

«Соя / 35S+FMV / NOS скрининг»**Тест-система для обнаружения генетически модифицированной сои**

100 реакций, включая контрольные образцы

Тест-система «Соя/35S+FMV/NOS скрининг» предназначена для обнаружения генетически модифицированной (ГМ) сои в продуктах питания, пищевом сырье и кормах для животных методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) и полуколичественного анализа по порогу 0,1%.

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

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

Состав набора

№	Наименование	Объем	Кол-во
1	Реакционная смесь «Соя-35S-FMV-NOS-ВПК»	550 мкл	4
2	SynTaq ДНК-полимераза, 5 ед/мкл	50 мкл	1
3	«ПКО-С1», положительный контрольный образец	100 мкл	1
4	«ОКО», отрицательный контрольный образец	200 мкл	1

Условия хранения: -18°...-20°С**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
АНК-32М, Rotor-Gene 6000	DTprime, iQ4/5, CFX-96, ABI Prism 7500	

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

1	В 2	ПКО-С1
2	В 3	ПКО-С1
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 «Соя-35S-FMV-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 «Соя-35S-FMV-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, °C	Время, сек	Кол-во циклов	Метки циклов
1	95	300	1	
2	60	40	50	Начало
3	95	15	50	Конец

DTprime: Протокол «GMO-60»

Цикл	Повторы	Шаг	Время, мин:сек	Температура, °C	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 «GMO-59»

Cycle (цикл)	Repeats (повторы)	Step (шаг)	Dwell time (время, мин:сек)	Setpoint (температура, °C)	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., °C	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 «GMO-60»

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

SmartCycler: Dye Set «FTTC25» Протокол «GMO-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

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

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

Терминатор NOS – канал **FAM / Green**

ВПК – канал **Cy5 / Red**

Шаблон для обработки результатов

«Соя-35S+FMV-NOS скрининг.xlt»