

CONGEN

SureFood® GMO Plant 4plex Кукуруза/Соя/Канола/Хлопок

Артикул №S2156
100 гхп

Руководство пользователя



март 2021

Пожалуйста, обращайтесь по вопросам технической поддержки и дополнительной информации к официальным дистрибьюторам на территории Вашей страны:

**Официальный дистрибьютор
в России:**

ООО "НеоТест"

ул. Растопчина, 1Г, г. Владимир

+7 499 649 02 01

info@neo-test.ru

www.neo-test.ru

Техническая поддержка

support@neo-test.ru

+7 499 704 05 50



**Официальный дистрибьютор
в Беларуси:**

ОДО "КомПродСервис"

ул. Филимонова, 25Г, г. Минск

+375 17 336 50 54

info@komprod.com

www.komprod.com

Техническая поддержка

support@komprod.com

+375 17 336 50 54



1 Общая информация

1.1 Описание

SureFood® GMO Plant 4plex Corn/Soya/Canola/Cotton представляет собой набор для ПЦР в реальном времени для прямого качественного обнаружения и дифференциации следующих специфических последовательностей ДНК кукурузы/сои/рапса/хлопка.

Анализ ПЦР в реальном времени можно проводить с помощью широко используемых инструментов для ПЦР в реальном времени, оборудованных для одновременного обнаружения четырех флуоресцентных эмиссий в каналах FAM, VIC/HEX, ROX и Cy5. Техническая проверка приборов проводилась на Roche LightCycler® 480 II, Bio-Rad CFX96 Dx, R-Biopharm RIDA®CYCLER, Agilent AriaDx и Agilent Mx3005P.

1.2 Предел обнаружения

ПЦР в реальном времени SureFood® GMO Plant 4plex кукуруза/soя/канола/хлопок имеет предел обнаружения ≤ 500 копий ДНК. Это эквивалентно пригл. 0,01 % для необработанного зерна.

ПЦР-системы SureFood® очень чувствительны, поэтому для успешного анализа достаточно даже небольшого количества ДНК-мишени. Концентрация общей ДНК в образце не позволяет сделать вывод о количестве и качестве ДНК-мишени.

Примечание. В смешанных образцах непостоянные пропорции смешивания (например, 99,9 % кукурузы и 0,1 % сои) могут привести к потере чувствительности в канале низкой концентрации.

1.3 Подготовка ДНК

Для подготовки образцов ДНК рекомендуется использовать SureFood® PREP Basic (арт. №S1052), а для продуктов питания и кормов с высокой степенью переработки рекомендуется использовать SureFood® PREP Advanced (арт. № S1053). Надстройка SureFood® PREP Add On (Арт. № S1055) предназначена для выделения ДНК из сырья, а также обработанных пищевых продуктов и кормов с пробой весом 2 г. Он используется в сочетании с SureFood® PREP Basic.

1.4. Состав набора и хранение

Код	Реагент	Количество	Цвет крышки
1	Реакционная смесь	2 x 1100 мкл	Жёлтый
2	Тақ полимераза	1 x 80 мкл	Тёмно-красный
3	Положительный контроль	1 x 200 мкл	Светло-синий

Храните все реагенты при температуре -20°C в защищенном от света месте. Таq-полимераза можно хранить при температуре от $+2$ до $+8^{\circ}\text{C}$ для многократного использования в один и тот же день.

Примечание. Таq-полимераза может находиться в замороженном или незамороженном состоянии. Это не влияет на качество Таq-полимеразы или эффективность ПЦР в реальном времени.

1.5 Дополнительно необходимое оборудование и материалы

- Набор для выделения ДНК (например, SureFood® PREP Basic, арт. № S1052 / SureFood® PREP Advanced, арт. № S1053 / SureFood® PREP Add On, арт. № S1055)
- прибор ПЦР в реальном времени с четырьмя каналами обнаружения (510 нм, 580 нм, 610 нм и 660 нм)
- расходные материалы для ПЦР в реальном времени (планшеты, пробирки, фольга, колпачки)
- пипетки с фильтрующими наконечниками
- неопудренные одноразовые перчатки
- Вихревой смеситель
- микроцентрифуга с ротором для реакционных пробирок

1.6. Настройки

	Блокциклер и R-Biopharm RIDA®CYCLER	Ротоциклер
Начальная денатурация (HOLD)	5 мин, 95°C	1 мин, 95°C
Циклы	35	35
Денатурация	15 сек, 95°C	10 сек, 95°C
Отжиг/Расширение (CYCLE)	30 сек, 60°C	15 сек, 60°C
Скорость температурного перехода / скорость линейного изменения	Максимум	Максимум

1.7 Настройка канала обнаружения

Прибор для ПЦР РВ	Обнаружение	Канал обнаружения	Тушитель	Примечание
Agilent Mx3005P	Кукуруза	FAM	+	
	Хлопок	HEX	+	
	Канола	ROX	+	
	Соя	Cy5	+	
Agilent AriaDx	Кукуруза	FAM	+	
	Хлопок	HEX	+	
	Канола	ROX	+	
	Соя	Cy5	+	
Bio-Rad CFX96 Dx	Кукуруза	FAM	+	
	Хлопок	VIC/HEX	+	
	Канола	ROX	+	
	Соя	Cy5	+	
R-Biopharm RIDA®CYCLER	Кукуруза	Зеленый	+	
	Хлопок	Жёлтый	+	
	Канола	Оранжевый	+	
	Соя	Красный	+	
Roche LightCycler® 480 II	Кукуруза	465-510	+	Требуется набор цветовой компенсации SureCC I (арт. № F4009).
	Хлопок	533-580	+	
	Канола	533-610	+	
	Соя	618-660	+	

2 Качественный анализ

2.1 Протокол

2.1.1 Приготовление мастер-микса

Рассчитайте общее количество необходимых реакций (образцы и контрольные реакции) для конкретного анализа ПЦР, а также для контроля ингибирования.

Рекомендуемые контрольные реакции для конкретного ПЦР-анализа: отрицательный контроль, контроль выделения, положительный контроль и контроль ингибирования на образец.

Для приготовления контроля ингибирования рекомендуется использовать SureFood® GMO Plant PLUS (Арт. № S2049), SureFood® GMO SCREEN 4plex 35S/NOS/FMV+IAC (Арт. № S2126) или SureFood® GMO SCREEN 4plex 35S/NOS/FMV+IAC ® GMO SCREEN 35S/NOS/FMV (Арт. № S2026).

Реакции, необходимые для качественного обнаружения кукурузы, сои, рапса и хлопка:

3 реакции для контролей (1 контроль без матрицы, 1 контроль экстракции, 1 положительный контроль).

Для каждого образца: как минимум 1 реакция для каждого образца ДНК.

Также рекомендуется готовить мастер-микс с добавлением 10 % объема, чтобы компенсировать потери реагента. Дайте реагентам оттаять, перемешайте и отцентрифугируйте перед открытием и использованием.

Пример расчета и приготовления 10 реакций:

Компоненты мастер микса	Количество на 1 реакцию	10 реакций (с 10% превышением)
Реакционная смесь	19,3 мкл	212,3 мкл
Тақ полимеразы	0,7 мкл	7,7 мкл
Общий объём	20 мкл	220 мкл

Хорошо перемешайте каждый мастер-микс и отцентрифугируйте перед использованием.

2.1.2 Приготовление смеси для ПЦР в реальном времени

- Внесите 20 мкл мастер-микса в соответствующие пробирки/лунки.
- Закройте отрицательный контроль (отрицательный контроль готов к ПЦР без каких-либо добавок).
- Внесите пипеткой 5 мкл образца ДНК в указанные пробирки/лунки и закройте их.

- Внесите 5 мкл положительного контроля в указанные пробирки/лунки и закройте их.
- Кратковременно отцентрифугируйте все пробирки/планшеты на низкой скорости.
- Поместите пробирки/планшеты в прибор для ПЦР в реальном времени и запустите анализ в соответствии с настройками.

2.2 Интерпретация результатов

Оценка должна проводиться в соответствии с обычной программой анализа, рекомендованной производителем прибора для ПЦР в реальном времени.

Контрольные реакции должны показывать правильные результаты.

ДНК кукурузы выявляют в FAM-канале, ДНК хлопка выявляют в VIC/HEX-канале, ДНК канолы выявляют в ROX-канале и ДНК сои выявляют в Cy5-канале (см. таблицу).

Образец считается **положительным** по соответствующему параметру, если ДНК образца демонстрирует амплификацию в соответствующем канале. Высокие концентрации ампликона могут привести к слабому или отсутствующему сигналу внутреннего контроля усиления (IAC).

Значение C_r для внутреннего контроля амплификации (IAC) не требуется для получения положительного результата положительного контроля.

Образец считается **отрицательным** по соответствующему параметру, если ДНК образца не показывает амплификации в соответствующем канале и если внешний ингибирующий контроль образца **положительный** со сдвигом значения $C_r \leq 2$ по сравнению с отрицательным контролем.

Если образец ДНК в контроле внешнего ингибирования **не показывает амплификации** или сдвиг значения $C_r > 2$ по сравнению с отрицательным контролем, он содержит вещества, ингибирующие ПЦР. Значительное снижение сигнала флуоресценции также может свидетельствовать о присутствии веществ, ингибирующих ПЦР. В этих условиях необходимо улучшить выделение ДНК и очистку образца. В качестве альтернативы ДНК можно развести (рекомендуется 1:2 в ПЦР-воде) и снова проанализировать на ингибирование. Обратите внимание, что коэффициент разбавления также влияет на предел обнаружения конкретного анализа ПЦР кукурузы, хлопка, канолы или сои.

Результат в соответствующем канале				Результат	Интерпретация
FAM канал кукурузы	VIC/HEX канал хлопка	ROX канал канолы	Су5 канал сои	внешнее управление ингибированием	
<u>положительный</u>	Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный	<u>положительный</u>	ДНК кукурузы обнаружено
Отрицательный	<u>положительный</u>	Отрицательный	Отрицательный	<u>положительный</u>	ДНК хлопка обнаружено
Отрицательный	Отрицательный	<u>положительный</u>	Отрицательный	<u>положительный</u>	ДНК канолы обнаружено
Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный	<u>положительный</u>	<u>положительный</u>	ДНК сои обнаружено
Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный	<u>положительный</u>	Отрицательный для ДНК кукурузы, хлопка, канолы и сои
Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный	Не действителен

3 Дополнительная информация

3.1 Информация о продукте

- Подробная информация о настройке нескольких устройств ПЦР в реальном времени (Скачать: www.congen.de/en/company/downloads)
- Отчет о проверке по запросу

3.2 Техническая поддержка

Если у вас возникнут дополнительные вопросы, свяжитесь с вашим дистрибьютором или отправьте электронное письмо по адресу sales@r-biopharm.de.