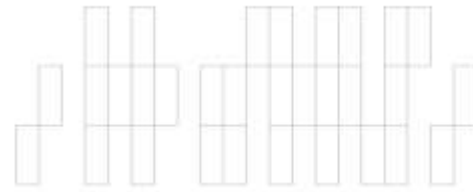




**Применение технологий микрочипов в
исследовании продуктов на присутствие ГМО.**



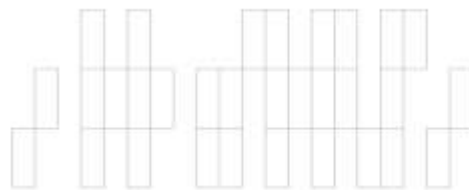
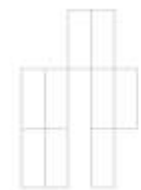
Мудрак Д.Е., компания TECAN



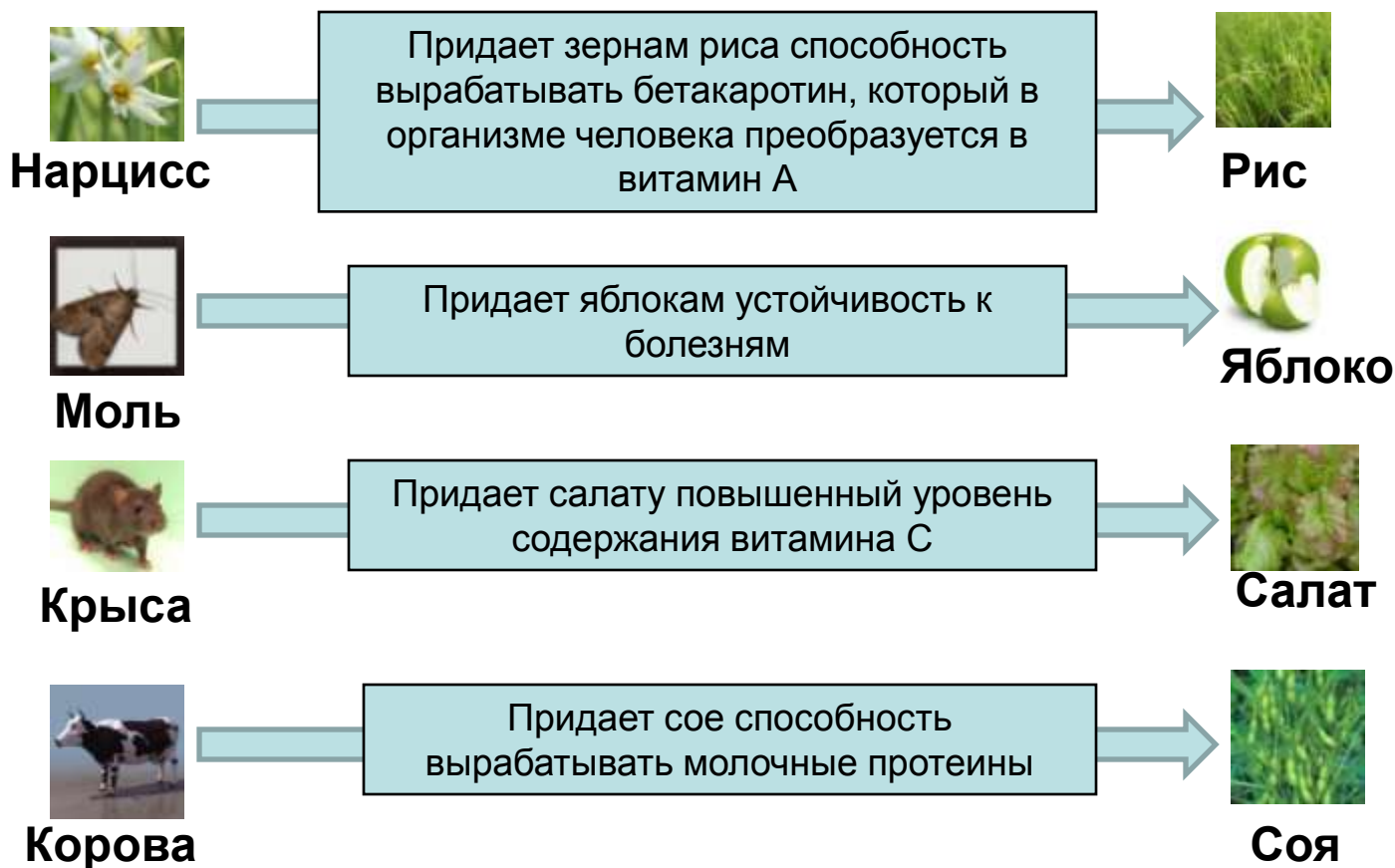
Генмодифицированные организмы (ГМО)

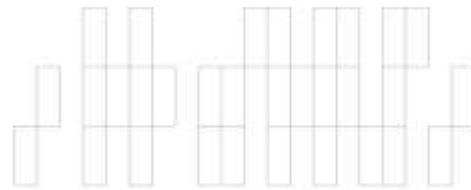
- Генетически модифицированный организм (ГМО) — живой организм, генотип которого был искусственно изменён при помощи методов генной инженерии.





Генетически модифицированные сельхозкультуры получают путем добавления генетического материала, ДНК, одного растения или животного к другому с целью передачи определенных признаков





ГМО на российском рынке пищевой продукции – с 1998 года

Первый продукт, появившийся в России – генетически модифицированная соя линии 40-3-2 (Monsanto Co, США) — устойчивая к гербициду глифосату.



ГМО в России

В РФ ранее имелось лишь официальное письмо главы Роспотребнадзора, согласно которому количество ГМ-ингредиентов в готовом продукте не может превышать 0,9%; более 90% продуктов не имели обязательной информации о наличии в них ГМО

Закон от 12 декабря 2007 г. обязывает всех производителей информировать потребителей о содержании в продукте ГМО, если его доля составляет более 0,9%.

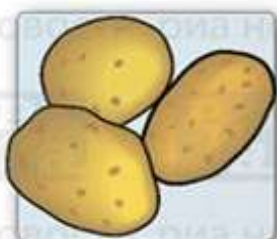
ГМ-культуры в странах мира

- За последние 10 лет площади посевов ГМ-культур в разных государствах мира возросли в 60 раз, достигнув более 110 млн. га.
- Наибольшее количество посевных площадей засеяно в США, Канаде, Бразилии, Аргентине и Китае.
- В США, Канаде, Аргентине продукция, содержащая ГМО, не маркируется. В странах ЕЭС принят 0,9-процентный порог; в Японии и Австралии – 5-процентный

В России в пищевой промышленности разрешено применение 14 сортов, полученных с применением трансгенных технологий:



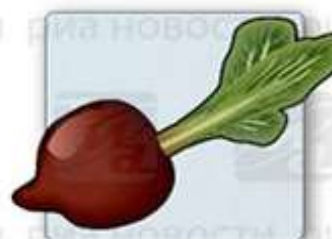
6 сортов кукурузы



4 сорта картофеля



3 сорта сои



1 сорт сахарной свеклы



1 сорт риса

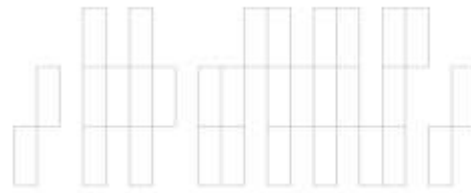
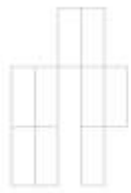
Наиболее часто ГМО встречаются:

в птицеводческих продуктах - 5,6%

в молочной продукции - 5,1%

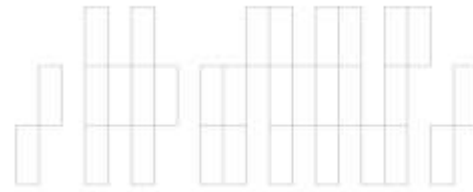
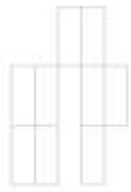
в изделиях из мяса - 3,8%

Наиболее распространенной добавкой является ГМ-соя



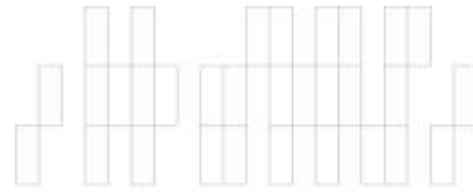
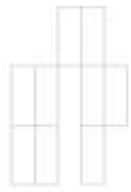
Основные этапы анализа на ГМО

- Скрининг— качественное определение наличия ГМО в подуктах.
- Идентификация – определение конкретных видов ГМО (включены ли они в список разрешенных?)
- Количественный анализ – определение количества ГМО в продукте.



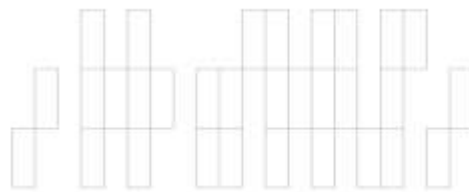
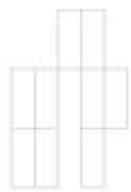
Методы анализа на ГМО

- Анализ ДНК
 - ПЦР
 - Real-time ПЦР
 - ПЦР-ИФА
 - Полуколичественная ПЦР



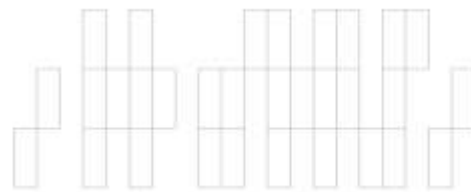
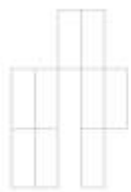
Методы анализа на ГМО

- Анализ белков (иммунологические методы)
 - ИФА
 - Экспресс-тест на стрипах
- Хроматография (напр., для исследования жирных кислот и триглицеридов у ГМ рапса)



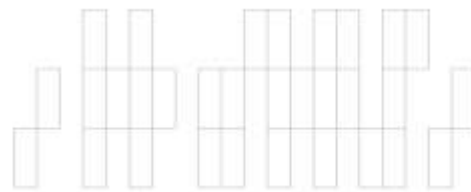
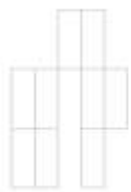
Методы анализа на ГМО

- Спектроскопия в ближней инфракрасной области (напр., для исследования структуры волокон у ГМ сои)
- Определение одиночных молекул с помощью лазерной флуоресцентной спектроскопии (Single molecule detection)



Нормативные документы РФ, регламентирующие контроль содержания ГМО в продуктах

- "МУК 2.3.2.970–00 «Методико-биологическая оценка пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников»
- Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р 52173–2003 «Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения».



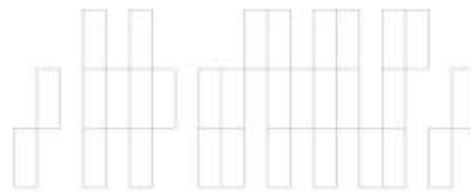
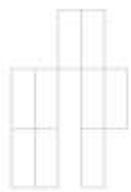
Мишени для анализа на ГМО

- **P-35S** промоутер 35S вируса мозаики цветной капусты
- **nos3'** терминатор nos у бактерии *Agrobacterium tumefaciens*
- **EPSPS** 5-энол-пирувилшикимат-3-фосфат-синтаза
- **СТР** транзитный пептид хлоропласта
- **CDPK** кальцие-зависимая протеин-киназа
- **cryIA(b)** ген кристаллического белка- устойчивость к инсектицидам
- **bar** ген резистентности к фосфинотрицину
- **ampR** ген резистентности к ампициллину
- **hsp70** ген белка теплового шока
- **pat** фосфинотрицин-ацетил трансфераза- устойчивость к гербицидам
- **PEPC** фосфоэнолпируват карбоксилаза
- **adh1-S1** ген алкоголь-дегидрогеназы

.....

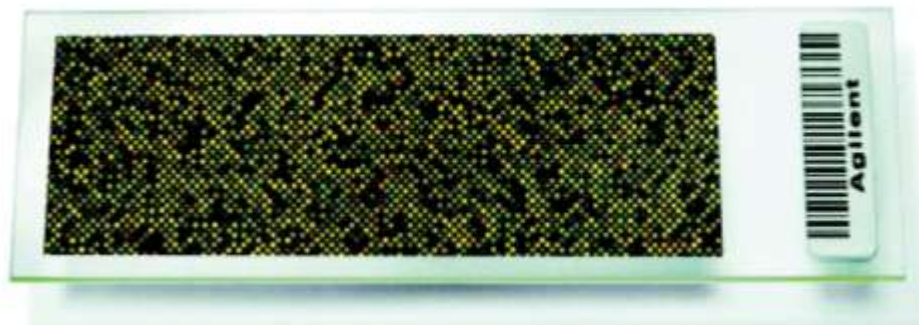
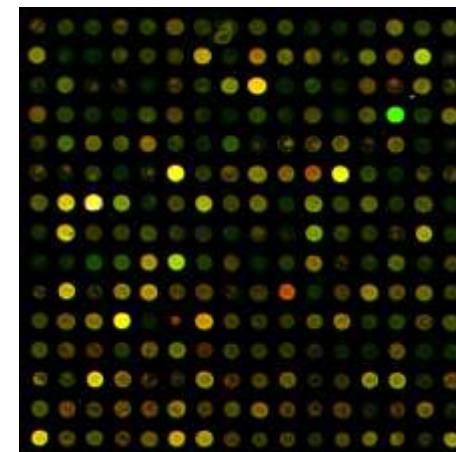
Всего более 50 маркеров

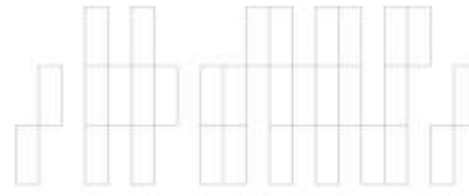
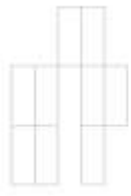
! С каждым годом их количество увеличивается



Новый метод исследования ГМО

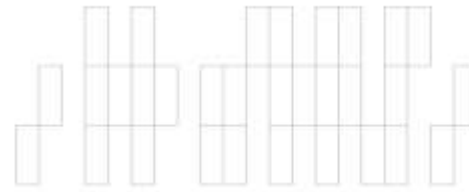
- Микрочипы





Микрочипы

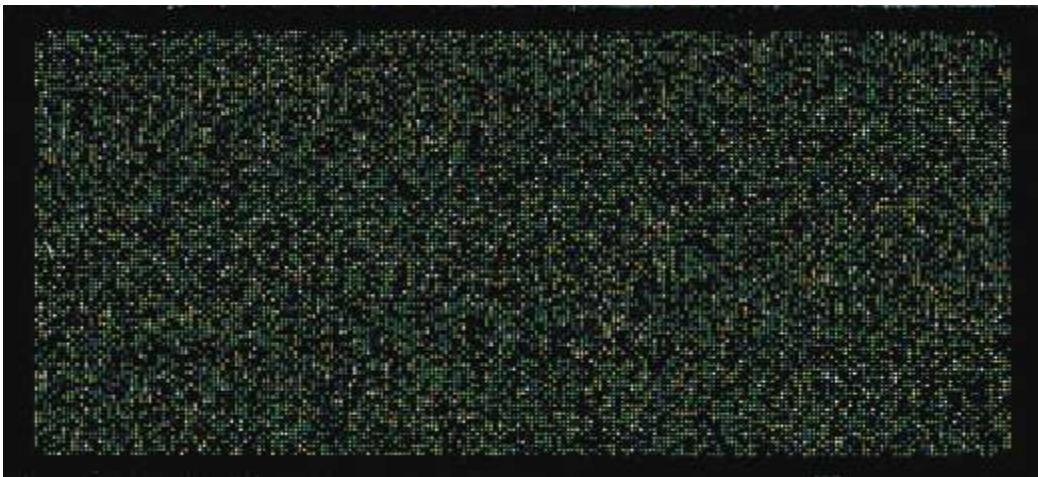
- **Биологические микрочипы** - это миниатюрные устройства для параллельного анализа специфических взаимодействий биологических макромолекул.
- Зондами могут являться олигонуклеотиды, фрагменты геномной ДНК, РНК, белки, рецепторы, лиганды и др.



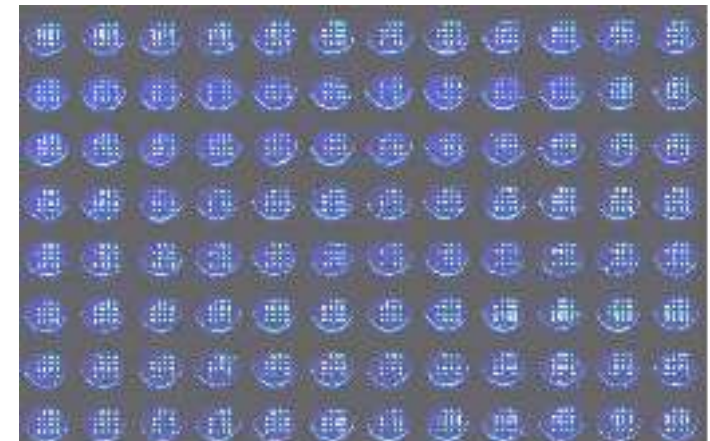
Микрочипы - Биочипы

Преимущество: от 10 до 100.000 параллельных экспериментов на очень маленькой поверхности

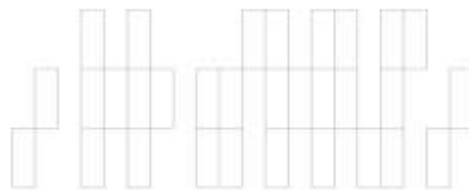
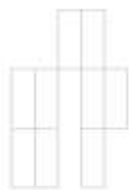
На предметном стекле (25x75 мм):



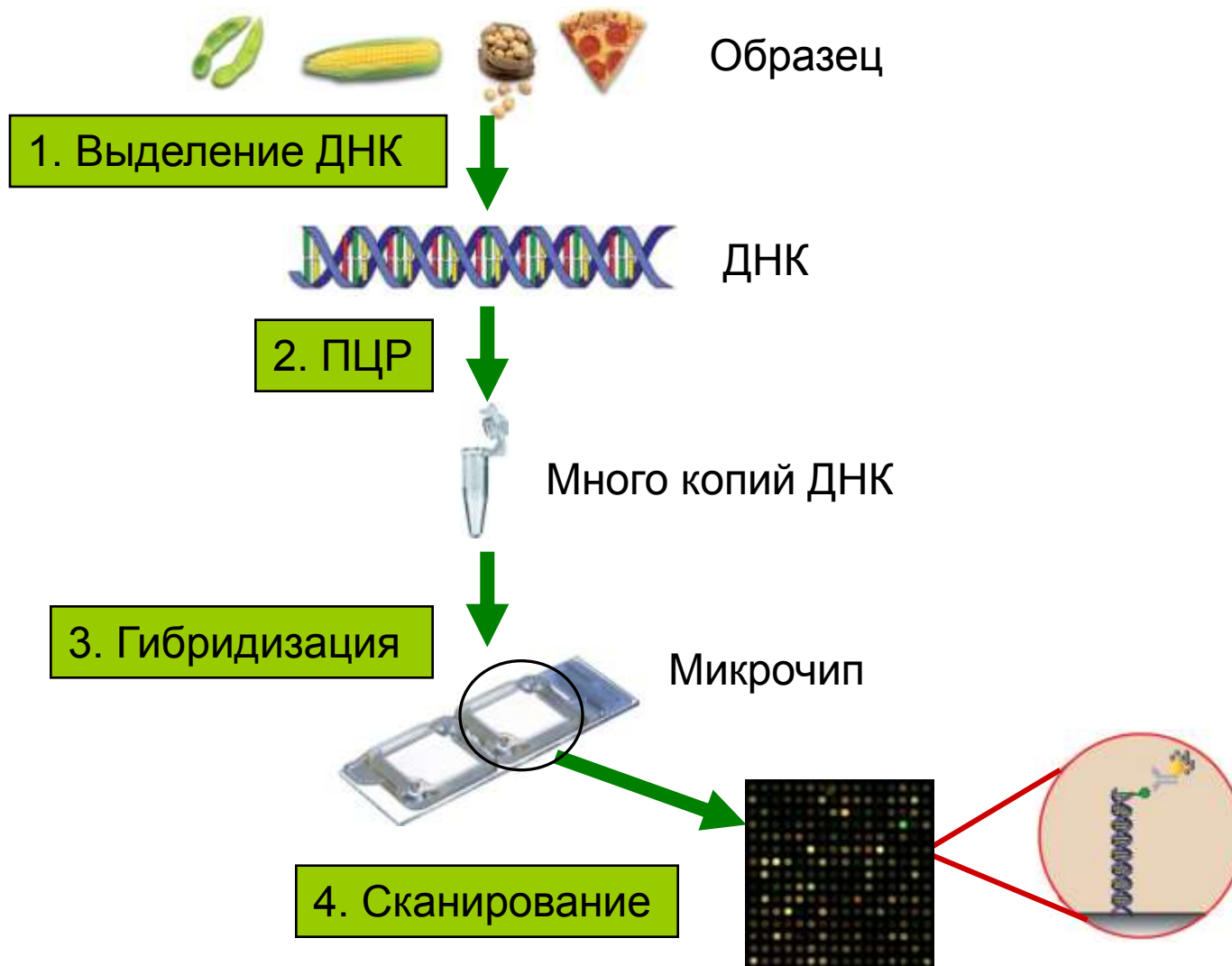
В лунках микропланшета:

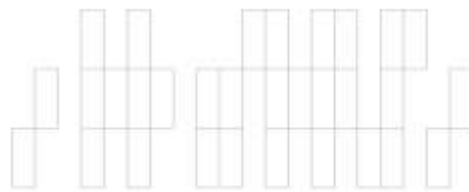
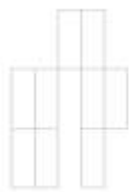


Ø точки: ~ 100 мкм

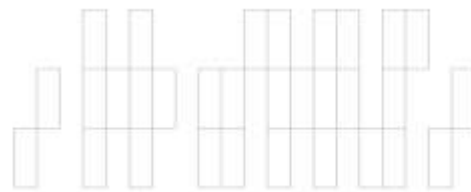
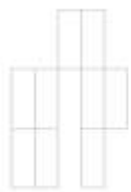


Последовательность работы с ДНК-чипом





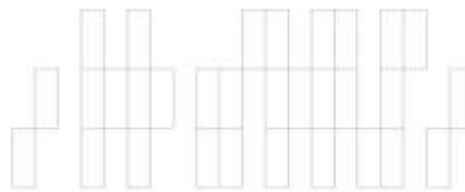
Метод	Время проведения	Количество исследуемых мишеней
Обычная ПЦР	2-3 часа	1
Мультиплексная ПЦР	2-3 часа	2-6
Микрочипы	3-8 часов	до 100.000!!!



Готовые наборы для определения ГМО в продуктах питания

- DualChip
содержит зонды для выявления:
 - 30 трансгенных элементов: p35S, tNos, pat, cry1Ab (3 варианта), cry3Bb1, EPSPS (3 3 варианта), bar, pNos-nptII и др.
 - 7 маркеров, специфических для определенных видов растений (кукуруза, соя, рапс, хлопок, рис, картофель, сахарная свекла)
 - 6 контрольных элементов





Оборудование ТЕСАН для работы с микрочипами

Микрочип



Гибридизация



Сканирование результатов



Станции для гибридизации микрочипов HS 4800 Pro и HS 400 Pro

Серия Лазерных Сканеров LS Reloaded и PowerScanner

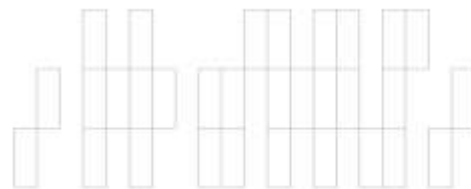
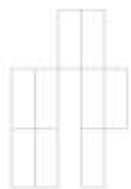
Подготовка образцов



Станция для выделения Freedom EVO



Измерение количества НК и метки Infinite 200 NanoQuant



Сканирование результатов

Лазерные сканеры LS Reloaded



LaserCheck™

Ω Гибкость форматов:

- стекла, микропланшеты, мини-гели, блотты, микрофлюидные системы
- поддержка автоматической фокусировки и различных режимов конфокальных измерений

Ω Широкий диапазон красителей:

- 1-4 лазера (от 488 до 633 нм), 1-28 фильтров

Ω Скорость и Мультиплексный анализ:

- один и два канала для измерения

Ω Поточная обработка (1-200 стекол, 1-50 планшет)

- 1-4 лазеров (488-633 нм), 1-28 фильтров
- красители, поля ...

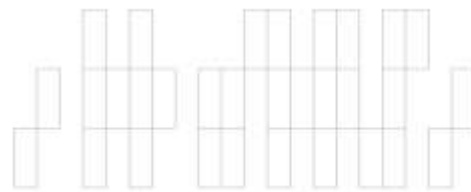
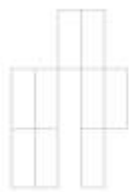
Ω Параметры Настройки:

- автоматическая регулировка усиления
(предотвращает насыщенность сигнала)
- усреднение
- сканирование через стекло
- специальный режим сканирования для детекции

некачественных точек

Ω QC Сканера и Чипа:

- набор LaserCheck™ проверяет работу системы
- сканирование рассеянным светом для обнаружения точечных дефектов.

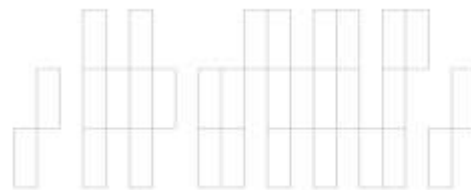
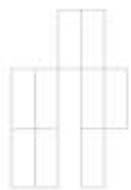


Сканирование результатов

Новый продукт: PowerScanner

- *предполагаемая дата выпуска – январь 2009*
- Работа – только со стеклами.
- Высокое разрешение – максимальное на рынке (2, 5, 10, 20, 40 мкм)
- Высокая чувствительность ($< 0,04$ флуорофора/кв.мкм)
- Автоматическая фокусировка
- Активная очистка воздуха – нет озона
- Цена значительно ниже, чем у LS





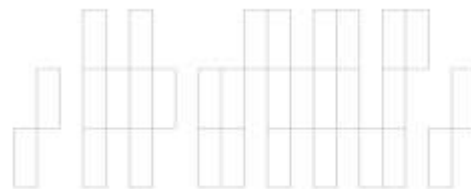
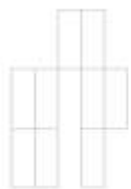
Автоматизация гибридизации, отмывки стекла и сушки

Гибридизационные станции HS Pro

Меньше фоновых сигналов – Высокая чувствительность – Высокая производительность – с HS 400 Pro и HS 4800 Pro фирмы Tecan



- полностью автоматическая гибридизация, отмывка и сушка
- перемешивание (4 режима)
- предотвращение образования пузырьков ABS™
- малые объемы образца ($\leq 130 \mu\text{l}$)
- различные размеры камер
- точная инкубация и отмывка
- сушка стекла OSND™
- действительно параллельное исполнение
- расширяемая пропускная способность
- легкость в использовании, техническое обслуживание небольшого объема
- эксплуатационная гибкость



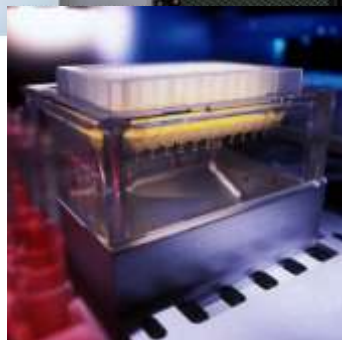
Автоматизация подготовки и нормализации образца

Роботизированные станции Freedom EVO & Микропланшетные ридеры Infinite 200 NanoQuant:



Размер рабочего стола и конфигурация модели адаптированы к нуждам потребителя

- Модульный принцип автоматизации
- Обеспечивает точное выполнение протоколов коммерческих наборов



Микропланшетный ридер

- Измеряет концентрацию ДНК и эффективность связывания метки при объеме 2 мкл

По всем вопросам обращаться в ООО «Химмед»

Адрес: 115230, г.Москва, Каширское шоссе, д.9, корп.3

Тел.: (495) 728-4192, 742-8265/66, (499) 613-2964,

Факс: (495) 742-8341

E-mail : mail@chimmed.ru

www.chimmed.ru

Спасибо за внимание!

