

## Комплект реагентов для ПЦР-амплификации ДНК

### СКАН-СОЯ, СКАН-КУКУРУЗА, ФЛАНК-ГЕН, СКАН-ТЕРМИНАТОР NOS, MON-810

Данная инструкция распространяется на следующие комплекты для ПЦР-амплификации:

**СКАН-СОЯ, СКАН-КУКУРУЗА, ФЛАНК-ГЕН, СКАН-ТЕРМИНАТОР NOS** – форматы «FLASH», «Real-time»;  
**MON-810** – формат «FLASH».

#### 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 («К+»)	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 – «К+»). 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-», «К+»). В пробирку, маркированную «К-», внести 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего пробоподготовку, в пробирку, маркированную «К+», внести 5,0 мкл положительного контрольного образца.
- 1.5. Центрифугировать пробирки при 1000 об/мин в течение 3–5 с.
- 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

- 2.1. 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).
- 2.2. Формат «Real-time»: регистрация и учёт результатов проводится на приборах ДТ-322 или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»), или iCycler iQ (Bio-Rad) в соответствии с инструкциями к приборам.

#### Условия хранения

Комплект реагентов для ПЦР-амплификации ДНК следует хранить в тёмном месте при 2–8 °С в течение всего срока годности.

**Примечание.** Допускается хранение пробирок со смесью для амплификации, запечатанной парафином, в тёмном месте при 18–25 °С в течение всего срока годности.

Срок годности комплекта – 6 месяцев с даты изготовления.

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 «Real-time»

Режим амплификации для детектирующих амплификаторов  
ДТ-322 и ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»)

№ блока	Температура, °C	мин	сек	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80,0	0	30	1		Цикл
	94,0	1	30			
2	94,0	0	30	5		Цикл
	64,0	0	15		√	
3	94,0	0	10	45		Цикл
	64,0	0	15			
4	10,0	...	...	Хранение		Хранение

Таблица 3. Формат «Real-time»

Режим амплификации для детектирующего амплификатора iCycler iQ (Bio-Rad Laboratories)

Cycle	Repeats	Step	Dwell Time	Setpoint, C°	PCR/Melt Data Acquisition
Программа для считывания динамических факторов лунок dynamicwfm.tmo.					
1	1	1	00:30	80,0	
		2	01:30	94,0	
2	5	1	00:30	94,0	
		2	00:45	64,0	
3	2	1	00:30	80,0	Real Time
Программа амплификации					
4	45	1	00:10	94,0	
		2	00:45	64,0	Real Time
5		...	...	10,0	storage

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таблица 4

### Интерпретация результатов исследования

Формат «FLASH» Результат, выданный «ДЖИН»	Формат «Real-time» Превышение порогового значения флуоресценции		Интерпретация
	Канал FAM (продукт амплификации искомой ДНК*)	Канал HEX (внутренний контроль)	
+	+	+	Обнаружен продукт амплификации искомой ДНК*
	+	-	
-	-	+	Не обнаружен продукт амплификации искомой ДНК
нд	-	-	Недостовверный результат, ПЦР необходимо переставить

\* – искомая ДНК:

СКАН-СОЯ: ДНК сои (*Glycine max*),

СКАН-КУКУРУЗА: ДНК кукурузы (*Zea mays*),

ФЛАНК-ГЕН: ДНК промотора 35S (*CaMV*) и/или терминатора NOS агробактерии,

СКАН-ТЕРМИНАТОР NOS: ДНК терминатора NOS агробактерии (*Agrobacterium tumefaciens*),

MON-810: ДНК, характерная для ГМ кукурузы линии MON810.

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов для ПЦР-амплификации ДНК, следует обращаться в

ООО «НПО ДНК-Технология» по адресу:

117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, к.6, 11 этаж

Тел./факс +7 (495) 980-45-55

E-mail: [mail@dna-technology.ru](mailto:mail@dna-technology.ru)

[www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru)