,°C	Hex,°C
Комплект КардиоГенетика Тромбофилия									
F2: 20210 G>A	GG	58,2	46,5	AA	50,0	57,8	GA	57,1	56,3
F5: 1691 G>A (Arg506Gln)	GG	53,6	47,8	AA	38,8	52,6	GA	52,4	52,5
F7: 10976 G>A (Arg353Gln)	GG	52,3	45,3	AA	31,6	52,5	GA	51,5	52,1
F13: G>T (Val34Leu)	GG	58,0	44,0	TT	45,0	57,0	GT	57,0	55,3
FGB: -455 G>A	GG	49,3	43,1	AA	42,5	49,8	GA	49,0	49,7
ITGA2:807 C>T (Phe224Phe)	CC	48,0	42,7	TT	39,5	49,6	CT	47,4	49,5
ITGB3:1565 T>C (Leu33Pro)	TT	57,3	46,6	CC	46,8	56,0	TC	56,6	54,7
SERPINE1: (PAI-1): -675 5G>4G	5G5G	49,8	46,0	4G4G	39,6	53,2	5G4G	49,7	52,5
Комплект КардиоГенетика Гипертония									
ADD1: 1378 G>T (Gly460Trp)	GG	52,0	47,5	TT	38,8	52,6	GT	51,6	52,6
AGT: 704 T>C (Met235Thr)	TT	57,3	44,3	CC	52,0	56,6	TC	56,8	55,3
AGT: 521 C>T (Thr174Met)	CC	55,4	47,4	TT	41,6	53,3	CT	55,0	52,5
AGTR1: 1166 A>C	AA	54,1	47,0	CC	43,5	54,0	AC	53,2	53,9
AGTR2: 1675 G>A	GG	51,8	43,0	AA	43,8	51,9	GA	51,2	51,5
CYP11B2: -344 C>T	CC	56,5	48,0	TT	42,0	54,3	CT	55,0	53,0
GNB3: 825 C>T	CC	55,0	52,8	TT	46,7	59,2	CT	54,9	58,9
NOS3: -786 T>C	CC	57,4	52,2	TT	40,4	57,4	CT	56,6	57,0
NOS3:894 G>T (Glu298Asp)	GG	54,5	42,7	TT	47,6	54,7	GT	53,5	53,3