	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – úprava vzorků krmiv a rostlinného materiálu	Vydání	1
	60074.1 – Úprava a homogenizace vzorků brambor pro stanovení přítomnosti GMO metodou PCR	Revize	0

ÚPRAVA A HOMOGENIZACE VZORKŮ BRAMBOR PRO STANOVENÍ PŘÍTOMNOSTI GMO METODOU PCR

1 Účel a rozsah

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

2 Princip

Postup zpracování vzorků brambor zahrnuje veškeré potřebné kroky, které umožní získat reprezentativní podílu 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 Dekontaminační roztok (Instruzyme, Steridine).
- 3 Etanol denaturovaný 70%, pro čištění povrchů.
- 4 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 Přístroje a pomůcky

- 1 Horkovzdušná sušárna.
- 2 Vysterilizované pomůcky: Nerezový lis na česnek a nerezový vykrajovač kuliček, vhodná nádoba na prolisovaný materiál, např. skleněná mísa.
- 3 Pasteurovy pipety.
- 4 Latexové rukavice bezpudrové, alobal, buničitá vata, kvalitativní filtrační papír, stojánky na zkumavky, odpadní nádoby, 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
	60074.1 – Úprava a homogenizace vzorků brambor pro stanovení přítomnosti GMO metodou PCR	Revize	0

5 Postup

Hlízy brambor se před úpravou umyjí vodou (1) a nechají uschnout na filtračním papíru při laboratorní teplotě. Vzorek o hmotnosti nad 2 kg se náhodně rozdělí na poloviny. Jedna polovina se zpracuje, druhá nechá uskladněná v chladu a temnu pro opakování analýzy v případě prokázání pozitivitu první poloviny vzorku.

Veškeré použité pracovní pomůcky – vykrajovač, lis na česnek a mísa se opláchnou vodou (1), ponoří na 15 min do dekontaminačního roztoku (2), opět opláchnou vodou (1) a suší v horkovzdušné sušárně 20 min při 50 °C. Poté se nechají vychladnout na laboratorní teplotu.

Pomocí vykrajovače se z každé hlízy se slupkou vykrojí stejně velká část (výkrojek), který se následně prolisuje přes nerezový lis na česnek do vhodné nádoby (např. skleněná mísa). Po prolisování všech výkrojků se obsah mísy důkladně promíchá.

Veškeré použité pracovní pomůcky – vykrajovač, lis na česnek a mísa se opláchnou vodou (1), ponoří na 15 min do dekontaminačního roztoku (2), opět opláchnou vodou (1) a suší v horkovzdušné sušárně 20 min při 50 °C. Poté se nechají vychladnout na laboratorní teplotu.

Pro izolaci DNA se používá bramborová šťáva, která se uvolní z hlíz při lisování a následném promíchání. Bramborová šťáva se odebírá pomocí sterilní Pasteurovy pipety do předem označených sterilních 2ml zkumavek v množství, které odpovídá použitému izolačnímu kitu.

Takto upravený vzorek se použije k izolaci DNA.

Po skončení práce se všechny povrchy otrou etanolem (3) nebo roztokem chlornanu sodného (4).

6 Literatura

- 1 Čurn V. a kol.: Metodika izolace DNA a detekce GMO u brambor (*Solanum tuberosum L.*), 2011, Biotechnologické centrum ZF JU, České Budějovice.
- 2 ČSN EN ISO 21571 Potraviny – Metody pro detekci geneticky modifikovaných organismů a odvozených produktů – Extrakce nukleové kyseliny. ÚNMZ, 2007.