

# ИЗМЕНЕНИЯ, УТВЕРЖДЕННЫЕ К НАЦИОНАЛЬНЫМ СТАНДАРТАМ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

65 СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО

ОКС 65.120

Изменение № 1 ГОСТ Р 55576—2013 Корма и кормовые добавки. Метод качественного определения регуляторных последовательностей в геноме сои и кукурузы

Утверждено и введено в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 17.10.2016 № 1416-ст

Дата введения — 2017—07—01

Раздел 1. Заменить слова: «генетически-модифицированной» на «генетически модифицированной» (2 раза).

Раздел 2. Заменить ссылки:

«ГОСТ Р ИСО 6497—2011 Корма для животных. Отбор проб» на «ГОСТ ISO 6497—2014 Корма. Отбор проб»;

ГОСТ ISO 7218—2011 на ГОСТ ISO 7218—2015;

исключить ссылку:

«ГОСТ Р 51652—2000 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия»;

дополнить ссылкой:

«ГОСТ 5962—2013 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия»;

для ГОСТ Р 52173—2003 заменить слова: «генетически-модифицированных» на «генетически модифицированных».

Пункт 5.2 изложить в новой редакции:

«5.2 При проведении испытаний применяют оборудование и материалы по ГОСТ 31719, а также следующие реагенты:

- комплект реагентов для выделения ДНК\*:

буфер для лизирующего реагента, содержащий гуанидин хлорид, 1мМ Трис-НСI, 12мМ ЭДТА;

лизирующий реагент: протеиназа К;

раствор для отмывки 1: гуанидин тиоционат, 1мМ Трис-НСI, 12мМ ЭДТА;

раствор для отмывки 2: 50 %-ный этиловый спирт;

сорбент универсальный: диоксид кремния с примесями оксидов алюминия, кальция, железа, натрия и калия, НСI;

буфер для элюции ДНК: ТЕ-буфер с рН 8,0 ед.рН;

- ПЦР-комплект для выявления ДНК генетически модифицированной сои:

ПЦР-смесь-1: смесь специфичных праймеров и флуоресцентных зондов согласно таблице, 0,4—0,6мМ дНТФ, кратность смеси 2,5х;

ПЦР-буфер: 0,3М Трис-НСI (рН 8,3 ед.рН), 30-180мМ AmSO<sub>4</sub>, 10-25мМ MgSO<sub>4</sub>, глицерин;

полимераза (*TaqF*): полимераза (*TaqF*) химически модифицированная для обеспечения горячего старта;

положительный контрольный образец (ПКО ГМ соя), состоящий из участков последовательности регуляторных конструкций и содержащий места посадки праймеров и флуоресцентных зондов ПЦР-смеси-1. Положительный контроль ПЦР должен давать положительный сигнал по всем используемым каналам флуоресцентной детекции;

отрицательный контрольный образец (ОКО): ТЕ-буфер для элюции ДНК. Отрицательный контроль экстракции не должен давать положительный сигнал по всем используемым каналам флуоресцентной детекции;

- «ПЦР-комплект» для выявления ДНК генетически модифицированной кукурузы:

ПЦР-смесь-1: смесь специфичных праймеров и флуоресцентных зондов согласно таблице, 0,4—0,6мМ дНТФ, кратность смеси 2,5х;

ПЦР-буфер: 0,3М Трис-НСI (рН 8,3 ед.рН), 30-180мМ AmSO<sub>4</sub>, 10-25 мМ MgSO<sub>4</sub>, глицерин;

\* Данный комплект реагентов является рекомендуемым и приведен для удобства пользователей настоящего стандарта.

полимераза (*TaqF*): полимераза (*TaqF*) химически модифицированная для обеспечения горячего старта;

положительный контрольный образец (ПКО ГМ кукуруза), состоящий из участков последовательности регуляторных конструкций и содержащий места посадки праймеров и флуоресцентных зондов ПЦР-смеси-1. Положительный контроль ПЦР должен давать положительный сигнал по всем используемым каналам флуоресцентной детекции;

отрицательный контрольный образец (ОКО): ТЕ-буфер для элюции ДНК. Отрицательный контроль экстракции не должен давать положительный сигнал по всем используемым каналам флуоресцентной детекции».

Пункт 7.3. Заменить ссылку: ГОСТ Р 51652 на ГОСТ 5962.

Пункт 7.4. Заменить ссылку: ГОСТ Р ИСО 6497 на ГОСТ ISO 6497.

Пункт 10.1.1 изложить в новой редакции:

**«10.1.1 Постановка ПЦР**

Размораживают необходимое количество пробирок с ПЦР-смесью-1 (ГМ соя/ГМ кукуруза). Перемешивают на встряхивателе и сбрасывают капли с помощью кратковременного центрифугирования в течение 1—3 с.

Для проведения одной реакции в пробирку вносят 10 мм<sup>3</sup> ПЦР-смеси-1, 5 мм<sup>3</sup> ПЦР-буфера и 0,5 мм<sup>3</sup> полимеразы (*TaqF*). Смесь перемешивают на встряхивателе, осаждая кратковременным центрифугированием, затем вносят по 15 мм<sup>3</sup> смеси в микропробирки вместимостью 0,2 см<sup>3</sup>. Используя наконечник с аэрозольным барьером, в подготовленные пробирки добавляют по 10 мм<sup>3</sup> ДНК испытуемых образцов, избегая попадания универсального сорбента в реакционную смесь.

Ставят контрольные реакции амплификации:

- отрицательный контрольный образец (К-) — вместо ДНК-пробы вносят в пробирку 10 мм<sup>3</sup> ТЕ-буфера;

- положительный контрольный образец (К+) — вносят в пробирку 0,01 см<sup>3</sup> ПКО ГМ соя/ПКО ГМ кукуруза.

Общий объем реакции — 25 мм<sup>3</sup>, объем ДНК-пробы — 10 мм<sup>3</sup>».

(ИУС № 1 2017 г.)