

Особливості тест-системи:

- Готовий результат через 5 хв. і менше
- Зручний формат смужки
- Кількісне визначення за допомогою сканера QuickScan
- Якісне визначення візуально

Склад набору:

- 100 QuickStix тест-смужок, запакованих у 2 вологонепроникні контейнери
- 100 одноразових стаканів та піпеток для проведення тесту

Додаткові матеріали, не поставляються в комплекті:

- Блендер для подрібнення зерен або лабораторний млин
- Мірний циліндр
- Водопровідна вода
- Захисна кришка для блендера

Посилання USDA:

☞ <http://archive.gipsa.usda.gov/biotech/samplingplan1.xls> - Цей веб-сайт містить простий у використанні Калькулятор зразків (29K Excel таблиця). Він дозволяє вводити різні значення рівня достовірності, що корелює з кількістю зерен зразка.

☞ Remund, KM, Dixon, DA, Wright DL, Холден, LR «Статистичні міркування при тестуванні чистоти насіння для трансгенних ознак», Seed Science Research, June 2001, Vol. 11 № 2, стр.

Каталожний номер AQ 065 BGBR

Призначення

Набір EnviroLogix QuickStix для QuickScan для кількісного та якісного визначення Roundup Ready зерна сої розроблений для виявлення наявності білків CP4 EPSPS на рівнях, що типово експресуються в зерні генетично модифікованої (ГМ) сої. Чутливість тестової смужки QuickStix на білок CP4 EPSPS Roundup Ready 0,1% (тобто 1 насіннина із 1000)

Важливо! Більше 1000 зерен в одну наважку не брати, оскільки буде перевищена чутливість тесту!

Принцип застосування тест-смужок QuickStix для скринінгу рівня ГМО зі статистичною достовірністю:

- Для скринінгу зерна на ГМО береться зразок – **репрезентативна вибірка** з великої кількості (машина зерна), тому для визначення ГМО на рівні 0,1-0,25-0,5% застосовується статистичний підхід.
- Він полягає в тому, що для скринінгу на ГМО з високою статистичною достовірністю (90%, 95%, 99%) необхідно достатньо великий **зразок, який ділиться на малі порції**. Якщо кожна порція дає негативний результат на ГМО, то весь зразок вважається негативним. Якщо хоча б одна з порцій дає позитивний результат, весь зразок вважається позитивним на ГМО.
- Тест-смужки QuickComb використовуються для аналізу малих **порцій не більш, ніж по 1000 зерен** кожна, щоб не перевищити чутливість тесту.
- Тест-смужка дає відповідь «так/ні» на присутність/відсутність ГМ зерен у певній порції, проте для статистики цього недостатньо. Лише тестування **декількох порцій зразку** дозволяє оцінити загальний процент ГМ сої з певною достовірністю.
- Чим більше порцій зразку проаналізовано, які показали негативний результат («відсутність» ГМО), тим вище достовірність результату.

Для розрахунку кількості зерен зразка використовується Калькулятор USDA/ GIPSA (проста у використанні Excel таблиця). Він дозволяє визначити ступінь *достовірності*, що корелює з *кількістю зерен зразка* та мінімальною пороговою *концентрацією ГМО*

Таблиця 1.

Кількість порцій по 1000 зерен	Порогова мінімальна концентрація ГМО при аналізі порцій по 1000 зерен при різних ступенях <i>достовірності</i> (90, 95, 99%)		
	90%	95%	99%
1	0,23	0,3	0,46
2	0,116	0,15	0,23
3	0,077	0,1	0,15
4	-	0,075	0,116
5	-	-	0,093

Як видно з таблиці, для перевірки зерна на ГМО на рівні 0,1% із високою достовірністю 95% необхідно протестувати три порції по 1000 зерен кожна (окремо помолоти, екстрагувати та перевірити окремими смужками).

☐ Якщо отримані результати по трьом порціям «-» (немає ГМО), то **весь зразок вважається чистим на рівні 0,1% (без ГМО) із достовірністю 95%**.

☐ Якщо принаймні одна порція показує результат «+», то **весь зразок вважається забрудненим (з ГМО)**.

Як працює тест

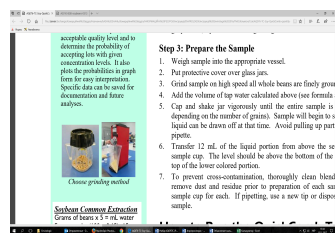
Для виявлення білків генетично модифікованої (ГМ) сої зразок має бути подрібненим та розчиненим. Всі тестові смужки QuickStix сконструйовані спеціально для визначення специфічних аналітів в єдиному екстракті. Кожна тестова смужка QuickStix має дві абсорбуючі подушечки з обох кінців. Захисна плівка, помічена стрілкою, вказує на нижній кінець смужки, який необхідно занурити в пробірку для проведення реакції. Екстракт зразку мігрує по смужці знизу-вгору і абсорбується подушечкою на верхньому кінці смужки. На ділянці смужки між нижньою захисною плівкою та верхньою абсорбуючою подушечкою проходить безпосередньо реакція, результати якої інтерпретуються, як описано у «Інтерпретації результатів». Для отримання кількісного

101-119. Довідник по відбору зразку.

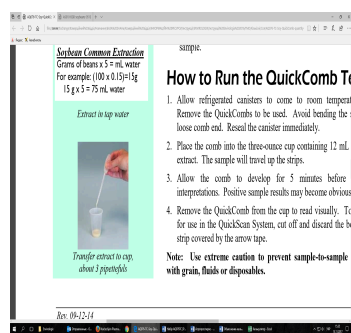
<http://archive.gipsa.usda.gov/reference-library/handbooks/grain-insp/grbook1/bk1.pdf> – Довідник по контролю за зерном Міністерства сільськогосподарства США, книга 1, Відбір зерна.

<http://archive.gipsa.usda.gov/biotech/sample2.htm> - Керівний документ "Вибірка для виявлення біотехнологічних зернових".

<http://archive.gipsa.usda.gov/biotech/sample1.htm> - практичне застосування відбору зразків для виявлення біотехнологічних зернових.



Оберіть метод подрібнення



Перенесіть екстракт у стаканчик (12 мл = 3 піпетки)

результату тестова смужка сканується приладом для зчитування EnviroLogix QuickScan System. Будь ласка, уникайте згинання смужок.

Приготування зразка

Крок 1: Визначте кількість та розмір субнаважок сої (порцій однієї наважки).

- Щоб вибрати відповідну величину вибірки, визначте допустимий пороговий рівень концентрації ГМО (0,1%, 0,25%, 0,5%, 0,9% або інший) і необхідну ступінь достовірності визначення ГМО (90%, 95%, 99% або іншу). Рівень достовірності означає статистичну ймовірність того, що % соєвих бобів ГМО в партії нижче, ніж вибраний пороговий рівень концентрації ГМО.
- При відборі зразків для скринінгу з різним пороговим рівнем концентрації ГМО або з різною достовірністю визначення рекомендовано користуватися калькулятором – таблицею Excel USDA / GIPSA (щоб отримати калькулятор USDA / GIPSA, зверніться до дистриб'ютора EnviroLogix в Україні - ТОВ «Біолабтех ЛТД»).
- Отримайте збірний зразок згідно з інструкціями USDA / GIPSA, що вказані у документах для довідки, перелічених в посиланнях на стор. 1-2 в колонці зліва.

Крок 2: Вага субнаважок, розмір банки, час подрібнення і об'єм води, необхідний для підготовки зразка

- Визначте середню вагу 1 зернини з партії для аналізу. Для цього підрахуйте і зважте 100 зернин / насінин, потім розділіть вагу на 100.
- Розрахуйте вагу однієї субнаважки (г), необхідну для тестування (кількість зернин помножити на середню вагу 1 зернини).
- Розрахуйте об'єм води, необхідний для підготовки зразка. Співвідношення об'єму води до маси зразка 7:1. Вода з водопроводу.

Приклад розрахунку однієї субнаважки з кількістю зерен 1000:

Якщо вага 1 зернини 0,15 г, то вага субнаважки $0,15 \times 1000 = 150$ г.

Об'єм води для екстракції: $150 \times 7 = 1050$ мл.

Пам'ятайте! Для високої достовірності результату необхідно перевірити 3 субнаважки по 1000 зерен.

4. Оберіть зручний розмір банки і час подрібнення в залежності від типу блендера (див. Таблицю 2). Рекомендовано використовувати блендери Oster Sunbeam та Waring для підвищення ефективності подрібнення зерен сої. Проте інші блендери та лабораторні млини також можна використовувати.

Кількість зерен сої	Тип блендера	Вага субнаважки, г	Час подрібнення на максимальній швидкості
100-200	Oster Sunbeam	16-38	20 сек
100	Waring	16-38	60 сек (2x30 сек)
200-400	Waring	38-65	60 сек (2x30 сек)

Крок 3: Приготування зразка

- Розмолоти субнаважку у лабораторному млині, таким чином, щоб 60-70 % часточок проходило через 0,8 мм сито.
- Перенесіть субнаважку у відповідний посуд та додайте водопровідну воду.
- Перемішуйте інтенсивно руками протягом 20-30 с так, щоб всі часточки були рівномірно зволожені. Залиште на 20-30 с, щоб осіли великі часточки
- Перенесіть 12 мл (=3 піпетки) надосадової рідини у пластиковий стакан за допомогою піпетки. Уникайте потрапляння твердих часточок. Необхідний рівень рідини в стаканчику має бути не вище, ніж вказує стрілка на тест-смужці, коли опущена в цей стаканчик.
- Для запобігання крос-контамінації (перехресного забруднення) ретельно вимивайте всі деталі блендера і ємності для подрібнення, щоб видалити всі часточки і пил від попереднього зразка сої, перш ніж приступати до наступного зразка. Використовуйте лише нові чисті стаканчики та піпетки для різних зразків.

Крок 4: Проведення тесту

- Вийміть необхідну кількість тест-смужок із контейнера. Уникайте згинання тест-смужок.

Примітка: перед проведенням дослідження контейнер із тест-смужками необхідно витримати протягом 30 хв. при кімнатній температурі

- Тест-смужку опустіть у стакан із екстракційним розчином, слідкуючи, щоб кінець позначений стрілками був повністю занурений у розчин;
- Залиште тест-смужки в екстракційному розчині на 5 хв, після чого відріжте нижній край із стрілками.



На тест-смужці обов'язково має з'явитися контрольна лінія (Control Line). Тестова лінія (Test Line) з'являється в залежності від наявності ГМО в зразку. Обріжте тест-смужку по лінії, як вказано на малюнку (cut here) і перенесіть для зчитування результату на підпері QuickScan System.

4. **Для якісного аналізу:** зчитайте результат візуально. **Для кількісного аналізу:** помістіть тест-смужку в QuickScan Reader та натисніть «ReadTest» на екрані.

Примітка: під час підготовки та проведення аналізу приймайте максимальні застереження для запобігання перехресного забруднення між зразками через посуд, піпетки, млин та ін.

Крок 5: Інтерпретація результатів

Поява контрольної лінії через 5 хв свідчить про вірне проведення тесту. Тест-смужка, на якій контрольна лінія не проявилася, вважається недійсною, тест необхідно повторити з новою тест-смужкою

Для якісного аналізу: Якщо з'явилися дві лінії (тестова та контрольна, як на малюнку зліва), то результат «+» **позитивний**, ГМО є на рівні 0,1% і більше. Якщо з'явилася одна лінія, контрольна, то результат «-» **негативний**, ГМО немає на рівні до 0,1%.

Для кількісного аналізу: Тестова лінія з'являється в залежності від наявності ГМО в зразку. Якщо ГМ зерна сої присутні у зразку на рівні, не меншому за мінімальну порогову концентрацію, то тестова лінія з'являється. Якщо ГМ зерна сої відсутні або присутні у зразку на рівні, меншому за мінімальну порогову концентрацію, то тестова лінія не з'являється («< LOD» - менше межі виявлення 0,1%).

За допомогою системи QuickScan Reader результати кількісного аналізу виражаються у «% ГМО», або «< LOD» (менше межі виявлення).

Враховуючи коефіцієнт варіації системи QuickScan Reader (20 відсотків), статистичні дані, що надані виробником, та для виконання умов Постанови Кабінету Міністрів України від 13 травня 2009 року №468 «Про затвердження Порядку етикетування харчових продуктів, які містять генетично модифіковані організми або вироблені з їх використанням та вводяться в обіг», щоб з вірогідністю 97,5 відсотків стверджувати, що зразок не містить білок CP4 EPSPS у кількості, що перевищує 0,9 відсотків, результати кількісного аналізу даного зразку не мають перевищувати 0,38 відсотків.

Умови зберігання наборів експрес-тестів QuickStix

Набори експрес-тестів QuickStix слід зберігати при кімнатній температурі (1-2 міс), або в холодильнику на +10 °C (12 міс). Експрес-тести QuickStix можуть використовуватися в польових умовах, однак тривалий вплив високих температур може негативно вплинути на результати тесту. Не піддавати набори дії високих або низьких температур. Не відкривати водонепроникний контейнер, поки не будуть проведені всі підготовчі роботи для аналізу.

Не використовувати експрес-тести QuickStix після закінчення терміну придатності.

Попередження та застереження

- Цей набір призначений для кількісного аналізу наявності білка із QuickScan системою та для візуального визначення присутності чи відсутності білка.
- Як і в усіх тестах, рекомендовано підтвердити результати альтернативним методом, якщо це необхідно.
- Аналіз було оптимізовано для використання протоколу передбаченого набором. Не дотримання цього протоколу може зробити результати тесту не достовірними.
- Дані, отримані в результаті правильного використання цього набору, відображають стан тестованого зразку. Екстраполяція стану початкової партії, з якої було взято робочий зразок, повинна бути заснована на доброякісній процедурі взяття зразка і статистичних підрахунках, спрямованих на перетворення випадкового відбору зразків на не випадковий із врахуванням неточності системи аналізу. Негативний результат в результаті правильного проведення тестування не обов'язково означає, що лот є повністю негативним.
- Сильний позитивний результат може проявитися вже через 2 хв від початку реакції. Проте небезпечно тлумачити негативний результат раніше, ніж через 5 хв., оскільки слабкий позитивний результат потребує 5 хв, щоб проявитися.
- Захищайте всі компоненти від високих і низьких температур, коли ви їх не використовуєте.