

2 THETA

Analytical standards and equipment

P. S. 103, 737 01 Český Těšín, CZ Tel: +420/558732122, Fax: 558732224
E-mail: 2theta@2theta.cz, firemní stránky: www.2theta.cz

Geneticky modifikované mikroorganismy a jejich diagnostika

V posledních desetiletích byla zejména v USA připravena metodami genetického inženýrství řada geneticky modifikovaných organismů. Významné jsou geneticky modifikované plodiny např. sója, řepka, kukuřice, brambory, rajčata, čekanka, papaja, tykev.

Výklad základních pojmů :

Genetická modifikace: cílená změna dědičného materiálu organismu způsobem, kterého se nedosáhne přirozenou rekombinací, a to vnesením cizorodého dědičného materiálu do dědičného materiálu organismu nebo vynětím části dědičného materiálu organismu (Zákon č. 153/2000 Sb.)

GMO: organismus, jehož dědičný materiál byl změněn genetickou modifikací

Dědičný materiál : deoxyribonukleová nebo ribonukleová kyselina

Příjemce: organismus, do jehož dědičného materiálu se vnáší cizorodý dědičný materiál,

Insert : cizorodý dědičný materiál, vložený do dědičného materiálu příjemce,

Konstrukt: uměle upravená molekula nukleové kyseliny,

Signální gen: gen obsažený v konstruktě a určující snadno zjištěnou vlastnost buněk nebo organismu, který obsahuje funkční konstrukt,

Selekční gen: gen obsažený v konstruktě a určující necitlivost k určité látce nebo k vlivu zabraňujícímu množení buněk, které tento gen neobsahují,

Nakládání s geneticky modifikovanými organismy a produkty: každá činnost, jejímž předmětem jsou geneticky modifikované organismy nebo produkty od jejich vzniku genetickou modifikací až do okamžiku, kdy ztratí schopnost rozmnožování nebo přenosu dědičného materiálu

Legislativa :

ČR :

Zákon č. 153/2000 Sb. o nakládání s GMO a produkty a prováděcí vyhlášky **372-374/2000 Sb.**

EU:

Směrnice 90/219 EEC pro uzavřené nakládání s geneticky modifikovanými organismy

Směrnice 90/220 EEC pro uvážlivé uvádění geneticky modifikovaných organismů do prostředí (v posledním znění)

Diagnostika GMO:

Diagnostika geneticky modifikovaných organismů (GMO) je prováděna s využitím metod :

- PCR (Polymerase Chain Reaction) (kvalitativní) a RT - PCR (kvantitativní) pro diagnostiku specifických sekvencí DNA (např. 35S, NOS)

Princip metody:

PCR je užívána pro amplifikaci částí DNA, která leží mezi dvěma regiony o známé sekvenci. Pro sérii syntetických reakcí, které jsou katalyzovány DNA polymerázou jsou užívány dva oligonukleotidy jako primery. Tyto oligonukleotidy mají odlišné sekvence a jsou komplementární k sekvencím, které leží na protilehlých řetězcích DNA a ohraničují segment DNA, který má být amplifikován.

- θ Každý cyklus polymerázové řetězové reakce se skládá ze tří kroků: DNA je nejprve denaturována zahřátím v přítomnosti nadměrného množství obou oligonukleotidů a směsi deoxynukleosidtrifosfátů (dNTP)
- θ Reakční směs je pak ochlazena na teplotu, při které primery mohou hybridizovat s cílovými sekvencemi.
- θ Poté jsou primery prodlužovány DNA polymerázou.

Cyklus denaturace, hybridizace a syntézy DNA je pak mnohokrát opakován. Protože produkty jednoho cyklu amplifikace slouží jako matrice pro další, každý následující cyklus v podstatě zdvojnásobuje množství žádaného produktu.

q Imunochemické metody

§ Trait Check

§ ELISA metody (*Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay*)

Princip metody:

Je založen na reakci antigenu (transgenního proteinu) s protilátkou, u níž se měří množství navázaných látek pomocí přidání enzymem značeného antigenu či protilátky. Měření se provádí spektrofotometricky (závislost absorpance na koncentraci).

Imunoenzymatické metody mohou být kompetitivní nebo nekompetitivní.

Kompetitivní:



Většinou se měří množství komplexu značeného antigenu s protilátkou Ag^*AB , ale je rovněž možné měřit množství nenavázaného značeného antigenu.

Nekompetitivní:



Ve většině případů se měří množství navázané značené protilátky (komplex $ABAB^*$) za účelem dosažení co nejvyšší citlivosti.

Některé produkty firmy Hanse Analytik GmbH (GeneScan Europe):

Soupravy pro kvalitativní PCR

q **GMOScreen**

Použití: Slouží k detekci celé řady GMO: kukuřice, sóji, brambor, rajčat, cukrové řepy, papáji, tabáku

Typ soupravy: 5221102210 GMOScreen Advanced Screening Systém Basic Kit

q **GMOIdent**

Použití: Slouží k specifické identifikaci určitého druhu GMO: kukuřice, sóji

Typ soupravy: 5221102310 GMOIdent Kit Roundup Ready™ Soy

5221102410 GMOIdent Kit Maximizer™ Bt176 Corn

5221102510 GMOIdent Kit Bt11 Corn

5221102610 GMOIdent Kit LibertyLink™ T25 Corn

5221102710 *GMOIdent* Kit YieldGard™ Corn
5221102810 *GMOIdent* Kit StarLink™ Corn
5221102910 *GMOIdent* Kit Combi Corn for specific detection of all genetically engineered corn
5221103010 *GMOIdent* Kit Roundup Ready™ GA21 Corn

q **Standardy izolované DNA z GMO sloužící k zabezpečení jakosti**

5221501910 Genomic DNA Roundup Ready™ Soy
5221502010 Genomic DNA LibertyLink™ T25 Corn
5221502110 Genomic DNA YieldGard™ Mon 810 Corn
5221502210 Genomic DNA Maximizer™ Bt176 Corn
5221502310 Genomic DNA Bt11 Corn
5221502410 Genomic DNA StarLink™ Corn

Soupravy pro kvantitativní RT-PCR

q **GMOQuant**

Použití: Slouží k specifické kvantitativní analýze určitého druhu GMO: kukuřice, sóji

Soupravy pro ABI PRISM 7700 (zařízení fy PE Scientific)

Typ soupravy: 5121200110 *GMOQuant* Roundup Ready™ Soy DNA Quantification System (7700)
5121200210 *GMOQuant* Maximizer™ Bt176 Corn DNA Quantification System (7700)
5121200910 *GMOQuant* StarLink™ Corn DNA Quantification System (7700)
5121201010 *GMOQuant* Bt11 Corn DNA Quantification System (7700)
5121201310 *GMOQuant* Roundup Ready™ (GA21) Corn DNA Quantification System (7700)
.....a další

Soupravy pro ABI PRISM 5700 (zařízení fy PE Scientific)

Typ soupravy: 5121200410 *GMOQuant* Roundup Ready™ Soy DNA Quantification System
5121200510 *GMOQuant* Maximizer™ Bt176 Corn DNA Quantification System
5121200610 *GMOQuant* 35S Screen Corn DNA Quantification System
5121201410 *GMOQuant* Bt11 Corn DNA Quantification System
5121201510 *GMOQuant* YieldGard™ (Mon810) Corn DNA Quantification System
.....a další

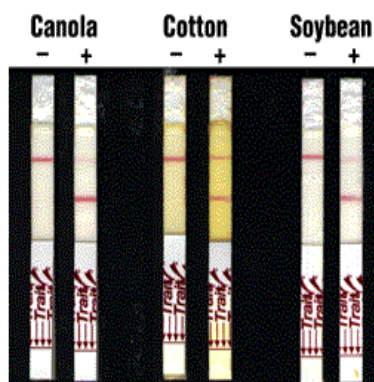
Soupravy pro LightCycler (zařízení fy ROCHE)

Typ soupravy: 5121200710 *GMOQuant* Roundup Ready™ Soy DNA Quantification System
5121200810 *GMOQuant* 35S Screen Corn DNA Quantification System

Soupravy pro imunochemické metody

Trait

Použití: Slouží jako rychlý "polní" screeningový test k diagnostice transgenních proteinů určitého druhu GMO: kukuřice, sóji



Typ soupravy:

- 5226455101 Trait RUR Bulk Soybean Test Kit 100 Strips
- 5226455310 Trait Bt1 Bulk Corn Test Kit 100 Strips
- 5226455510 Trait StarLink™ Leaf/Seed Corn 100 Strips
- 5226455610 Trait LibertyLink™ Leaf/Seed 100 Strips
-a další

GMO Elisa Test



Typ soupravy:

- 5226450101 GMO Soya Test Kit (96 well plate)
- 5226450701 GMO StarLink Maize Test Kit
- 5226450801 GMO Bt Maize Test Kit
-a další

Naši zákazníci se na nás často obrací s dotazy typu: "Potřebovali bychom analyzovat ... a nevíme jak ... a co k tomu budeme potřebovat. Porad'te nám.

Firma 2THETA přichází s odpovědí získanou na základě kontaktů s našimi dodavateli, světově proslulými firmami v dané oblasti nebo na základě informací našich spolupracujících specialistů.

Obraťte se prosím na nás s Vašimi dotazy, poskytneme Vám další informace.