

**Комплекты реагентов для ПЦР-амплификации ДНК****ПРОМОТОР-ГМ СОЯ, ПРОМОТОР-ГМ КУКУРУЗА, ТЕРМИНАТОР-ГМ СОЯ,  
ТЕРМИНАТОР-ГМ КУКУРУЗА, ТЕРМИНАТОР-ГМ КАРТОФЕЛЬ  
(форматы «FLASH», «Real-time», «Форез»)**

Наборы реагентов предназначены для выявления промотора 35S CaMV (ПРОМОТОР-ГМ СОЯ, ПРОМОТОР-ГМ КУКУРУЗА) или терминатора NOS агробактерии (ТЕРМИНАТОР-ГМ СОЯ, ТЕРМИНАТОР-ГМ КУКУРУЗА, ТЕРМИНАТОР-ГМ КАРТОФЕЛЬ) в пробах продукции растениеводства и продуктов питания, содержащих ДНК соответствующего растения (сои, кукурузы или картофеля) методом полимеразной цепной реакции.

Комплекты реагентов ПРОМОТОР-ГМ СОЯ и ПРОМОТОР-ГМ КУКУРУЗА выпускаются в форматах «FLASH», «Real-time» и «Форез». Комплекты реагентов ТЕРМИНАТОР-ГМ СОЯ, ТЕРМИНАТОР-ГМ КУКУРУЗА и ТЕРМИНАТОР-ГМ КАРТОФЕЛЬ выпускаются в формате «Real-time».

**Состав (на 48 определений)**

| Реактив                                          | Количество |             |
|--------------------------------------------------|------------|-------------|
| • Смесь для амплификации, запечатанная парафином | 20 мкл     | 48 пробирок |
| • Раствор Taq-полимеразы                         | 500 мкл    | 1 пробирка  |
| • ПЦР-буфер (фон)*                               | 200 мкл    | 1 пробирка  |
| • Минеральное масло                              | 1,0 мл     | 1 пробирка  |
| • Положительный контрольный образец («K+»)       | 150 мкл    | 1 пробирка  |

\* – в комплектах в формате «FLASH»

**Инструкция по применению****1. Постановка амплификации**

- 1.1. Промаркировать пробирки с запечатанной парафином смесью для амплификации (с учётом пробирок для отрицательного контрольного образца – «К–», положительного контрольного образца – «K+»). При использовании ПЦР-детектора для учёта результатов амплификации (формат «FLASH») промаркировать дополнительно две пробирки («ФОН») для контроля фона флуоресценции.
- 1.2. Добавить в каждую пробирку (кроме пробирок «ФОН»), не повреждая слой парафина, по 10 мкл тщательно перемешанного раствора Taq-полимеразы. В пробирки, маркированные «ФОН», добавить по 10 мкл ПЦР-буфера (фон).
- 1.3. Добавить в каждую пробирку по 1 капле минерального масла.
- 1.4. Добавить в каждую пробирку, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл препарата ДНК (кроме пробирок «К–», «K+» и «ФОН»). В пробирки, маркированные «К–» и «ФОН», внести 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего пробоподготовку, в пробирку, маркированную «K+», внести 5,0 мкл положительного контрольного образца.
- 1.5. Центрифугировать пробирки при 1000 об/мин в течение 3–5 сек.
- 1.6. Установить все пробирки в амплификатор и провести ПЦР в режиме, приведённом в таблицах, с учётом объёма реакционной смеси 35 мкл.

**2. Проведение детекции и учёт результатов ПЦР-амплификации ДНК**

Формат «Форез». Регистрация и учёт результатов амплификации с использованием гель-электрофореза – см. инструкцию по проведению гель-электрофореза. Интерпретация результатов в соответствии с таблицами 5 и 6.

Формат «FLASH». Регистрация и учёт результатов ПЦР-амплификации ДНК проводится с помощью ПЦР-детектора «Джин», «Джин-4» согласно инструкции к прибору (пороговые значения для специфического продукта составляют 1,75–2,10, для внутреннего контроля – 2,50). Интерпретация результатов в соответствии с таблицей 6.

Формат «Real-time». Регистрация и учёт результатов проводится на приборах ДТ-322, ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология») или iCycler iQ (Bio-Rad) в соответствии с инструкциями к приборам. Интерпретация результатов в соответствии с таблицей 6.

**Условия хранения**

Комплекты реагентов для ПЦР-амплификации ДНК следует хранить в тёмном месте при 2–8°C в течение всего срока годности. Допускается хранение пробирок со смесью для амплификации, запечатанной парафином, в тёмном месте при 18–25°C в течение всего срока годности.

Срок годности комплектов: формат «FLASH» – 6 месяцев, форматы «Форез» и «Real-time» – 9 месяцев с даты изготовления.

По вопросам, касающимся качества комплектов реагентов для ПЦР-амплификации ДНК, следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, к.6  
Тел./факс +7 (495) 980-45-55  
E-mail: [help@dna-technology.ru](mailto:help@dna-technology.ru)  
[www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru)

Анкета для осуществления обратной связи находится на нашем сайте: <http://www.dna-technology.ru/support>

Таблица 1. Формат «FLASH»

Режим амплификации для амплификатора Терцик  
(ООО «НПО ДНК-Технология»)  
Алгоритм регулирования – «точный»

| № блока | Для амплификаторов с активным регулированием |       |     | Число циклов |
|---------|----------------------------------------------|-------|-----|--------------|
|         | Температура, °C                              | Время |     |              |
|         |                                              | мин   | сек |              |
| 1       | 94,0                                         | 1     | 30  | 1            |
| 2       | 94,0                                         | 0     | 20  | 5            |
|         | 64,0                                         | 0     | 5   |              |
|         | 67,0                                         | 0     | 5   |              |
| 3       | 94,0                                         | 0     | 1   | 40           |
|         | 64,0                                         | 0     | 5   |              |
|         | 67,0                                         | 0     | 5   |              |
| 4       | 10,0                                         | ...   | ... | Хранение     |

Таблица 2. Формат «Форез»

Режим амплификации для амплификатора Терцик  
(ООО «НПО ДНК-Технология»)  
Алгоритм регулирования – «точный»

| № блока | Для амплификаторов с активным регулированием |       |     | Число циклов |
|---------|----------------------------------------------|-------|-----|--------------|
|         | Температура, °C                              | Время |     |              |
|         |                                              | мин   | сек |              |
| 1       | 93,0                                         | 1     | 30  | 1            |
| 2       | 93,0                                         | 0     | 20  | 5            |
|         | 64,0                                         | 0     | 5   |              |
|         | 72,0                                         | 0     | 1   |              |
| 3       | 93,0                                         | 0     | 1   | 40           |
|         | 64,0                                         | 0     | 1   |              |
|         | 72,0                                         | 0     | 1   |              |
| 4       | 10,0                                         | ...   | ... | Хранение     |

Таблица 3. Формат «Real-time»

Режим амплификации для детектирующих амплификаторов  
ДТ-322 и ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»)  
(ПРОМОТОР-ГМ СОЯ, ПРОМОТОР-ГМ КУКУРУЗА, ТЕРМИНАТОР-ГМ СОЯ,  
ТЕРМИНАТОР-ГМ КУКУРУЗА, ТЕРМИНАТОР-ГМ КАРТОФЕЛЬ)

| № блока | Температура, °C | мин | сек | Число циклов | Режим оптических измерений | Тип блока |
|---------|-----------------|-----|-----|--------------|----------------------------|-----------|
| 1       | 80,0            | 2   | 00  | 1            |                            | Цикл      |
| 2       | 94,0            | 1   | 30  | 1            |                            | Цикл      |
| 3       | 94,0            | 0   | 10  | 50           | √                          | Цикл      |
|         | 62,0            | 0   | 20  |              |                            |           |
|         | 67,0            | 0   | 20  |              |                            |           |
| 4       | 10,0            | ... | ... | Хранение     |                            | Хранение  |

Режим амплификации для детектирующего амплификатора iCycler iQ (Bio-Rad Laboratories)  
(ПРОМОТОР-ГМ СОЯ, ПРОМОТОР-ГМ КУКУРУЗА)

| Cycle                                                               | Repeats | Step | Dwell Time | Setpoint, C° | PCR/Melt Data Acquisition |
|---------------------------------------------------------------------|---------|------|------------|--------------|---------------------------|
| Программа для считывания динамических факторов лунок dynamicwf.tmo. |         |      |            |              |                           |
| 1                                                                   | 1       |      |            |              |                           |
|                                                                     |         | 1    | 00:30      | 80,0         |                           |
| 2                                                                   | 1       |      |            |              |                           |
|                                                                     |         | 1    | 01:00      | 94,0         |                           |
| 3                                                                   | 10      |      |            |              |                           |
|                                                                     |         | 1    | 00:20      | 94,0         |                           |
|                                                                     |         | 2    | 00:30      | 62,0         |                           |
| 4                                                                   | 2       |      |            |              |                           |
|                                                                     |         | 1    | 00:20      | 62,0         | Real Time                 |
| Программа амплификации                                              |         |      |            |              |                           |
| 5                                                                   | 40      |      |            |              |                           |
|                                                                     |         | 1    | 00:10      | 94,0         |                           |
|                                                                     |         | 2    | 00:20      | 62,0         | Real Time                 |
|                                                                     |         | 3    | 00:20      | 67,0         |                           |
| 6                                                                   |         | ...  | ...        | 10,0         | storage                   |

Таблица 5

### Длина продуктов ПЦР-амплификации и назначение флуоресцентных меток

| Продукт ПЦР-амплификации                                                    | Длина продукта амплификации, пар нуклеотидов* | Флуоресцентная метка (форматы «FLASH», «Real-time») |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| <b>ПРОМОТОР-ГМ СОЯ</b>                                                      |                                               |                                                     |
| Промотор 35S CaMV                                                           | 199                                           | FAM                                                 |
| Эндогенный внутренний контроль – ДНК сои ( <i>Glycine max</i> )             | 343                                           | HEX                                                 |
| <b>ПРОМОТОР-ГМ КУКУРУЗА</b>                                                 |                                               |                                                     |
| Промотор 35S CaMV                                                           | 199                                           | FAM                                                 |
| Эндогенный внутренний контроль – ДНК кукурузы ( <i>Zea mays</i> )           | 398                                           | HEX                                                 |
| <b>ТЕРМИНАТОР-ГМ СОЯ</b>                                                    |                                               |                                                     |
| Терминатор NOS                                                              |                                               | FAM                                                 |
| Эндогенный внутренний контроль – ДНК сои ( <i>Glycine max</i> )             |                                               | HEX                                                 |
| <b>ТЕРМИНАТОР-ГМ КУКУРУЗА</b>                                               |                                               |                                                     |
| Терминатор NOS                                                              |                                               | FAM                                                 |
| Эндогенный внутренний контроль – ДНК кукурузы ( <i>Zea mays</i> )           |                                               | HEX                                                 |
| <b>ТЕРМИНАТОР-ГМ КАРТОФЕЛЬ</b>                                              |                                               |                                                     |
| Терминатор NOS                                                              |                                               | FAM                                                 |
| Эндогенный внутренний контроль – ДНК картофеля ( <i>Solanum tuberosum</i> ) |                                               | HEX                                                 |

\* – для комплектов в формате «Форез»

Таблица 6

### Интерпретация результатов исследования

| Формат «FLASH». Результат, выданный «ДЖИН» | Формат «Real-time». Превышение порогового значения флуоресценции |                                            | Формат «Форез»                                                | Интерпретация                                                                                                                            |
|--------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                            | Канал FAM (трансген)                                             | Канал HEX (эндогенный внутренний контроль) |                                                               |                                                                                                                                          |
| +                                          | +                                                                | +                                          | две полосы                                                    | Обнаружен промотор 35S (терминатор NOS), обнаружена ДНК соответствующего растения*                                                       |
| -                                          | -                                                                | +                                          | одна полоса, соответствующая эндогенному внутреннему контролю | Не обнаружен промотор 35S (терминатор NOS), обнаружена ДНК соответствующего растения*                                                    |
| нд                                         | -                                                                | -                                          | отсутствие полос                                              | Недостовверный результат (ПЦР необходимо переставить), или некорректное исследование (образец не содержит ДНК соответствующего растения) |

\* – системой «ТЕРМИНАТОР-ГМ КАРТОФЕЛЬ» в некоторых случаях может выявляться также ДНК томата (*Solanum lycopersicum*)

ООО ДНК-Технология  
117587, Москва, Варшавское ш., д.125ж, к.6  
Тел./факс +7 (495) 980-45-55  
E-mail: [help@dna-technology.ru](mailto:help@dna-technology.ru)  
[www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru)