

«Кукуруза / 35S / NOS скрининг»
Тест-система для обнаружения генно-модифицированной кукурузы
 100 реакций, включая контрольные образцы

Тест-система «Кукуруза/35S/NOS скрининг» предназначена для обнаружения генетически модифицированной (ГМ) кукурузы в продуктах питания, пищевом сырье и кормах для животных методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ).

Тест-система «Кукуруза/35S/NOS скрининг» рекомендована для применения при анализе однокомпонентных кукурузных образцов или образцов, потенциально содержащих только кукурузу. Анализ многокомпонентных образцов затруднен вследствие универсальности промотора 35S и терминатора NOS, которые могут встречаться не только в ГМ кукурузе, но и в других видах растений (сое, рисе, картофеле, томатах, свекле, рапсе и пр.).

Анализ с помощью **тест-системы «Кукуруза/35S/NOS скрининг»** показывает присутствие всех возможных линий ГМ кукурузы без их идентификации и определения того, зарегистрирована данная линия ГМ кукурузы в РФ или нет

Состав набора

| № | Наименование | Объем | Кол-во |
|---|---|---------|--------|
| 1 | Реакционная смесь «Кукуруза-35S-NOS-ВПК» | 550 мкл | 4 |
| 2 | SynTaq ДНК-полимераза, 5 ед/мкл | 50 мкл | 1 |
| 3 | ПКО «Кукуруза-35S-NOS», положительный контрольный образец | 100 мкл | 1 |
| 4 | «ОКО», отрицательный контрольный образец | 200 мкл | 1 |

Условия хранения: $-18^{\circ}\dots-20^{\circ}\text{C}$

Список дополнительного оборудования

1. Прибор для ПЦР в реальном времени (АНК-32М, DTprime, iQ4/5, CFX-96, Rotor-Gene 6000, ABI Prism 7500)
2. Микроцентрифуга-встряхиватель, например, «Циклотемп-901»
3. Микроцентрифуга для пробирок 0,2 мл, например, «Циклотемп-903»
4. Штатив для микропробирок 0,2 мл
5. Комплект дозаторов переменного объема и наконечников к ним
6. Микропробирки объемом 1,5 или 2,0 мл
7. ПЦР-пробирки объемом 0,2 мл

Порядок следования образцов

| № ячейки | Образец |
|----------|---------|
|----------|---------|

ЗАО «Синтол»
 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, д.42
 Тел/факс: (495) 984-69-93 Тел.: (499) 977-7455
 e-mail: info@syntol.ru
www.syntol.ru

| АНК-32М, Rotor-Gene 6000 | DТprime, iQ4/5, CFX-96, ABI Prism 7500 | |
|--------------------------|--|-----------------------|
| 1 | В 2 | ПКО |
| 2 | В 3 | ПКО |
| 3 | В 4 | ОКО |
| 4 | В 5 | ОКО |
| 5 | В 6 | исследуемый образец 1 |
| 6 | В 7 | исследуемый образец 1 |
| 7 | В 8 | исследуемый образец 2 |
| 8 | В 9 | исследуемый образец 2 |

Подготовка к проведению реакции ПЦР-РВ

- Разморозить необходимое количество пробирок с реакционной смесью «Кукуруза-35S-NOS-ВПК» (каждая пробирка рассчитана на постановку 26 реакций), выдержать 15 минут при комнатной температуре, перемешать на вортексе и центрифугировать в течение нескольких секунд для сброса капель.
- В отдельной пробирке подходящего размера смешать:
21*(2N+4) мкл реакционной смеси «Кукуруза-35S-NOS-ВПК»
0,5*(2N+4) мкл Taq ДНК-полимеразы,
где N – количество исследуемых образцов.
Полученную смесь перемешать на вортексе и центрифугировать в течение нескольких секунд. Разлить полученную смесь по 20 мкл в пробирки объемом 0,2 мл.
- ПКО, ОКО** и исследуемые образцы разморозить, перемешать на встряхивателе и центрифугировать.
Примечание Если образец ДНК содержит сорбент, центрифугировать образцы 1 минуту при 10-14 тыс. об./мин. до полного осаждения сорбента.
- Внести в подготовленные пробирки по **5 мкл ОКО**, исследуемых образцов и, в последнюю очередь, **ПКО** в двух повторах (см. п. «Порядок следования ДНК образцов»), используя наконечники с аэрозольным барьером, плотно закрыть крышки и центрифугировать пробирки несколько секунд.
- Поместить пробирки в амплификатор в порядке, приведенном в п. «Порядок следования ДНК образцов».

Рекомендуемые условия проведения ПЦР

АНК-32М: Протокол «Раст/35S/NOS»

| Номер ступени | Температура, °С | Время, сек | Кол-во циклов | Метки циклов |
|---------------|-----------------|------------|---------------|--------------|
| 1 | 95 | 300 | 1 | |
| 2 | 60 | 40 | 50 | Начало |
| 3 | 95 | 15 | 50 | Конец |

DТprime: Протокол «ГМО-60»

| Цикл | Повторы | Шаг | Время, мин:сек | Температура, °С | Детекция |
|------|---------|-----|----------------|-----------------|----------|
| 1 | 1 | 1 | 05:00 | 95,0 | |
| 2 | 50 | 1 | 00:15 | 95,0 | |
| | | 2 | 00:40 | 60,0 | Включена |

iQ4/5, CFX-96: Протокол «ГМО-59»

| Cycle (цикл) | Repeats (повторы) | Step (шаг) | Dwell time (время, мин:сек) | Setpoint (температура, °С) | Камера |
|--------------|-------------------|------------|-----------------------------|----------------------------|----------|
| 1 | 1 | 1 | 05:00 | 95,0 | |
| 2 | 45 | 1 | 00:15 | 95,0 | |
| | | 2 | 00:40 | 59,0 | Включена |

Rotor-Gene 6000: Протокол «Screening»

| Шаг | Темп., °С | Время | Детекция | Красители | Повторов |
|---------|-----------|---------|--------------|--|----------|
| Hold | 94 | 3 mins | No acquiring | | 1 |
| Cycling | 94 | 15 secs | No acquiring | | 45 |
| | 59 | 50 secs | Acquiring | JOE/ Yellow ROX/ Orange FAM/ Green Cy5/ Red | |

ABI Prism 7500: Протокол «ГМО-60»

| Stage 1 (Стадия 1) | Stage 2 (Стадия 2) |
|-------------------------------------|--|
| Reps (Повторов) - 1 95 °С – 5:00 | Reps (Повторов) - 45 95 °С – 0:15 60 °С – 0:40 |

SmartCycler: Dye Set «FTTC25» Протокол «ГМО-60»

| Stage 1 (Стадия 1) | | | Stage 2 (Стадия 2) | | | |
|--------------------|------|--------|-----------------------------|------|------|--------|
| Hold | | | Repeat (Повторы) – 50 times | | | |
| | | | 2-Temperature Cycle | | | |
| Temp | Secs | Optics | Deg/Sec | Temp | Secs | Optics |
| 94.5 | 300 | Off | | 95.0 | 15 | Off |
| | | | | 60.0 | 40 | On |

Реакции и цветовые каналы прибора

Кукуруза – канал **R6G / HEX / JOE / Yellow**

Промотор 35S – канал **ROX / TxRed / Orange**

Терминатор NOS – канал **FAM / Green**

ВПК – канал **Cy5 / Red**

Шаблон для обработки результатов «Кукуруза-35S-NOS скрининг.xls»