

Федеральное агентство научных организаций

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ВИНОГРАДАРСТВА И
ВИНОДЕЛИЯ «МАГАРАЧ» РАН

УТВЕРЖДАЮ

Врио директора ФГБУН

«ВНИИВиВ «Магарач» РАН

д. с.-х. наук, проф.

М.Н. Борисенко



« 14 » декабря 2017

ПРОТОКОЛ ВЕРИФИКАЦИИ

стандартной операционной процедуры

**«Оценка нуклеиновых кислот и ПЦР продуктов
методом гель-электрофореза»**

Ялта 2017

Наименование образцов – образцы экстрагированной ДНК, РНК, полученных ПЦР продуктов и кДНК

Цель заключается в верификации полученных результатов разделения методом гель-электрофореза экстрагированной ДНК и РНК, а также полученных ПЦР продуктов и синтезированной кДНК в соответствии с СОП «Оценка нуклеиновых кислот и результатов ПЦР методом гель-электрофореза»

Исполнитель:

лаборатория сектора молекулярно-генетических исследований (МГИ) ФГБУН ВНИИВиВ «Магarach» РАН (ул.Кирова,31, г.Ялта, РК).

Дата проведения верификации: ноябрь 2017 г.

Характеристика и обозначение образцов:

- 1 – 40 образцов экстрагированной ДНК;
- 2 – 40 образцов экстрагированной РНК;
- 3 – 20 образцов ПЦР продуктов для ДНК типирования;
- 4 – 40 образцов ПЦР продуктов для диагностики *Agrobacterium*;
- 6 – 40 образцов ПЦР продуктов, полученных nested ПЦР, для диагностики фитоплазм;
- 7 – 40 образцов ПЦР продуктов для диагностики пяти вирусных фитопатогенов

Основные этапы верификации:

- подготовка электрофоретического прибора для выполнения гель-электрофореза;
- приготовление и нанесение образцов экстрагированной РНК, ДНК, кДНК, K^+ и K^- , Ladder буфер;
- при электрофоретическом разделении ПЦР или nested ПЦР продуктов внесение Ladder буфера, K^+ и K^- ;
- выполнение гель-электрофореза;
- визуализация результатов гель-электрофореза под УФ с использованием трансиллюминатора ECX-20M Vilber Lourmat;
- учет результатов проводят по наличию или отсутствию на электрофореграмме специфических полос (фрагмента или ампликона ДНК)
- документирование результатов гель-электрофореза

Результаты верификации

При оценке результатов экстракции ДНК, кДНК методом гель-электрофореза на агарозном блоке присутствуют фрагменты ДНК, как в контрольных, так и в опытных образцах в виде полос, светящихся под УФ. При оценке результатов ПЦР и nested ПЦР на агарозном блоке присутствуют ампликоны также в виде светящихся полос. По расположению ампликонов, относительно маркера длин ДНК (Ladder буфера), ампликонов стандартных образцов, К+ и К- делают вывод о наличии или отсутствии в пробе последовательности фрагмента ДНК определенного размера. Результаты анализа не подлежат учету:

- * если на электрофореграмме в положительном контроле (К+), отсутствует специфическая полоса (ампликоны);
- * если на электрофореграмме в отрицательные контроли (К-), присутствует специфическая полоса (ампликоны);

Заключение.

По результатам верификации показано, что порядок действий при выполнении гель электрофореза, которые устанавливает СОП «Оценка нуклеиновых кислот и результатов ПЦР методом гель-электрофореза» является приемлемыми для визуализации результатов экстракции ДНК, РНК и продуктов ПЦР.

Зав. сектором МГИ, к.б.н.

Ведущий научный сотрудник, к.б.н., доцент

Младший научный сотрудник, к.с.-х.н.

 С.М. Гориславец
 В.И. Рисованная
 В.А. Володин