



Регистрационное удостоверение  
№ ФСР 2010/08414

117587, Москва, Варшавское ш., д.125ж, корп.6  
Тел./факс +7 (495) 640-17-71  
Служба клиентской поддержки: 8 (800) 200-75-15  
(звонок по России бесплатный)  
E-mail: hotline@dna-technology.ru,  
www.dna-technology.ru

**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**

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

**КардиоГенетика Гипертония**

**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 ДТлайт<sup>1</sup>, ДТпрайм<sup>2</sup> или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»); версия программного обеспечения не ниже 7.3.5.57, рекомендуемая версия 7.7.5.44<sup>3</sup>.

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

**Время проведения анализа (без учёта пробоподготовки):**

от 2 часов.

**Количество определений:**

48

<sup>1</sup> – только модели 4S1, 4S2, 5S1, 5S2, 6S1, 6S2.

<sup>2</sup> – только модели 4M1, 4M3, 4M6, 5M1, 5M3, 5M6, 6M1, 6M3, 6M6.

<sup>3</sup> – по мере обновления программного обеспечения рекомендуемая версия ПО может измениться. Последнюю рекомендуемую версию ПО можно скачать на сайте компании «ДНК-Технология»:

<http://www.dna-technology.ru/po/>

# Изучите полную инструкцию перед началом работы

## Состав комплекта

Реактив	Количество	
<b>Комплект КардиоГенетика Тромбофилия</b>		
• 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
• ПЦП-буфер	3,84 мл	1 флакон
• Taq-AT-полимераза	192 мкл	1 пробирка
• Минеральное масло	7,68 мл	1 флакон
<b>Комплект КардиоГенетика Гипертония</b>		
• 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
• ПЦП-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
<b>Комплект КардиоГенетика Тромбофилия</b>					
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	-
<b>Комплект КардиоГенетика Гипертония</b>					
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  $C_r \leq 32,0$  на канале детекции BK (Cy5). При использовании меньшего количества ДНК ( $C_r > 32,0$ ) производитель не гарантирует корректную работу набора.

## Изучите полную инструкцию перед началом работы

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

Например, необходимо проанализировать 5 образцов. Для комплекта КардиоГенетика Тромбофилия нужно промаркировать 40 пробирок для исследуемых образцов и 8 пробирок для «К-»; для комплекта КардиоГенетика Гипертония нужно промаркировать 45 пробирок для исследуемых образцов и 9 пробирок для «К-». Общее количество пробирок – 48 и 54.

**1.2** Встряхните пробирки со смесью для амплификации в течение 3–5 сек и центрифугируйте в течение 1–3 сек 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 Taq-AT-полимеразой в течение 3–5 сек и центрифугируйте в течение 1–3 сек на микроцентрифуге/вортексе.

**Внимание!** Taq-AT-полимеразу необходимо вынимать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

**1.5** Приготовьте смесь ПЦР-буфера с Taq-AT-полимеразой. Смешайте в отдельной пробирке:

- 10 × (N+1) мкл ПЦР-буфера;
- 0,5 × (N+1) мкл Taq-AT-полимеразы;

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

Например, необходимо проанализировать 5 образцов и один «К-». Для комплекта КардиоГенетика Тромбофилия: 8 полиморфизмов, промаркированных пробирок – 48. Нужно приготовить смесь ПЦР-буфера и Taq-AT-полимеразы для 49 (48+1) пробирок, т.е. 490 мкл ПЦР-буфера + 24,5 мкл Taq-AT-полимеразы.

Для комплекта КардиоГенетика Гипертония: 9 полиморфизмов, промаркированных пробирок – 54. Нужно приготовить смесь ПЦР-буфера и Taq-AT-полимеразы для 55 (54+1) пробирок, т.е. 550 мкл ПЦР-буфера + 27,5 мкл Taq-AT-полимеразы.

**1.6** Встряхните пробирку в течение 3–5 сек и центрифугируйте в течение 1–3 сек на микроцентрифуге/вортексе.

**Внимание!** Смесь ПЦР-буфера и Taq-AT-полимеразы необходимо готовить непосредственно перед использованием.

**1.7** Добавьте в каждую пробирку со смесью для амплификации по 10 мкл смеси ПЦР-буфера и Taq-AT-полимеразы.

**Внимание!** После добавления смеси ПЦР-буфера и Taq-AT-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 1 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 «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 сек.

**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 добавляйте 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 защищенном от света месте в течение всего срока годности.

Taq-AT-полимеразу следует хранить при температуре минус 20 °С в течение всего срока годности.

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

## Изучите полную инструкцию перед началом работы

Срок годности набора – 6 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя 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, [www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru).

Служба клиентской поддержки: 8 (800) 200-75-15 (звонок по России бесплатный),  
E-mail: [hotline@dna-technology.ru](mailto:hotline@dna-technology.ru).

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»:  
[http://www.dna-technology.ru/customer\\_support/](http://www.dna-technology.ru/customer_support/)

## Приложение

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