

УТВЕРЖДЕНО
Постановлением Главного
государственного санитарного
врача Российской Федерации
от 30 ноября 2007 г. № 80

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ.
БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Методы идентификации
и количественного определения
генно-инженерно-модифицированных организмов
растительного происхождения**

**Методические указания
МУК 4.2.2304—07**

1. Область применения

1.1. Настоящие методические указания устанавливают методы идентификации и количественного определения генно-инженерно-модифицированных организмов (ГМО) растительного происхождения в пищевых продуктах.

1.2. Представлены скрининговые методы, направленные на выявление и количественное определение рекомбинантной ДНК: промотора 35S из вируса мозаики цветной капусты, терминатора NOS из *Agrobacterium tumefaciens* и маркерных генов, позволяющие проводить предварительную проверку пищевой продукции.

1.3. Представлены методы, направленные на идентификацию и количественное определение рекомбинантной ДНК, характерной для генетических конструкций и уникальных трансформационных событий, для осуществления окончательной идентификации линии ГМО растительного происхождения.

2. Аппаратура, инструменты, лабораторная посуда, реактивы

2.1. Для проведения идентификации и количественного определения ГМО растительного происхождения используется следующая аппаратура и инструменты:

- амплификаторы типа ABI Prism 7000, iCycler iQ, Rotor Gene – 3000 (6000), АНК -32, «Терцик МС-2» и другие;
- комплекс аппаратно-программный для анализа биологических микрочипов типа «ДЕРМИГЕН-001»;
- прибор для горизонтального электрофореза типа «Mini- Sub Cell GT System» с комплектом кювет и гребенок;
- источник напряжения типа «Power Pac 300» с диапазоном регулируемого напряжения 50—300 В;
- трансиллюминатор типа T12 с защитным экраном, диапазон излучения 300—400 нм;
- видеосистема типа «Gel Doc 2000TM», предназначенная для ввода в компьютер, анализа и документирования изображений люминисцирующих следов ДНК в гелях, окрашенных бромистым этидием, чувствительность – не менее 10 нг ДНК (по бромистому этидию);
- холодильник бытовой электрический типа «Электролюкс», с температурой морозильной камеры минус 20 °С;
- микроцентрифуга настольная типа Эппендорф (частота вращения не менее 13 000 об./мин);
- термостат типа «ТЕРМО 24-15» под пробирки типа Эппендорф вместимостью 0,5 и 1,5 мл, диапазон температур от 15 до 120 °С, количество гнезд – не менее 20 каждого типа, точность поддержания температуры – 0,2 °С, разность температур между соседними ячейками – не более 0,5 °С;
- термостат суховоздушный типа ТВЗ-25 с рабочей температурой 42 °С, рабочий диапазон от 20 до 60 °С, точность поддержания температуры ± 1 °С;
- аппарат для встряхивания типа «Вортекс», скорость вращения 250—3 000 об./мин;
- печь микроволновая (мощностью не менее 400 W);
- весы лабораторные общего назначения 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 200 г;

- анализатор потенциометрический типа МР 220, погрешность измерений рН $\pm 0,01$;
- гомогенизатор перистальтического типа «Стомайкер» или других моделей;
- облучатель бактерицидный настенный типа ОБН-150;
- дозаторы с переменным объёмом дозирования: 0,2—2,0 мкл с шагом 0,01 мкл, с точностью $\pm 1,2\%$; 0,5—10,0 мкл с шагом 0,01 мкл, с точностью $\pm 0,8\%$; 2—20 мкл с шагом 0,01 мкл, с точностью $\pm 0,8\%$; 20—200 мкл с шагом 0,1 мкл, с точностью $\pm 0,6\%$; 100—1 000 мкл с шагом 1 мкл, с точностью $\pm 3\%$; 2—10 мл с шагом 0,1 мл, с точностью $\pm 0,5\%$.

2.2. Для проведения идентификации и количественного определения ГМО растительного происхождения используется следующая лабораторная посуда:

- цилиндры мерные лабораторные вместимостью 10, 25, 100, 1 000 мл, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Z 327263-2 ЕА, Z 327301-2 ЕА, Z 327379-2 ЕА, Z 327476-2 ЕА;
- колбы мерные лабораторные вместимостью 25, 50, 100, 250, 1 000 мл, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Z 329517-1ЕА, Z 32 9525- 1ЕА, Z 329533-1ЕА, Z329541-1ЕА, Z 329576-1ЕА;
- пробирки микроцентрифужные типа Эппендорф вместимостью 0,2, 0,5, 1,5 мл;
- наконечники с фильтром для дозаторов с переменным объёмом дозирования до: 10; 20; 200; 1 000 мкл; 10 мл.

2.3. Для проведения идентификации и количественного определения ГМО растительного происхождения используются следующие реактивы:

- кислота соляная, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Н 1758;
- кислота борная, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № В 7901;
- натрий едкий, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № 221465;
- натрий хлористый, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № S 3014;
- этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Е 5134;
- гексадецилтриметиламмоний бромид (СТАВ), корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Н 5882;
- трис(оксиметил)аминометан, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Т 6791;

- альбумин бычий сывороточный сухой (БСА), корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № В 4287;
- этидий бромистый, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Е 4391;
- спирт этиловый, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № 459836;
- спирт изопропиловый, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № 19516;
- хлороформ, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № 151823;
- вода деионизированная, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № W 4502;
- вода дистиллированная, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № W 3500;
- 2-меркаптоэтанол, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № М 3148;
- термостабильный фермент Таq-полимеразы, оптимум работы в области 70—72 °С, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Д 1806;
- буфер для ПЦР с MgCl₂, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Р 2192;
- агароза для электрофореза (тип П), корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № А 6877;
- маркер молекулярной массы ДНК, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Р 1473;
- стандартный образец состава генетически немодифицированного организма растительного происхождения, корпорация «Сигма Алдрич» (Fluka), кат. № 53198;
- стандартный образец состава ГМО растительного происхождения, корпорация «Сигма Алдрич» (Fluka), кат. № 44386;
- 2'-дезоксиаденозин-5'-трифосфорной кислоты тетранатриевая соль, тригидрат (АТФ), корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Д 4788;
- 2'-дезокситидин-5'-трифосфорной кислоты тетранатриевая соль, тригидрат (ЦТФ), корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Д 4913;
- 2'-дезоксигуанозин-5'-трифосфорной кислоты тетранатриевая соль, тригидрат (ГТФ), корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Д 5038;
- 2'-дезокситимидин-5'-трифосфорной кислоты тетранатриевая соль, тригидрат (ТТФ), корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № Т 9656;
- праймеры, ЗАО «Синтол», (Россия);
- натрия додецилсульфат (SDS), корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № L 4390;
- 3 %-й раствор перекиси водорода, корпорация «Сигма Алдрич» (Sigma), кат. № 7722.