

**CONGEN**

# **SureFood® GMO ID 4plex Corn I**

Art. No. S2170  
100 rxn

## **User Manual**



**February 2025**

 **Inhalt**

1	Allgemeines .....	3
1.1	Beschreibung .....	3
1.2	Nachweisgrenze .....	3
1.3	DNA-Präparation .....	4
1.4	Kit-Inhalt und Lagerung .....	4
1.5	Zusätzliche benötigte Geräte und Materialien .....	4
1.6	Vorsichtsmaßnahmen .....	4
1.7	Geräteeinstellungen .....	5
1.8	Detektionskanaleinstellungen .....	5
2	Qualitative Analyse .....	6
2.1	Protokoll .....	6
2.1.1	Herstellen des Master-Mix .....	6
2.1.2	Herstellen des real-time PCR-Mix .....	6
2.2	Interpretation der Ergebnisse .....	7
3	Grenzen der Methode .....	8
4	Weitere Informationen .....	8
4.1	Weitere Dokumente und Hilfsmittel .....	8
4.2	Technischer Support .....	8
4.3	Vertrieb und Bestellung .....	8



## **Content**

1	General Information .....	9
1.1	Description .....	9
1.2	Limit of Detection .....	9
1.3	DNA-preparation .....	10
1.4	Kit components and storage .....	10
1.5	Additionally required equipment and materials .....	10
1.6	Precautions for users .....	10
1.7	Setup.....	11
1.8	Detection channel Set-up .....	11
2	Qualitative Analysis .....	12
2.1	Protocol .....	12
2.1.1	Preparation of the master-mix .....	12
2.1.2	Preparation of the real-time PCR-mix .....	12
2.2	Interpretation of results .....	13
3	Limitations of the method .....	14
4	Further Information .....	14
4.1	Product Information .....	14
4.2	Technical Support.....	14
4.3	Distribution and Ordering .....	14

## 1 Allgemeines

### 1.1 Beschreibung

SureFood® GMO ID 4plex Corn I ist eine real-time PCR zum direkten qualitativen Nachweis und zur Differenzierung folgender gentechnisch modifizierter Mais DNA-Sequenzen.

- FAM-Kanal: MON810 Corn (OECD Bezeichnung MON-00810-6)
- VIC/HEX-Kanal: TC1507 Corn (OECD Bezeichnung DAS-01507-1)
- ROX-Kanal: NK603 Corn (OECD Bezeichnung MON-00603-6)
- Cy5-Kanal: MON89034 Corn (OECD Bezeichnung MON-89034-3)

Dieser Test dient der Identifizierung von gentechnisch modifizierten Organismen (GMO) in Lebensmitteln, Futtermitteln sowie Saatgut.

Die Nachweise sind angelehnt am validierten Verfahren der Europäischen Kommission.

Das Nachweisverfahren kann mit allen gängigen real-time PCR Geräten, die mindestens vier Reporterfarbstoffe gleichzeitig in den Kanälen FAM, VIC/HEX, ROX und Cy5 detektieren können, verwendet werden. Die technische Geräteverifizierung erfolgte am Roche LightCycler® 480 II, Qiagen Rotor-Gene Q, Applied Biosystems 7500, Bio-Rad CFX96, R-Biopharm RIDA®CYCLER und Agilent Mx3005P.

### 1.2 Nachweisgrenze

Die SureFood® GMO ID 4plex Corn I real-time PCR hat eine Nachweisgrenze von  $\leq 5$  DNA-Kopien. Das entspricht bei unbehandelten Maiskörnern ca. 0,01 %.

Die Nachweisgrenze des Gesamtverfahrens ist abhängig von Probenmatrix, Prozessierungsgrad, DNA-Präparation und DNA-Gehalt.

Die SureFood® PCR Systeme sind sehr sensitiv. Demzufolge sind bereits sehr geringe Ziel-DNA Gehalte für eine Analyse ausreichend. Über die Bestimmung der Gesamt-DNA in der Probe werden keine Informationen über die Menge und die Qualität an Ziel-DNA erhalten.

**Hinweis:** Bei Mischproben kann es bei ungleichen Mischungsverhältnissen\* zu einem Sensitivitätsverlust in dem Nachweiskanal mit der geringeren Konzentration kommen, besonders wenn in einem Kanal ein Cp-Wert vor 20 erreicht wird.

\* z.B. 99,9 % MON810 Corn und 0,1 % MON89034 Corn

## 1.3 DNA-Präparation

Für die DNA-Präparation wird der SureFood® PREP Basic (Art. Nr. S1052), SureFast® Mag PREP Food (Art. Nr. F1060) und für stark prozessierte Proben wird der SureFood® PREP Advanced (Art. Nr. S1053) empfohlen. Für die DNA-Präparation aus Rohstoffen sowie aus prozessierten Lebens- und Futtermitteln mit 2 g Probeneinwaage wird der SureFood® PREP Add On (Art. Nr. S1055) in Verbindung mit dem SureFood® PREP Basic empfohlen.

## 1.4 Kit-Inhalt und Lagerung

Kit Code	Reagenz	Menge	Deckelfarbe
1	Reaction Mix	2 x 1050 µl	Gelb
2	Taq Polymerase	1 x 80 µl	Dunkelrot
3	Positive Control	1 x 190 µl	Hellblau

**Die Reagenzien sind lichtgeschützt bei –28 bis -16°C zu lagern. Die Taq Polymerase kann bei mehrfacher Verwendung am selben Tag bei +2 bis +8°C gelagert werden.**

**Hinweis: Die Taq Polymerase kann in gefrorenem oder nicht gefrorenem Zustand vorliegen. Dies hat keinen Einfluss auf die Qualität der Taq Polymerase oder die Performance der real-time PCR.**

## 1.5 Zusätzliche benötigte Geräte und Materialien

- DNA-Extraktionskit  
(z.B. SureFood® PREP Basic Art. Nr. S1052 / SureFood® PREP Advanced Art. Nr. S1053 / SureFood® PREP Add On Art. Nr. S1055 / SureFast® Mag PREP Food Art. No. F1060)
- Real-time PCR Gerät mit vier Detektionskanälen (510 nm, 580 nm, 610 nm und 660 nm)
- Real-time PCR Verbrauchsmaterialien (Platten, Gefäße, Folien, Deckel)
- Pipetten, Pipettenspitzen mit Filtern
- Einmalhandschuhe, puderfrei
- Vortexmischer
- Mikrozentrifuge mit Rotor für Reaktionsgefäße

## 1.6 Vorsichtsmaßnahmen

- Eine räumliche Trennung von Extraktion, PCR-Ansatz und PCR ist zu beachten, um Querkontaminationen zu vermeiden.
- Dieser Test ist nur von molekularbiologisch geschultem Laborpersonal durchzuführen.
- Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.
- Während des Umgangs mit Proben Einmalhandschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen.
- In den Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.
- Testkit nach Erreichen des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

**1.7 Geräteeinstellungen**

	<b>Blockcycler &amp; R-Biopharm RIDA®CYCLER</b>	<b>Rotorcycler</b>
Initial Denaturation (HOLD)	5 min, 95°C	1 min, 95°C
Cycles	45	45
Denaturation	15 sec, 95°C	10 sec, 95°C
Annealing/Extension (CYCLE)	30 sec, 60°C	15 sec, 60°C
Temperature Transition Rate/ Ramp Rate	Maximum	Maximum

**1.8 Detektionskanaleinstellungen**

<b>Real-time PCR Gerät</b>	<b>Nachweis</b>	<b>Detektio ns-kanal</b>	<b>Quencher</b>	<b>Bemerkung</b>
<b>Agilent Mx3005P</b>	MON810 Mais	FAM	+	
	TC1507 Mais	HEX	+	
	NK603 Mais	ROX	+	
	MON89034 Mais	Cy5	+	
<b>Applied Biosystems 7500</b>	MON810 Mais	FAM	None	Stellen Sie den passiven Referenzfarbstoff ROX auf none.
	TC1507 Mais	VIC	None	
	NK603 Mais	ROX	None	
	MON89034 Mais	Cy5	None	
<b>Bio-Rad CFX96/Dx/Opus</b>	MON810 Mais	FAM	+	
	TC1507 Mais	VIC/HEX	+	
	NK603 Mais	ROX	+	
	MON89034 Mais	Cy5	+	
<b>R-Biopharm RIDA®CYCLER</b>	MON810 Mais	green	+	<b>Ignore cycles before</b> , wenn zu Beginn des Laufs eine signifikante Abweichung in der Grundlinie vorliegt. Siehe Seite 47 Bedienungsanleitung des Cyclers, Abschnitt 12.1.2 Parameter der Cycling-Analyse.
	TC1507 Mais	yellow	+	
	NK603 Mais	orange	+	
	MON89034 Mais	red	+	
<b>Qiagen Rotor- Gene Q</b>	MON810 Mais	green	+	<b>Achtung:</b> Nur 0,1 ml Reaktionsgefäße verwenden. Die Gain-Einstellungen müssen für alle Kanäle auf 5 (Werkseinstellung) eingestellt sein.
	TC1507 Mais	yellow	+	
	NK603 Mais	orange	+	
	MON89034 Mais	red	+	
<b>Roche LightCycler® 480 II</b>	MON810 Mais	465-510	+	Das SureCC Color Compensation Kit I (Art. Nr. F4009) wird benötigt.
	TC1507 Mais	533-580	+	
	NK603 Mais	533-610	+	
	MON89034 Mais	618-660	+	

## 2 Qualitative Analyse

### 2.1 Protokoll

#### 2.1.1 Herstellen des Master-Mix

Die Gesamtzahl der für die PCR benötigten Reaktionen (Proben und Kontrollreaktionen) ist zu berechnen.

Folgende Kontrollen werden empfohlen: Negativkontrolle, Extraktionskontrolle, Positive Control und eine Inhibitionskontrolle pro Probe.

Für die Durchführung der Inhibitionskontrolle wird die Verwendung des SureFood® GMO Plant PLUS Kits (Art. Nr. S2049) oder des SureFood® GMO SCREEN 4plex 35S/NOS/FMV+IAC (Art. Nr. S2126) empfohlen.

#### **Benötigte Reaktionen für den qualitativen MON810 Mais-, TC1507 Mais-, NK603 Mais- und MON89034 Mais-Nachweis:**

3 Reaktionen für Kontrollen (1x Negativkontrolle, 1x Extraktionskontrolle, 1x Positive Control)

Je Probe: mindestens 1 Reaktion für jede Proben-DNA

Des Weiteren wird empfohlen den Mix mit 10 % zusätzlichem Volumen anzusetzen, um einen Pipettierverlust auszugleichen. Vor der Benutzung die Reagenzien auftauen, mischen und zentrifugieren.

#### **Beispiel für die Berechnung und Herstellung von 10 Reaktionen:**

Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10%)
Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
Taq Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
<b>Gesamtvolumen</b>	<b>20 µl</b>	<b>220 µl</b>

**Master-Mix mischen und anschließend kurz zentrifugieren.**

#### 2.1.2 Herstellen des real-time PCR-Mix

- Pipettieren von 20 µl des Master-Mix in das jeweilige Reaktionsgefäß.
- Verschließen der Negativkontrolle (Die Negativkontrolle besteht nur aus dem Master-Mix).
- Pipettieren von 5 µl der Proben-DNA in die vorgesehenen Reaktionsgefäße.  
Verschließen der Gefäße.
- Pipettieren von 5 µl Positive Control in die vorgesehenen Reaktionsgefäße.  
Verschließen der Gefäße.
- Kurzes Zentrifugieren der Reaktionsgefäße mit wenigen Umdrehungen pro Minute.
- Reaktionsgefäße in das real-time PCR Gerät einsetzen und entsprechend der Geräteeinstellungen starten.

**2.2 Interpretation der Ergebnisse**

Die Auswertung der Ergebnisse wird mit der Analyse Software der jeweiligen real-time PCR Geräte nach den Angaben des Herstellers durchgeführt.

Die Kontrollreaktionen müssen die korrekten Ergebnisse zeigen.

Im FAM-Kanal wird der Parameter MON810 Mais, im VIC/HEX -Kanal der Parameter TC1507 Mais, im ROX-Kanal der Parameter NK603 Mais und im Cy5-Kanal der Parameter MON89034 Mais detektiert (siehe Tabelle).

Eine Probe wird **positiv** für den jeweiligen Parameter bewertet, wenn die Proben-DNA eine Amplifikation im jeweiligen Kanal zeigt.

Eine Probe wird als **negativ** für den jeweiligen Parameter bewertet, wenn die Proben-DNA keine Amplifikation im jeweiligen Kanal zeigt und die zugehörige externe Inhibitionskontrolle **positiv** mit einer Cp-Abweichung  $\leq 2$  zur Negativkontrolle ist.

Sollte die Proben-DNA in der externen Inhibitionskontrolle **keine Amplifikation** oder eine Cp-Abweichung  $> 2$  zur Negativkontrolle zeigen, sind in der Proben-DNA Inhibitoren enthalten, die die PCR unterdrücken. Ein starker Abfall des Fluoreszenzsignals kann ebenfalls eine Inhibition anzeigen. In diesen Fällen muss die Isolierung und Reinigung der DNA aus der entsprechenden Probe verbessert werden. Alternativ kann die DNA verdünnt (Empfehlung 1:2 in PCR-Wasser) und wiederholt auf Inhibition getestet werden. Beachten Sie bitte, dass sich die Nachweisgrenze für die Probe im spezifischen Nachweissystem für MON810 Mais, TC1507 Mais, TC1507 Mais oder MON89034 Mais mit dem gewählten Verdünnungsfaktor ändert.

Ergebnis im jeweiligen Kanal				Ergebnis	Interpretation
FAM-Kanal MON810 Mais	VIC/HEX-Kanal TC1507 Mais	ROX-Kanal NK603 Mais	Cy5-Kanal MON89034 Mais	Externe Inhibitions- kontrolle	
<b>positiv</b>	negativ	negativ	negativ	<b>positiv</b>	MON810 Mais -DNA nachweisbar
negativ	<b>positiv</b>	negativ	negativ	<b>positiv</b>	TC1507 Mais DNA nachweisbar
negativ	negativ	<b>positiv</b>	negativ	<b>positiv</b>	NK603 Mais -DNA nachweisbar
negativ	negativ	negativ	<b>positiv</b>	<b>positiv</b>	MON89034 Mais -DNA nachweisbar
negativ	negativ	negativ	negativ	<b>positiv</b>	Negativ, Ziel-DNA nicht nachweisbar
negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	nicht auswertbar

**Hinweis: Die in der obenstehenden Tabelle dargestellten Ergebnisse dienen lediglich als Beispiel. Darüber hinaus sind weitere Kombinationen möglich.**



### 3 Grenzen der Methode

- Die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren kann zu nicht auswertbaren Ergebnissen führen.
- Äußerst niedrige Konzentrationen der Zielsequenzen, die unter dem Detektionslimit (LoD) liegen, können zu nicht reproduzierbaren Ergebnissen führen.
- Bei stark prozessierten Proben kann es zu einer Verschiebung der Nachweisgrenze kommen. Faktoren wie hohe Drücke, mechanischen Belastungen, chemische Behandlung, extreme Temperaturen und/oder extreme pH-Werte während des Verarbeitungsprozesses – wie z. B. bei der Konservenherstellung – können Nukleinsäuren beschädigen oder abbauen. Das bedeutet, dass die Empfindlichkeit des Testkits verringert sein kann und möglicherweise nicht alle ursprünglichen Bestandteile erfasst werden.

### 4 Weitere Informationen

#### 4.1 Weitere Dokumente und Hilfsmittel

- Detaillierte Informationen zur Einstellung bestimmter real-time PCR Geräte  
(Download: [www.congen.de/unternehmen/download](http://www.congen.de/unternehmen/download))
- Produktbegleitende Unterlagen (Download: [www.congen.de/eifu/](http://www.congen.de/eifu/))
- Validation Report auf Anfrage

#### 4.2 Technischer Support

Bei Fragen zur Durchführung wenden sie sich bitte an Ihren Distributor oder per E-Mail an [sales@r-biopharm.de](mailto:sales@r-biopharm.de).

#### 4.3 Vertrieb und Bestellung

R-Biopharm AG  
An der neuen Bergstrasse 17,  
64297 Darmstadt, Germany  
Phone: +49 (0) 61 51 - 81 02-0  
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-20  
E-Mail: [orders@r-biopharm.de](mailto:orders@r-biopharm.de)  
[www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)

r-biopharm®



## 1 General Information

### 1.1 Description

The SureFood® GMO ID 4plex Corn I is a real-time PCR for the direct, qualitative detection and differentiation of following specific genetically modified corn DNA sequences.

- FAM channel: MON810 corn (OECD unique identifier MON-00810-6)
- VIC/HEX channel: TC1507 corn (OECD unique identifier DAS-01507-1)
- ROX channel: NK603 corn (OECD unique identifier MON-00603-6)
- Cy5 channel: MON89034 corn (OECD unique identifier MON-89034-3)

This kit can be used for the identification of genetically modified organisms (GMOs) in food, feed and seeds.

The detections are according to the validated method of the European Commission.

The real-time PCR assay can be performed with commonly used real-time PCR instruments, equipped for detection of four fluorescence emissions at the channels FAM, VIC/HEX, ROX and Cy5 at the same time. The technical verification of instruments was performed on Roche LightCycler® 480 II, Qiagen Rotor-Gene Q, Applied Biosystems 7500, Bio-Rad CFX96, R-Biopharm RIDA®CYCLER and Agilent Mx3005P.

### 1.2 Limit of Detection

The SureFood® GMO ID 4plex Corn I real-time PCR has a limit of detection of  $\leq 5$  DNA copies. This is equivalent to approx. 0.01 % for unprocessed corn grain.

The assay limit of detection depends on sample matrix, processing grade, DNA preparation and DNA content.

The SureFood® PCR systems are very sensitive and therefore even a small amount of target DNA is sufficient for a successful analysis. The concentration of total DNA in the sample does not allow a conclusion on the quantity and quality of the target DNA.

**Note:** Inconsistent mixing ratios\* may cause a loss of sensitivity in the low concentration channel in mixed samples especially with high amplicon concentrations (Cp value < 20).

\* e.g. 99.9 MON810 corn and 0.1 % MON89034 corn

### 1.3 DNA-preparation

For DNA-preparation of raw material the use of SureFood® PREP Basic (Art. No. S1052), SureFast® Mag PREP Food (Art. No. F1060) and for highly processed food and feed the use of SureFood® PREP Advanced (Art. No. S1053) is recommended. SureFood® PREP Add On (Art. No. S1055) is intended to be used for the extraction of DNA from raw materials as well as processed food and feed with sample weight of 2 g. It is used in conjunction with the SureFood® PREP Basic.

### 1.4 Kit components and storage

Kit Code	Reagent	Amount	Lid Color
1	Reaction Mix	2 x 1050 µl	Yellow
2	Taq Polymerase	1 x 80 µl	Dark Red
3	Positive Control	1 x 190 µl	Light Blue

**Store all reagents at -28 to -16°C °C and protected from light. The Taq Polymerase can be stored at +2 to +8°C for multiple uses on the same day.**

**Note: The Taq Polymerase may be in a frozen or unfrozen state. This does not affect the quality of the Taq Polymerase or the performance of the real-time PCR.**

### 1.5 Additionally required equipment and materials

- DNA-Extraction kit  
(e.g. SureFood® PREP Basic Art. No. S1052 / SureFood® PREP Advanced Art. No. S1053 / SureFood® PREP Add On Art. No. S1055 / SureFast® Mag PREP Food Art. No. F1060)
- real-time PCR instrument with four detection channels (510 nm, 580 nm, 610 nm and 660 nm)
- real-time PCR consumable (plates, tubes, foils, caps)
- pipettes with filter tips
- powder-free disposable gloves
- Vortex mixer
- micro centrifuge with a rotor for the reaction tubes

### 1.6 Precautions for users

- Extraction, PCR preparation and the PCR run should be separated in different rooms to avoid cross-contaminations.
- This test must only be performed by laboratory personnel trained in molecular biology methods.
- Strictly follow the working instructions.
- When handling samples, wear disposable gloves. After finishing the test, wash your hands.
- Do not smoke, eat or drink in areas where samples or test reagents are being used.
- Do not use the kit after the expiration date.

**1.7 Setup**

	<b>Blockcycler &amp; R-Biopharm RIDA®CYCLER</b>	<b>Rotorcycler</b>
Initial Denaturation (HOLD) Cycles	5 min, 95°C 45	1 min, 95°C 45
Denaturation Annealing/Extension (CYCLE)	15 sec, 95°C 30 sec, 60°C	10 sec, 95°C 15 sec, 60°C
Temperature Transition Rate/ Ramp Rate	Maximum	Maximum

**1.8 Detection channel Set-up**

<b>Real-time PCR device</b>	<b>Detection</b>	<b>Detection channel</b>	<b>Quencher</b>	<b>Note</b>
<b>Agilent Mx3005P</b>	MON810 Corn	FAM	+	
	TC1507 Corn	HEX	+	
	NK603 Corn	ROX	+	
	MON89034 Corn	Cy5	+	
<b>Applied Biosystems 7500</b>	MON810 Corn	FAM	None	Check the passive reference option ROX is none.
	TC1507 Corn	VIC	None	
	NK603 Corn	ROX	None	
	MON89034 Corn	Cy5	None	
<b>Bio-Rad CFX96/Dx/Opus</b>	MON810 Corn	FAM	+	
	TC1507 Corn	VIC/HEX	+	
	NK603 Corn	ROX	+	
	MON89034 Corn	Cy5	+	
<b>R-Biopharm RIDA®CYCLER</b>	MON810 Corn	green	+	<b>Ignore cycles before</b> , if there is a significant deviation in the baseline at the start of the run. Please see page 45 of the cycler operating instructions, section 12.1.2 Cycling analysis parameter.
	TC1507 Corn	yellow	+	
	NK603 Corn	orange	+	
	MON89034 Corn	red	+	
<b>Qiagen Rotor-Gene Q</b>	MON810 Corn	green	+	<b>Note:</b> Please use only 0.1 ml reaction tube. The gain settings must be set to 5 (factory default) for all channels.
	TC1507 Corn	yellow	+	
	NK603 Corn	orange	+	
	MON89034 Corn	red	+	
<b>Roche LightCycler® 480 II</b>	MON810 Corn	465-510	+	The SureCC Color Compensation Kit I (Art. No. F4009) is required.
	TC1507 Corn	533-580	+	
	NK603 Corn	533-610	+	
	MON89034 Corn	618-660	+	

## 2 Qualitative Analysis

### 2.1 Protocol

#### 2.1.1 Preparation of the master-mix

Calculate the total number of reactions needed (samples and control reactions) for the specific PCR assay.

Recommended control reactions for the specific PCR assay: negative control, extraction control, Positive Control and an inhibition control per sample.

For the preparation of the inhibition control, it is recommended to use the SureFood® GMO Plant PLUS (Art. No. S2049) or the SureFood® GMO SCREEN 4plex 35S/NOS/FMV+IAC (Art. No. S2126).

**Reactions needed for the qualitative MON810 corn, TC1507 corn, NK603 corn and MON89034 corn detection:**

3 reactions for controls (1x negative control, 1x extraction control, 1x Positive Control)

For each sample: at least 1 reaction for each sample DNA

It is also recommended to prepare the master-mix with 10 % additional volume in order to compensate reagent loss. Allow the reagents to thaw, mix and centrifuge before opening and use.

**Example for the calculation and preparation of 10 reactions:**

Components of the master-mix	Amount per reaction	10 reactions (with 10% excess)
Reaction Mix	19.3 µl	212.3 µl
Taq Polymerase	0.7 µl	7.7 µl
<b>Total volume</b>	<b>20 µl</b>	<b>220 µl</b>

**Mix each master-mix well and centrifuge shortly before use.**

#### 2.1.2 Preparation of the real-time PCR-mix

- Pipette 20 µl of the master-mix into appropriate tubes/wells.
- Close the negative control (the negative control is ready for PCR without any addition).
- Pipette 5 µl of sample DNA into the designated tubes/wells and close them.
- Pipette 5 µl of Positive Control into the designated tubes/wells and close them.
- Centrifuge all tubes/plates shortly at low speed.
- Place tubes/plates into the real-time PCR instrument and start the run according to the setup.

**2.2 Interpretation of results**

The evaluation has to be made according to the usual analysis program recommended by the real-time PCR instrument manufacturer.

The control reactions have to show the correct results.

MON810 corn DNA is detected in the FAM-channel, TC1507 corn DNA is detected in the VIC/HEX -channel, NK603 corn DNA is detected in the ROX-channel and MON89034 corn DNA is detected in the Cy5-channel (see table).

A sample is stated **positive** for the respective parameter, if the sample DNA shows amplification in the respective channel.

A sample is stated **negative** for the respective parameter, if the sample DNA shows no amplification in the respective channel and if the external inhibition control of the sample is **positive** with a shift in Cp-value  $\leq 2$  compared to the negative control.

If the sample DNA in the external inhibition control shows **no amplification** or a shift in Cp-value  $> 2$  compared to the negative control, it contains PCR inhibiting substances. A significant decrease in the fluorescence signal can also show the presence of PCR inhibiting substances. Under these circumstances DNA isolation and purification of the sample need to be improved. Alternatively the DNA can be diluted (recommendation 1:2 in PCR-water) and analysed again for inhibition. Please note that the dilution factor also affects the detection limit of the specific MON810 corn, TC1507 corn, NK603 corn or MON89034 corn PCR assay.

Result in the respective channel				Result	Interpretation
FAM channel MON810 corn	VIC/HEX channel TC1507 corn	ROX channel NK603 corn	Cy5 channel MON89034 corn	external inhibition-control	
<b>positive</b>	negative	negative	negative	<b>positive</b>	MON810 corn DNA detected
negativ	<b>positive</b>	negative	negative	<b>positive</b>	TC1507 corn DNA detected
negativ	negative	<b>positive</b>	negative	<b>positive</b>	NK603 corn DNA detected
negativ	negative	negative	<b>positive</b>	<b>positive</b>	MON89034 corn DNA detected
negativ	negative	negative	negative	<b>positive</b>	Negative, no target DNA detected
negativ	negative	negative	negative	negative	invalid

**Note: The results displayed in the table above represent merely an example. Additional combinations are also possible.**

### **3 Limitations of the method**

- The presence of PCR inhibitors may cause invalid results.
- Extremely low levels of target below the limit of detection (LoD) may be detected, but results may not be reproducible.
- In highly processed samples, the limit of detection may be shifted. Factors such as high pressures, mechanical stresses, chemical treatment, extreme temperatures and/or extreme pH values during manufacturing process – such as in canning production – can damage or degrade nucleic acids. This means that the sensitivity of the test kit may be reduced and not all original components may be detected.

### **4 Further Information**

#### **4.1 Product Information**

- Detailed information about setup of several real-time PCR devices  
(Download: [www.congen.de/en/company/downloads](http://www.congen.de/en/company/downloads))
- Product-related documents (Download: [www.congen.de/en/eifu/](http://www.congen.de/en/eifu/))
- Validation Report upon request

#### **4.2 Technical Support**

For further questions please contact your distributor or send an e-mail to [sales@r-biopharm.de](mailto:sales@r-biopharm.de).

#### **4.3 Distribution and Ordering**

R-Biopharm AG  
An der neuen Bergstrasse 17,  
64297 Darmstadt, Germany  
Phone: +49 (0) 61 51 - 81 02-0  
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-20  
E-Mail: [orders@r-biopharm.de](mailto:orders@r-biopharm.de)  
[www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)

