	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – úprava vzorků krmiv a rostlinného materiálu	Vydání	1
	60073.1 – Úprava a homogenizace vzorků čerstvého materiálu pro stanovení přítomnosti GMO metodou PCR	Revize	0

ÚPRAVA A HOMOGENIZACE VZORKŮ ČERSTVÉHO MATERIÁLU PRO STANOVENÍ PŘÍTOMNOSTI GMO METODOU PCR

1 Účel a rozsah

Postup slouží k získání reprezentativního podílu vzorku čerstvého rostlinného materiálu, který je vhodný pro analýzu GMO metodou PCR.

2 Princip

Postup zpracování vzorků čerstvého materiálu zahrnuje veškeré potřebné kroky, které umožní získat reprezentativní podíl vzorku. Upravený vzorek je vhodný pro analýzu GMO metodou PCR.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.


- 1 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).
- 2 Etanol denaturovaný 70%, pro čištění povrchů.
- 3 Chlornan sodný, (0,5 – 1)% roztok.

Příprava: Do 1000ml odměrného válce se nalije 200ml 5% roztoku chlornanu sodného (dodává se komerčně od ověřeného výrobce) a doplní se vodou na objem 1000 ml.

- 4 Tekutý dusík.

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Třecí miska s tloučkem.
- 2 Laboratorní váhy s přesností 0,01 g.
- 3 Mrazicí a hlubokomrazicí box.
- 4 Latexové rukavice bezpudrové, alobal, buničitá vata, stojánky na zkumavky, odpadní nádoby, nádoba na uchování tekutého dusíku, sterilní zkumavky (přibližně 2ml).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – úprava vzorků krmiv a rostlinného materiálu	Vydání	1
	60073.1 – Úprava a homogenizace vzorků čerstvého materiálu pro stanovení přítomnosti GMO metodou PCR	Revize	0

5 Postup

V případě zelených rostlin se čerstvý rostlinný materiál po dodání do laboratoře zmrazí na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Před úpravou vzorků se třecí misky s tloučky omyjí vodou (1) a etanolem (2) – nechají se vysušit zabalené v alobalu v horkovzdušné sušárně 1 h při $(115 - 120)\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nechají se vychladnout na laboratorní teplotu. Poté se roztírá vzorek tloučkem ve vychlazené třecí misce za přítomnosti tekutého dusíku (4) do podoby jemného prášku. Z takto zhomogenizovaného vzorku se do sterilních 2ml zkumavek naváží dva paralelní vzorky v množství, které odpovídá zvolenému extrakčnímu kitu. Pokud se vzorek ihned nezpracovává, zamrazí se v hlubokomrazicím boxu. Po skončení práce se všechny povrchy otřou etanolem (2) nebo roztokem chlornanu sodného (3). Třecí misky s tloučky se umyjí vodou (1) a etanolem (2), nechají se vysušit zabalené v alobalu v horkovzdušné sušárně 1 h při $(115 - 120)\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nechají se vychladnout na laboratorní teplotu.

Takto upravený vzorek se použije k izolaci DNA.

6 Literatura

- 1 ČSN EN ISO 21571 Potraviny – Metody pro detekci geneticky modifikovaných organismů a odvozených produktů – Extrakce nukleové kyseliny. ÚNMZ, 2007.