

*Read instructions carefully before starting test*

# **Reveal<sup>®</sup>**

## **for CP4 (Roundup Ready<sup>®</sup>)**

### **CP4**

Monsanto's Roundup Ready<sup>®</sup> crops are plants that have been genetically improved by the insertion of the CP4 EPSPS coding sequence. The expression of the CP4 protein makes the crops tolerant to Roundup<sup>®</sup> herbicides, allowing an over-the-top application of the herbicide to control weeds without endangering the safety of the crop.

### **INTENDED USE**

Reveal for CP4 is an immunochromatographic lateral flow assay used for the qualitative analysis of CP4 in soybeans and corn. The test can detect as little as 1 CP4 enhanced soybean among 1,000 beans (0.1%), and 1 NK603 Roundup Ready kernel of corn among 800 kernels (0.125%). Earlier Roundup Ready corn varieties, such as GA21, will not be detected. This test is not valid for testing wheat or wheat products.

### **INTENDED USER**

The test kit is designed for use by quality control personnel and others familiar with crops possibly containing CP4. Since technique is very important, operators should be trained by a Neogen representative or someone who has successfully completed Neogen training.

### **ASSAY PRINCIPLES**

Reveal for CP4 is a single-step lateral flow immunochromatographic assay. The water extract is wicked through a reagent zone, which contains antibodies specific for CP4 conjugated to colored particles. If CP4 is present, it will be captured by the conjugated antibodies. The CP4-antibody-particle complex is then wicked onto a membrane which contains a zone of antibody specific for CP4. This zone captures the complex allowing the particles to concentrate and form a visible line. If no CP4 is present, no line will form. The membrane also contains a control zone where an immune complex present in the reagent zone is captured by an antibody, forming a visible line. The control line will always form regardless of the presence of CP4, ensuring the strip is working properly.

## STORAGE REQUIREMENTS

Store kit components at room temperature (18–30°C/64–86°F) to assure full shelf life.

## MATERIALS PROVIDED

1. 50 CP4 test strips
2. 50 transfer pipettes
3. 50 sample tubes

## MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. 32 oz Mason-type (glass or plastic) jars
2. Blender blade assembly for use with 32 oz jars
3. Scale capable of weighing 300 grams (Neogen item 9427)
4. Distilled, deionized or tap water
5. Timer (Neogen item 9426)
6. Sample tube rack (Neogen item 9466)
7. Waterproof marker
8. Graduated cylinder
9. Centrifuge, mini (Neogen item 9330)
10. Tubes, 1.5 mL micro-centrifuge tubes – box of 500 (Neogen item 9372)

## PRECAUTIONS

1. Store test kit at room temperature (18–30°C/64–86°F) when not in use.
2. Do not use kit components beyond expiration date.
3. Do not freeze test kits.
4. Treat all used liquids, including sample extract, and labware as if containing CP4.
5. To avoid cross-contamination, use clean labware for each sample, and thoroughly wash all labware between samples.

## SOYBEAN SAMPLE PREPARATION AND EXTRACTION

The sample to be tested should be collected according to accepted sampling techniques. Extracted samples should be tested immediately.

1. Determine the average bean weight of the soybeans to be tested by counting out 100 beans, weighing all 100 together in one container to the nearest 0.01 gram, and dividing the total by 100.

**NOTE:** The result in step 1 should approximately correlate with the size classifications for soybeans established by the Association of Official Seed Analysts. The classifications are: Very Petite, 0.076 g/seed; Small, 0.095 g/seed; Medium, 0.223 g/seed; and Large, 0.293 g/seed.

2. To achieve 0.1% sensitivity with this test, multiply the average bean weight determined in step 1 by 1,000 to determine the sample size. (Example: An average bean weight of 0.095 X 1,000 = a sample size of 95 grams.)
3. Weigh out the soybean sample size determined in step 2 and deposit into a 32 oz jar. Attach blender blade assembly and blend on high speed for 30-45 seconds.
4. Remove the blender blade and add 4 times the sample size of water to the jar. (Example: 4 X 95 grams of sample = 380 mL of water.) Cap and shake for 30-45 seconds to ensure all the blended soybean has been wetted.
5. Let soybean and water mixture settle, and use liquid from the top of the jar as the test sample.

**NOTE:** It is highly recommended to centrifuge soy samples by pipetting 1 mL of sample into a 1.5 mL micro-centrifuge tube, and centrifuge for 1 minute.

## CORN SAMPLE PREPARATION AND EXTRACTION

The sample to be tested should be collected according to accepted sampling techniques. Extracted samples should be tested immediately.

1. Weigh 250 g  $\pm$  10 g of whole corn sample to be tested and deposit into a 32 oz jar. Attach blender blade assembly and blend on high speed for 30–45 seconds.
2. Remove blender blade and add 400  $\pm$  20 mL of water to the jar. Cap and shake for 30–45 seconds to ensure all corn has been wetted.
3. Let corn and water mixture settle, and use liquid from the top of the jar as the test sample.

## TEST PROCEDURE

1. Remove the appropriate number of sample tubes and place in tube rack.  
**IMPORTANT:** You must use the supplied sample tubes for the test procedure for proper sample flow.
2. Using a new transfer pipette for each sample, transfer approximately 0.5 mL of extract to a sample tube.
3. Place a new CP4 strip with the sample end down into a sample tube.
4. Allow the strip to develop and read results.

## INTERPRETATION OF RESULTS

**Positive results:** If a line forms in the test zone and another line forms in the control zone within 10 minutes (2 lines total), the sample is positive for CP4 at  $\geq$  0.1% for soybeans, or  $\geq$  0.125% for corn. A positive sample may be determined as soon as 2 lines are visible on the strip. If there is no line in the control zone, the test is invalid and the sample should be re-tested with another strip.

**Negative results:** If after the full 10 minutes there is no visible line in the test zone, but a visible line in the control zone, the sample is negative for CP4. If there is no line in the control zone, the test is invalid and the sample should be retested with another strip.

## NOTES:

- Positive results can be recorded as soon as 2 lines are visible, within 1–10 minutes of development time.
- Negative results must be observed after 10 minutes. Observations after 15 minutes may be inaccurate due to over-development of the device.

*\*Contact Neogen or visit [www.neogen.com](http://www.neogen.com) for more information on these products.*

**CUSTOMER SERVICE**

Neogen Customer Assistance and Technical Services can be reached by using the contact information on the back of this booklet. Training on this product, and all Neogen test kits, is available.

**SDS INFORMATION AVAILABLE**

Safety data sheets (SDS) are available for this test kit, and all of Neogen's Food Safety test kits, on Neogen's Web site at [www.neogen.com](http://www.neogen.com), or by calling Neogen at 800/234-5333 or 517/372-9200.

**TERMS AND CONDITIONS**

For Neogen's full terms and conditions, please visit [www.neogen.com/Corporate/termsconditions.html](http://www.neogen.com/Corporate/termsconditions.html).

**WARRANTY**

Neogen Corporation makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. If any materials are defective, Neogen will provide a replacement product. Buyer assumes all risk and liability resulting from the use of this product. There is no warranty of merchantability of this product, or of the fitness of the product for any purpose. Neogen shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.



## TESTING KITS AVAILABLE FROM NEOGEN

### Natural toxins

- Aflatoxin, DON, ochratoxin, zearalenone, T-2/HT-2 toxins, fumonisin, histamine

### Foodborne bacteria

- *E. coli* O157:H7, *Salmonella*, *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*

### Sanitation

- ATP, yeast and mold, total plate count, generic *E. coli* and total coliforms, protein residues

### Food allergens

- Almonds, crustaceans, eggs, gliadin, hazelnut, milk, mustard, peanuts, sesame, soy, walnuts, multi-treenut

### Ruminant by-products

- Meat and bone meal, feed

### Species Identification

- Raw and cooked meat samples



#### North America

**Neogen Headquarters**  
800/234-5333 (USA/Canada)  
foodsafety@neogen.com  
foodsafety.neogen.com

#### Europe, Middle East and Africa

**Neogen Europe**  
+ 44 (0) 1292 525 600  
info\_uk@neogeneurope.com  
www.neogeneurope.com

#### Mexico

**Neogen Latinoamerica**  
+52 (55) 5254-8235  
informacion@neogenlac.com  
www.neogenlac.com

#### Brazil

**Neogen do Brasil**  
+55 19 3935.3727  
info@neogendobrasil.com.br  
www.neogendobrasil.com.br

#### China

**Neogen Bio-Scientific Technology**  
+86 21 6271 7013  
info@neogenchina.com.cn  
www.neogenchina.com.cn

#### India

**Neogen Food and Animal Security**  
+91 484 2306598, 2301582  
info@neogenindia.com  
www.neogenindia.com

©Neogen Corporation, 2017. Neogen, AccuScan and Reveal are registered trademarks of Neogen Corporation. All other trademarks are the property of their respective companies. Patent: <http://www.neogen.com/Corporate/patents.html>.

*Lea las instrucciones cuidadosamente  
antes de comenzar la prueba*

**Reveal<sup>®</sup>**

**para CP4 (Roundup Ready<sup>®</sup>)**

#### **CP4**

Los cultivos Roundup Ready<sup>®</sup> de Monsanto son plantas que han sido mejorados genéticamente a través de la inserción de la secuencia de codificación CP4 EPSPS. La expresión de la proteína CP4 hace que los cultivos sean resistentes a las herbicidas Roundup<sup>®</sup>, lo que permite su aplicación por encima de las plantas para controlar las malezas sin arriesgar la seguridad de los cultivos.

#### **USO PREVISTO**

Reveal para CP4 es un ensayo de flujo lateral inmunocromatográfico usado para el análisis cualitativo de CP4 en la soja y el maíz. La prueba puede detectar tan poco como 1 grano mejorado con CP4 entre 1,000 granos (0.1%), y 1 grano de maíz NK603 Roundup Ready entre 800 granos (0.125%). Las variedades anteriores de maíz Roundup Ready, tales como la GA21, no se detectarán. Esta prueba no es válida para la evaluación de trigo o productos a base de éste.

#### **USUARIO PREVISTO**

Este kit de prueba está diseñado para ser utilizado por personal de control de calidad y otros familiarizados con cultivos que posiblemente contengan CP4. Ya que la técnica es muy importante, los operadores deben ser entrenados por un representante de Neogen o una persona que haya completado exitosamente dicho entrenamiento.

#### **PRINCIPIOS DEL ENSAYO**

Reveal para CP4 es un ensayo de flujo lateral inmunocromatográfico de un solo paso. El extracto de agua pasa a través de una zona de reactivo que contiene anticuerpos específicos para CP4 conjugados con partículas coloreadas. Si el CP4 está presente, será capturado por los anticuerpos conjugados. Luego el complejo de partículas de anticuerpos CP4 pasa por una membrana que contiene una zona de anticuerpos específicos para CP4. Esta zona captura el complejo y permite que las partículas se concentren y formen una línea visible. Si el CP4 no está presente, no se formará ninguna línea. La membrana también contiene una zona de control donde un anticuerpo captura un complejo presente en la zona del reactivo y forma una línea visible. La línea de control siempre se formará, independientemente de la presencia del CP4, lo que asegura que la tira está funcionando apropiadamente.

## REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO

Almacene los componentes del kit a temperatura ambiente (18 a 30°C/64 a 86°F) para asegurar una vida útil completa.

## MATERIALES INCLUIDOS

1. 50 tiras de prueba de CP4
2. 50 pipetas de transferencia
3. 50 tubos de prueba

## MATERIALES REQUERIDOS PERO NO INCLUIDOS

1. Frascos tipo albañil (de vidrio o plástico) de 32 onzas
2. Conjunto de la cuchilla mezcladora para uso con frascos de 32 onzas
3. Balanza capaz de pesar 300 g (artículo Neogen 9427)
4. Agua destilada, desionizada o potable
5. Cronómetro (artículo Neogen 9426)
6. Soporte para tubos de muestras (artículo Neogen 9466)
7. Marcador a prueba de agua
8. Cilindro graduado
9. Centrifuga, mini (artículo Neogen 9330)
10. Tubos, tubos de microcentrifuga de 1.5 mL – caja de 500 (artículo Neogen 9372)

## PRECAUCIONES

1. Almacene el kit a temperatura ambiente (18 a 30°C/64 a 86°F) cuando no esté en uso.
2. No utilice los componentes del kit después de la fecha de vencimiento.
3. No congele los kits de prueba.
4. Trate todos los líquidos utilizados, incluso el extracto de muestra, y todos los instrumentos de laboratorio como si contuvieran CP4.
5. Para evitar contaminación cruzada, utilice instrumentos de laboratorio limpios para cada muestra. Lávelos cuidadosamente entre muestras.

## PREPARACIÓN Y EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA DE SOJA

La muestra que será analizada debe ser recolectada de acuerdo con técnicas de muestreo aceptadas. Las muestras extraídas deben analizarse inmediatamente.

1. Determine el peso promedio de los granos de soja que se analizarán contando 100 granos, pesándolos todos juntos en un recipiente al 0.01 g más cercano y dividiendo el total por 100.  
**NOTA:** El resultado del paso 1 debe correlacionarse aproximadamente con las clasificaciones de tamaño para granos de soja establecidas por la Asociación de Analistas Oficiales de Semillas. Las clasificaciones son: Muy pequeña: 0.076 g/semilla; Pequeña: 0.095 g/semilla; Mediana: 0.223 g/semilla; y Grande: 0.293 g/semilla.
2. Para obtener una sensibilidad de 0.1% con esta prueba, multiplique el peso promedio del grano determinado en el paso 1 por 1,000 para determinar el tamaño de la muestra. (Ejemplo: un peso promedio de grano de 0.095 x 1,000 = un tamaño de muestra de 95 gramos.)
3. Pese el tamaño de la muestra de soja determinado en el paso 2 y deposítela en el frasco de 32 onzas. Fije la cuchilla mezcladora y mezcle a alta velocidad durante 30 a 45 segundos.
4. Retire la cuchilla y añada el equivalente a 4 veces el tamaño de la muestra de agua (Ejemplo: 4 x 95 gramos de muestra = 380 mL de agua.) Tape y agite durante 30 a 45 segundos para asegurarse de que toda la soja mezclada se haya mojado.
5. Deje reposar la mezcla de soja y agua y utilice el líquido de la parte superior del frasco como la muestra de prueba.

**NOTA:** Es muy recomendable centrifugar las muestras de soja pipeteando 1 mL de la muestra a un tubo de microcentrifuga de 1.5 mL y centrifugar por 1 minuto.



## PREPARACIÓN Y EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA DE MAÍZ

La muestra que será analizada debe ser recolectada de acuerdo con técnicas de muestreo aceptadas. Las muestras extraídas deben analizarse inmediatamente.

1. Pese 250 g  $\pm$  10 g de la muestra de maíz entero que se analizará y deposítela en el frasco de 32 onzas. Fije la cuchilla mezcladora y mezcle a alta velocidad durante 30 a 45 segundos.
2. Retire la cuchilla y añada 400  $\pm$  20 mL de agua al frasco. Tape y agite durante 30 a 45 segundos para asegurarse de que todo el maíz se haya mojado.
3. Deje reposar la mezcla de maíz y agua y utilice el líquido de la parte superior del frasco como muestra de prueba.

## PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

1. Retire el número apropiado de tubos de muestra y colóquelos en el soporte para tubos.  
**IMPORTANTE:** Debe utilizar los tubos de muestra incluidos para el procedimiento para un flujo de muestra adecuado.
2. Utilizando una pipeta de transferencia nueva para cada muestra, transfiera aproximadamente 0.5 mL de extracto a un tubo de muestra.
3. Coloque una tira nueva de CP4 con el extremo de muestra hacia abajo en el tubo de muestra.
4. Permita que la tira se desarrolle y lea los resultados.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

**Resultados positivos:** Si se forma una línea en la zona de prueba y otra línea en la zona de control dentro de 10 minutos (2 líneas en total), el resultado de la muestra es positivo para CP4 a  $\geq 0.1\%$  para la soja, o  $\geq 0.125\%$  para el maíz. Una muestra positiva puede ser determinada tan pronto como 2 líneas sean visibles en la tira de CP4. Si no hay línea en la zona de control, la prueba no es válida y debe ser repetida usando otra tira.

**Resultados negativos:** Si después de 10 minutos no hay una línea visible en la zona de prueba, pero hay una línea visible en la zona de control, la muestra es negativa para CP4. Si no hay una línea en la zona de control, la prueba no es válida y debe ser repetida usando otra tira.

## NOTA:

- Los resultados positivos pueden ser registrados tan pronto se vean 2 líneas; dentro de 1-10 minutos de tiempo de desarrollo.
- Los resultados negativos deben ser observados luego de 10 minutos. Las observaciones después de 15 minutos pueden ser incorrectas debido a un sobredesarrollo del dispositivo.

\* *Contacte a Neogen o visite [www.neogen.com](http://www.neogen.com) para más información sobre estos productos.*

**SERVICIO AL CLIENTE**

Puede contactar los Servicios Técnicos y Asistencia al Cliente de Neogen usando la información de contacto en la parte posterior de este folleto. Entrenamiento sobre este producto, y para todos los kits de Neogen, está disponible.

**DISPONIBILIDAD DE LAS FICHAS DE DATOS DE SEGURIDAD (SDS)**

Usted puede obtener las fichas de datos de seguridad para este kit y para todos los kits de prueba de Neogen en [www.neogen.com](http://www.neogen.com), o llamando al +1 800-234-5333 o +1 517-372-9200.

**TÉRMINOS Y CONDICIONES**

Por favor visite [www.neogen.com/Corporate/termsconditions.html](http://www.neogen.com/Corporate/termsconditions.html) para los términos y condiciones completos de Neogen.

**GARANTÍA**

Neogen Corporation no ofrece ningún tipo de garantía expresa o implícita, excepto que los materiales utilizados en la fabricación de los productos son de calidad estándar. Si cualquiera de sus materiales están defectuosos, Neogen proveerá un reemplazo del producto. El comprador asume toda la responsabilidad y riesgo resultante del uso de este producto. No hay ningún tipo de garantía de comercialización de este producto o del rendimiento del mismo para ningún propósito. Neogen no será responsable por daños y perjuicios, incluyendo daños especiales o consecuentes, o gastos derivados directa o indirectamente por el uso de este producto.



## KITS DE PRUEBA DISPONIBLES DE NEOGEN

### Toxinas naturales

- Aflatoxina, deoxinivalenol (DON), ocratoxina, zearalenona, toxina T-2/HT-2, fumonisina, histamina

### Bacterias transmitidas por los alimentos

- *E. coli* O157:H7, *Salmonella*, *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*

### Saneamiento

- Trifosfato de adenosina (ATP), mohos y levaduras, recuento total en placa, *E. coli* genérico y total de coliformes, residuos proteínicos

### Alérgenos alimentarios

- Almendras, crustáceos, huevos, gliadina, avellana, lupino, leche, mostaza, maní, ajonjolí, soja, nuez de nogal y múltiples–nueces de árbol

### Subproductos de rumiantes

- Harina de carne y huesos, alimento o concentrado para animales

### Identificación de especies

- Muestras de carnes crudas y cocinadas



#### Norteamérica

##### Oficinas Corporativas de Neogen

+1 800/234-5333 (EEUU/Canadá)  
foodsafety@neogen.com  
foodsafety.neogen.com

#### Europa, Medio Oriente y Africa

##### Neogen Europe

+ 44 (0) 1292 525 600  
info\_uk@neogeneurope.com  
www.neogeneurope.com

#### México

##### Neogen Latinoamérica

+52 (55) 5254-8235  
informacion@neogenlac.com  
www.neogenlac.com

#### Brasil

##### Neogen do Brasil

+55 19 3935.3727  
info@neogendobrasil.com.br  
www.neogendobrasil.com.br

#### China

##### Neogen Bio-Scientific Technology

+86 21 6271 7013  
info@neogenchina.com.cn  
www.neogenchina.com.cn

#### India

##### Neogen Food and Animal Security

+91 484 2306598, 2301582  
info@neogenindia.com  
www.neogenindia.com

©Neogen Corporation, 2017. Neogen, AccuScan y Reveal son marcas registradas de Neogen Corporation. Todas las demás marcas y nombres de productos son marcas o marcas registradas de sus respectivas compañías. Patente: <http://www.neogen.com/Corporate/patents.html>.