



ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ МЕТРОЛОГИИ – РОСТЕСТ»
(ФБУ «НИЦ ПМ – РОСТЕСТ»)**

СОГЛАСОВАНО

Заместитель генерального директора

С.А. Денисенко

« 23 » 04 2026 г.

Государственная система обеспечения единства измерений

Амплификаторы детектирующие «ДТпрайм II»

Методика поверки

РТ-МП-132-705-2026

**Москва
2026 г.**

1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Настоящая методика распространяется на Амплификаторы детектирующие «ДТпрайм II» (далее – амплификаторы) и устанавливает методику их первичной и периодических проверок.

Используемые средства поверки обеспечивают прослеживаемость амплификаторов:

ГСО 9866-2011 - к ГПЭ единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации органических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе жидкостной и газовой хромато-масс-спектрометрии с изотопным разбавлением и гравиметрии ГЭТ 208-2024 в соответствии с ГПС для СИ содержания органических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах, утвержденной приказом Росстандарта № 3158 от 28 декабря 2024 года,

ГСО 12688-2024 - к единице величины «массовая концентрация компонента», воспроизводимой ГПЭ единиц спектральных коэффициентов направленного пропускания, диффузного и зеркального отражений в диапазоне длин волн от 0,2 до 20 мкм ГЭТ 156-2015 в соответствии с ГПС для средств измерений спектральных, интегральных, редуцированных коэффициентов направленного пропускания, диффузного и зеркального отражений и оптической плотности в диапазоне длин волн от 0,2 до 20,0 мкм, утвержденной приказом Росстандарта № 2517 от 27.11.2018, обеспечена проведением измерений по аттестованной методике измерений, предусматривающей применение поверенного спектрофотометра, СО с установленной прослеживаемостью – ГСО 11368-2019, а также стандартных справочных данных коэффициента молярной экстинкции ДНК ГСССД № 452-2024.

Метод поверки включает применение средств измерений и стандартного образца утвержденного типа, приготовление контрольных растворов с известной концентрацией, определение предела детектирования и относительного среднего квадратического отклонения результатов измерений.

В результате поверки должны быть подтверждены следующие метрологические требования, приведенные в таблице 1.

Таблица 1

Наименование характеристики	Значение для модификации	
	5M1	5X1
Диапазон измерений массовой доли ДНК генетически модифицированной сои линии 40-3-2 в ДНК натуральной сои, г/кг	от 1 до 50	
Предел детектирования по СО состава ДНК сои, нг/мкл, не более	10	
Предел допускаемого относительного СКО результатов измерений массовой доли ДНК генетически модифицированной сои линии 40-3-2 в ДНК натуральной сои, %	20	
Диапазон измерений массовой концентрации геномной ДНК E701, нг/мкл	от 1 до 10	-
Предел детектирования по СО состава геномной ДНК, нг/мкл, не более	1	-
Предел допускаемого относительного СКО результатов измерений массовой концентрации геномной ДНК E701, %	20	-

2 ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ

2.1. При проведении поверки должны выполняться операции, указанные в таблице 2.

Таблица 2

Наименование операции поверки	Обязательность выполнения операций поверки при		Номер пункта методики, в соответствии с которым выполняется операция поверки
	первичной поверке	периодической поверке	
Внешний осмотр средства измерений	Да	Да	7
Контроль условий поверки (при подготовке к поверке и опробовании средства измерений)	Да	Да	8.2
Опробование (при подготовке к поверке и опробовании средства измерений)	Да	Да	8.3
Проверка программного обеспечения средства измерений	Да	Да	9
Определение метрологических характеристик и подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям	Да	Да	10

2.2 Если при проведении той или иной операции поверки получен отрицательный результат, дальнейшее выполнение поверки прекращают.

2.3 При проведении периодической поверки для модификации 5M1 предусмотрена поверка для меньшего числа измеряемых величин с использованием только одного ГСО на выбор.

3 ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- | | |
|--|----------------|
| – температура окружающего воздуха, °С | от +15 до +25 |
| – атмосферное давление, кПа | от 84 до 106,0 |
| – относительная влажность воздуха, %, не более | 80 |

4 ТРЕБОВАНИЯ К СПЕЦИАЛИСТАМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ ПОВЕРКУ

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются поверители средств измерений, владеющие методом ПЦР анализа, знающие принцип действия, конструкцию и правила эксплуатации амплификаторов.

Для получения данных допускается участие операторов, обслуживающих амплификаторы (под контролем поверителя).

5 МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ПОВЕРКИ

При проведении поверки применяют основные и вспомогательные средства поверки, указанные в таблице 3.

Таблица 3

Операции поверки, требующие применение средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
п. 8.2 Проверка условий проведения поверки	Средства измерений температуры окружающей среды в диапазоне измерений от 15 °С до 25 °С с абсолютной погрешностью не более 1 °С; Средства измерений относительной влажности воздуха в диапазоне от 20 до 90 % с погрешностью не более 2 %; Средства измерений атмосферного давления в диапазоне от 80 до 106 кПа, с абсолютной погрешностью не более 0,5 кПа	Измеритель комбинированный Testo 176-P1, рег. № 48550-11
	Средства измерений напряжения питающей сети в диапазоне от 207 до 253 В, с относительной погрешностью не более 1% Средства измерений частоты питающей сети в диапазоне от 50 до 60 Гц, с абсолютной погрешностью не более 0,1 Гц	Мультиметр цифровой Fluke 179 рег. № 27489-11
п. 8.1 Подготовка контрольных растворов – Приложение Б, Г п. 10 Определение метрологических характеристик и подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям	Средства измерений переменного объема от 20 до 200 мкл, предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения фактического объема дозы 3,0 % Средства измерений переменного объема от 100 до 1000 мкл, предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения фактического объема дозы 1,0 % Средства измерений переменного объема от 0,5 до 10 мкл, предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения фактического объема дозы 7,0 %	Дозаторы пипеточные Eppendorf Research Plus одноканальные с переменным объемом дозирования, рег. № 55543-13
	СО с аттестованным значением массовой доли ДНК генетически модифицированной сои линии 40-3-2 в ДНК натуральной сои с границами относительной погрешности (при $P = 0,95$) ± 12 %	ГСО 9866-2011 состава ДНК сои (КОМПЛЕКТ ГМ-СОЯ-ВНИИМ)

Операции поверки, требующие применение средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
	СО с аттестованным значением массовой концентрации геномной ДНК E701 с границами относительной погрешности (при $P = 0,95$) $\pm 8 \%$	ГСО 12688-2024 состава геномной ДНК человека E701
	Вспомогательное оборудование: – Микроцентрифуга-вортекс, встряхиватель лабораторный ДТспин, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия; – ПЦР-бокс (защитная камера с УФ-лампой) настольный с рециркуляцией воздуха UVT-S-AR; – Устройство для запечатывания микропланшетов ДТпак, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия; – Центрифуга для планшетов на 384 лунки; – Набор реагентов для идентификации ГМ линий GTS 40-3-2 и выявления ДНК сои методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» «Соя GTS 40-3-2», ООО «НПФ СИНТОЛ», Россия, или комплект реагентов для ПЦР-амплификации геномной ДНК человека в режиме реального времени (КВМ), в варианте исполнения фасовка S, пробирки, или фасовка S, стрипы ООО «ДНК-Технология ТС», Россия	
Примечание - Допускается использовать при поверке другие утвержденные и аттестованные эталоны единиц величин, средства измерений утвержденного типа и поверенные, утвержденного типа стандартные образцы, удовлетворяющие метрологическим требованиям, указанным в таблице. Допускается применение вспомогательного оборудования, с характеристиками не хуже указанных в таблице.		

6 ТРЕБОВАНИЯ (УСЛОВИЯ) ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

При проведении поверки выполняют все требования безопасности, изложенные в руководстве по эксплуатации на амплификаторы.

При утилизации отходов после амплификации (пробирок, содержащих продукты ПЦР) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого, в целях предотвращения контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

При работе с СО и на всех этапах пробоподготовки и постановки ПЦР необходимо использовать одноразовые перчатки без талька (неопудренные), которые подлежат смене при каждой новой операции.

При работе с устройством для запечатывания микропланшетов ДТпак соблюдать меры предосторожности во избежание получения ожогов от нагревательного элемента устройства.

7 ВНЕШНИЙ ОСМОТР СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

При внешнем осмотре устанавливают:

- соответствие внешнего вида и комплектности поверяемого амплификатора требованиям, приведенным в описании типа;
- четкость маркировки;
- исправность механизмов и крепёжных деталей;
- отсутствие видимых механических повреждений, влияющих на работоспособность амплификаторов.

8 ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ И ОПРОБОВАНИЕ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

Перед проведением поверки выполняют следующие подготовительные работы.

8.1 Готовят растворы согласно Приложению Б и Г (только для модификации 5М1).

8.2 Проверяют соответствие условий проведения поверки, указанным в п. 3.

8.3 Опробование.

Подготовка амплификаторов к работе осуществляется в соответствии с разделом 4 руководства по эксплуатации. Для перехода в данное меню нажмите кнопку . Прибор автоматически осуществляет самодиагностику, выводя на монитор информацию обмена встроенного компьютера с микроконтроллерами прибора.

Результаты опробования считают положительными, если после выхода на режим не появляются информационные сообщения программного обеспечения (далее – ПО), указывающие на возникновение фатальных ошибок.

9 ПРОВЕРКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ

9.1. Проверка версии ПО ДТмастер.

Метрологически значимыми файлами являются:

- «analyser_quantity_relative2.dll», расположенный по пути C:\Program Files (x86)\Dna-Technology\DTmaster\analyser_plugins\analyser_quantity_relative2.dll при поверке с использованием ГСО 9866-2011 стандартный образец состава ДНК сои (КОМПЛЕКТ ГМ-СОЯ-ВНИИМ);
- «analyser_quantity_relative3.dll», расположенный по пути C:\Program Files (x86)\Dna-Technology\DTmaster\analyser_plugins\analyser_quantity_relative3.dll при поверке с использованием ГСО 12688-2024 состава геномной ДНК человека E701.

Запустить ПО ДТмастер - рисунок 1.



Рисунок 1 – Ярлык для запуска ПО ДТмастер

Необходимо подтвердить авторизацию оператора «admin1» (пароль по умолчанию «123») - рисунок 2.



Рисунок 2 – Авторизация при запуске ПО

Открыть вкладку «О программе». Наименование ПО и номер версии указаны в открывающемся окне – рисунок 3



Рисунок 3 – Наименование и номер версии ПО ДТмастер

Для проверки контрольной суммы выделить файл «analyser_quantity_relative2.dll» и правой кнопкой мыши запустить меню, где выбрать вкладку «Свойства». Скопировать оттуда путь из строчки «Расположение».

Для проверки контрольной суммы файла «analyser_quantity_relative2.dll» запустить интегрированную среду сценариев Windows PowerShell ISE (Пуск/Windows PowerShell ISE), во вкладке «Команды/Commands» выбрать команду «Get-FileHash», в параметрах для «Get-FileHash» в строке «Path*» задать путь к файлу, **заключенный в двойные кавычки раскладки клавиатуры ENG:** “C:\Program Files (x86)\Dna-Technology\DTmaster\analyser_plugins\analyser_quantity_relative2.dll”, в строке «Algorithm» выбрать алгоритм вычисления «SHA1». Нажать кнопку «Запустить/Run» – Рисунок 4.

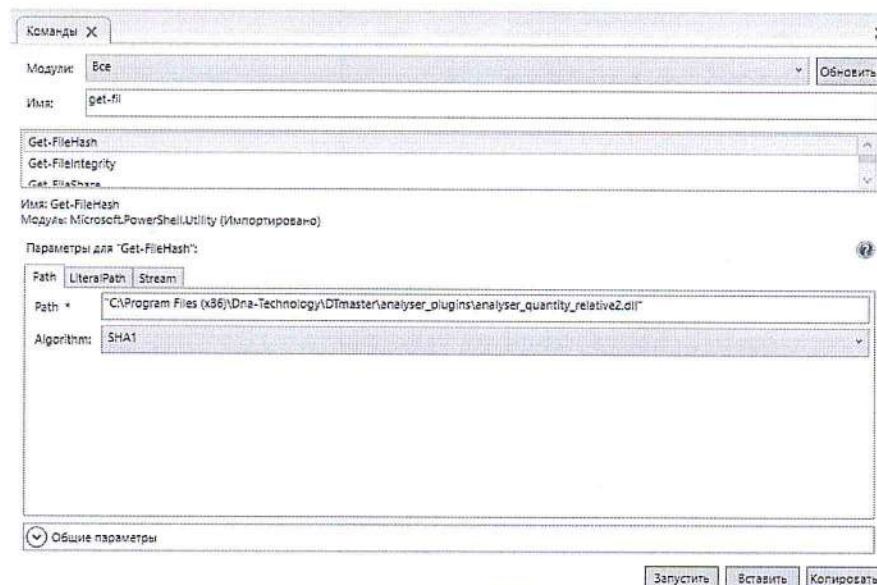


Рисунок 4 – Вычисление контрольной суммы для файла «analyser_quantity_relative2.dll»

В окне «Сценарий/Script» выводится цифровой идентификатор ПО (Hash) – рисунок 5. Цифровой идентификатор ПО должен соответствовать приведенному в таблице 4.

```
PS U:\> Get-FileHash -Path "C:\Program Files (x86)\Dna-Techn

Algorithm      Hash
-----
SHA1           C5AC965A0D42EB28E9DF4C8AC7032E3617697E85
```

Рисунок 5 – Результат вычисления контрольной суммы метрологически значимого файла «analyser_quantity_relative2.dll»

Для проверки контрольной суммы файла «analyser_quantity_relative3.dll» запустить интегрированную среду сценариев Windows PowerShell ISE (Пуск/Windows PowerShell ISE), во вкладке «Команды/Commands» выбрать команду «Get-FileHash», в параметрах для «Get-FileHash» в строке «Path*» задать путь к файлу, **заключенный в двойные кавычки раскладки клавиатуры ENG:** «C:\Program Files (x86)\Dna-Technology\DTmaster\analyser_plugins\analyser_quantity_relative3.dll», в строке «Algorithm» выбрать алгоритм вычисления «SHA1». Нажать кнопку «Запустить/Run» – Рисунок 6.

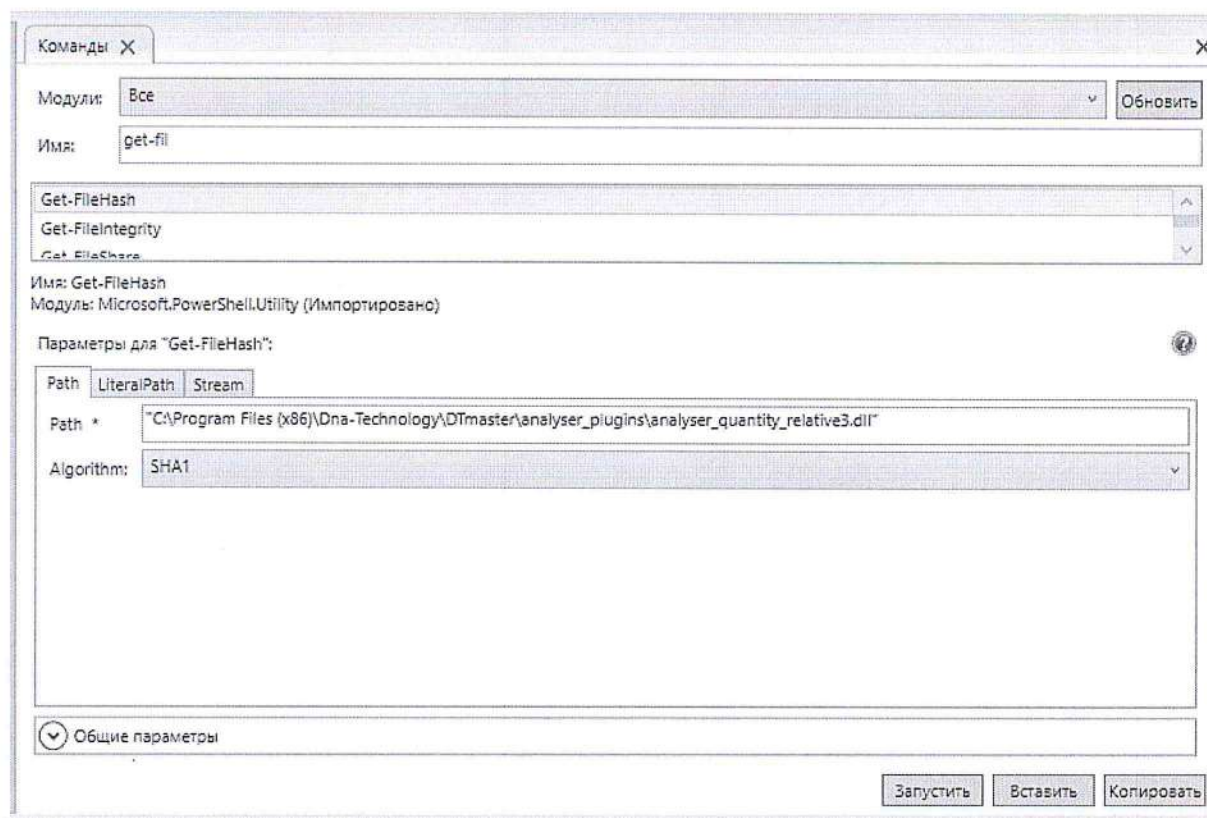


Рисунок 6 – Вычисление контрольной суммы для «analyser_quantity_relative3.dll»

```
PS U:\> Get-FileHash -Path "C:\Program Files (x86)\Dna-Technology\
Algorithm      Hash
-----
SHA1           4A915564077E45756475BB24124845F0F3D77409
```

Рисунок 7 – Результат вычисления контрольной суммы метрологически значимого файла «analyser_quantity_relative3.dll»

Амплификаторы считаются прошедшими проверку ПО, если результаты проверки соответствуют приведенным в таблице 4.

Таблица 4

Идентификационные данные (признаки)	Значение
Наименование программного обеспечения	ДТмастер
Идентификационное наименование ПО	ДТмастер
Номер версии (идентификационный номер) ПО, не ниже	1.2.2.34
Цифровой идентификатор ПО для analyser_quantity_relative2.dll	c5ac965a0d42eb28e9df4c8ac7032e3617697e85
Цифровой идентификатор ПО для analyser_quantity_relative3.dll	4a915564077e45756475bb24124845f0f3d77409
Алгоритм вычисления цифрового идентификатора ПО	SHA1

10 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК И ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ

10.1 Определение метрологических характеристик с помощью ГСО 9866-2011 стандартный образец состава ДНК сои (КОМПЛЕКТ ГМ-СОЯ-ВНИИМ).

10.1.1. Подготовить управляющее ПО на рабочем ПК к проведению ПЦР согласно Приложению А.

10.1.2. Подготовить стандартные образцы и реагенты и провести ПЦР согласно Приложению Б. Получить значения концентрации для образцов, представленных в Таблице 5. Интерпретация полученных результатов также представлена в Приложении Б.

Таблица 5

Исследуемый образец	Количество пробирок
ГМ-СОЯ-ВНИИМ-5, разбавленный в три раза	5
«К-» - отрицательный контрольный образец (ОКО) из состава набора реагентов «Соя/GTS 40-3-2 количество»	1

10.1.3. Определение предела детектирования и относительного СКО результатов измерений массовой доли ДНК.

Предел детектирования определяется для стандартного образца ГМ-СОЯ-ВНИИМ-5, по формуле (1).

$$C = P_{\Pi} K, \quad (1)$$

где C – предел детектирования – полученное значение массовой концентрации ДНК генетически модифицированной сои, г/мкл;

P_{Π} – значение массовой доли измеренного значения ДНК генетически модифицированной сои линии 40-3-2 в ДНК натуральной сои, г/кг;

K - коэффициент пересчета массовой доли в массовую концентрацию для ГСО 9866-2011, $K = 0,33 \cdot 10^{-10}$ г/мкл (п.3.3 РЭ);

Относительное СКО результатов измерений вычисляется по формуле (2):

$$\sigma = \frac{100}{\bar{X}} \sqrt{\frac{\sum_i (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}, \quad (2)$$

где X_i – i -ое значение результата измерений;

n – число измерений;

$\bar{X}$ – среднее арифметическое значений массовой доли ДНК генетически модифицированной сои, полученных в ходе измерений стандартного образца ГМ-СОЯ-ВНИИМ-5, разведенного в три раза.

10.1.4 Амплификаторы считаются прошедшими операцию поверки, если выполняются условия, изложенные в данном пункте:

- предел детектирования по СО состава ДНК сои не превышает $1 \cdot 10^{-8}$ г/мкл.
- относительное СКО результатов измерений массовой доли ДНК не превышает 20 %.

10.2 Определение метрологических характеристик с помощью ГСО 12688-2024 состава геномной ДНК человека E701.

10.2.1. Подготовить управляющее ПО на рабочем ПК к проведению ПЦР согласно Приложению В.

10.2.2. Подготовить стандартные образцы и реагенты и провести ПЦР согласно Приложению Г. Получить значения концентрации для образцов, представленных в Таблице 6. Интерпретация полученных результатов также представлена в Приложении Г.

Таблица 6

Исследуемый образец	Количество пробирок
ГСО 12688-2024 состава геномной ДНК человека E701, разведённый в 100 раз (3).	4
ГСО 12688-2024 состава геномной ДНК человека E701, разведённый в 10000 раз (4).	4
«К-» – отрицательный контрольный образец (ОКО)	1
«К+» – положительный контрольный образец из состава набора реагентов KBM	1

10.2.3. Определение предела детектирования и относительного СКО результатов измерений массовой концентрации ДНК.

Предел детектирования определяется для стандартного образца ГСО 12688-2024 состава геномной ДНК человека E701, разведённого в десять раз, автоматически вычисляемого ПО ДТмастер на основании калибровочной кривой.

Относительное СКО результатов измерений вычисляется по формуле (3):

$$\sigma = \frac{100}{\bar{X}} \sqrt{\frac{\sum_i (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}, \quad (3)$$

где X_i – i -ое значение результата измерений;

n – число измерений;

$\bar{X}$ – среднее арифметическое значений массовой концентрации геномной ДНК человека E701, разведённой в 10 раз (1).

10.2.4 Амплификаторы считаются прошедшими операцию поверки, если выполняются следующие условия:

- предел детектирования по СО состава геномной ДНК человека не превышает $1 \cdot 10^{-9}$ г/мкл.;
- относительное СКО результатов измерений массовой концентрации ДНК не превышает 20 %.

11 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

11.1 Результаты поверки заносят в протокол произвольной формы.

11.2 Сведения о результатах поверки, в том числе об объеме проведенной поверки, оформляют и передают в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений. При положительных результатах поверки оформляют свидетельство о поверке в соответствии с действующим законодательством в области обеспечения единства измерений по письменному заявлению владельца или лица, представившего средство измерений на поверку.

11.3 На амплификатор, не удовлетворяющий требованиям настоящей методики поверки, в соответствии с действующим законодательством в области обеспечения единства измерений оформляют извещение о непригодности с указанием причин по письменному заявлению владельца или лица, представившего средство измерений на поверку.

11.4 Знак поверки наносится на свидетельство о поверке (при его оформлении).

Начальник лаборатории



Е.В. Кулябина

**Подготовка управляющего программного обеспечения
амплификаторов на рабочем ПК к проведению ПЦР при поверке с использованием ГСО
9866-2011 стандартный образец состава ДНК сои (КОМПЛЕКТ ГМ-СОЯ-ВНИИМ)**

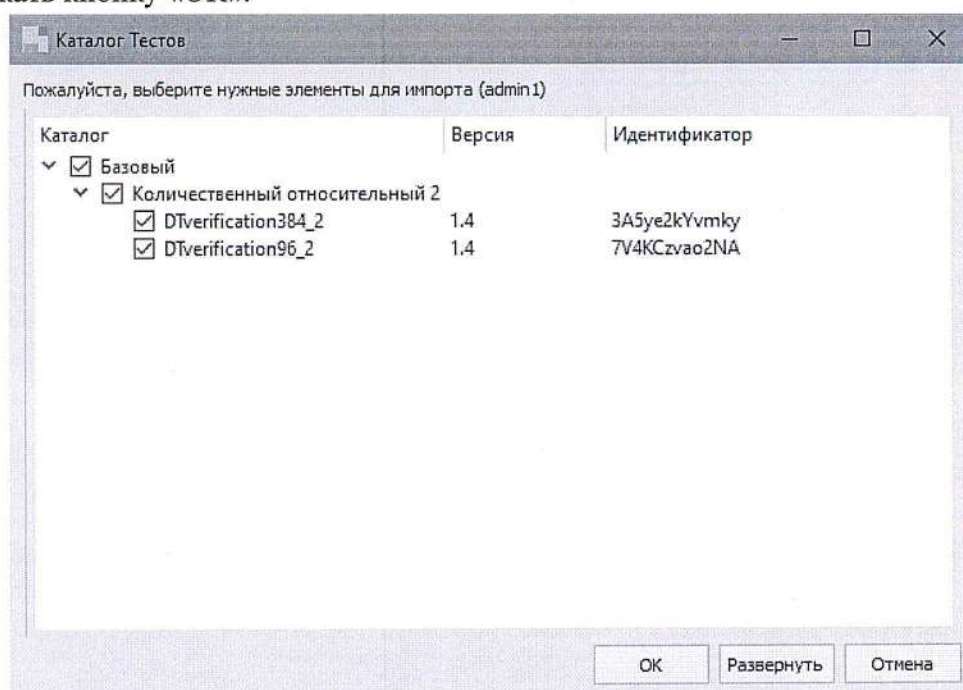
А.1 Установка ПО, дистрибутива с модулем анализа и тестами, а также шаблонов (производится, если управляющий компьютер ранее не использовался для поверки приборов).

А.1.1 Установить на управляющем ПК/ноутбуке ПО ДТмастер. Для установки необходимы права администратора.

А.1.2 Установить дистрибутив с модулем анализа и тестами для поверки 96- и 384-луночных приборов «DTmaster_QuantityRelative2_1.3.0.2_03022026». Для установки дистрибутива необходимо подтвердить авторизацию оператора «admin1» (пароль по умолчанию «123»).



При установке дистрибутива необходимо отметить галочками чек-бокс с типом анализа и тестами. Нажать кнопку «ОК».



А.1.3. Скопировать в любую удобную директорию шаблоны протоколов «DT-PII_verification_plate96» для поверки 96-луночных приборов и/или «DT-PII_verification_plate384» для поверки 384-луночных приборов.

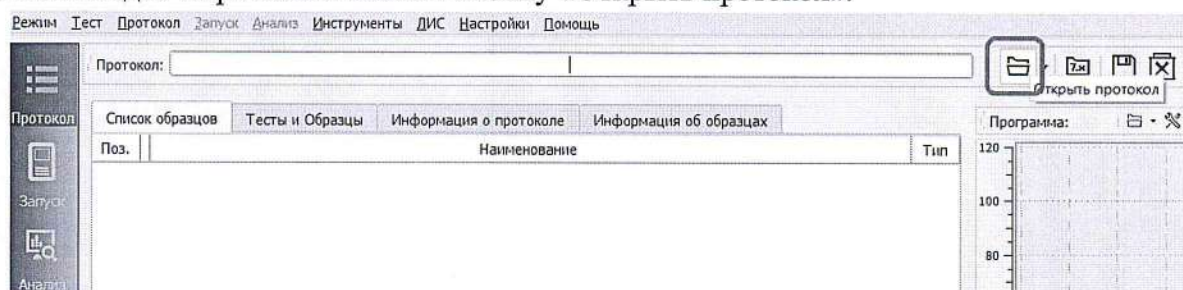
А.2 Настройка ПО непосредственно при проведении поверки

А.2.1 Запустить ПО ДТмастер.

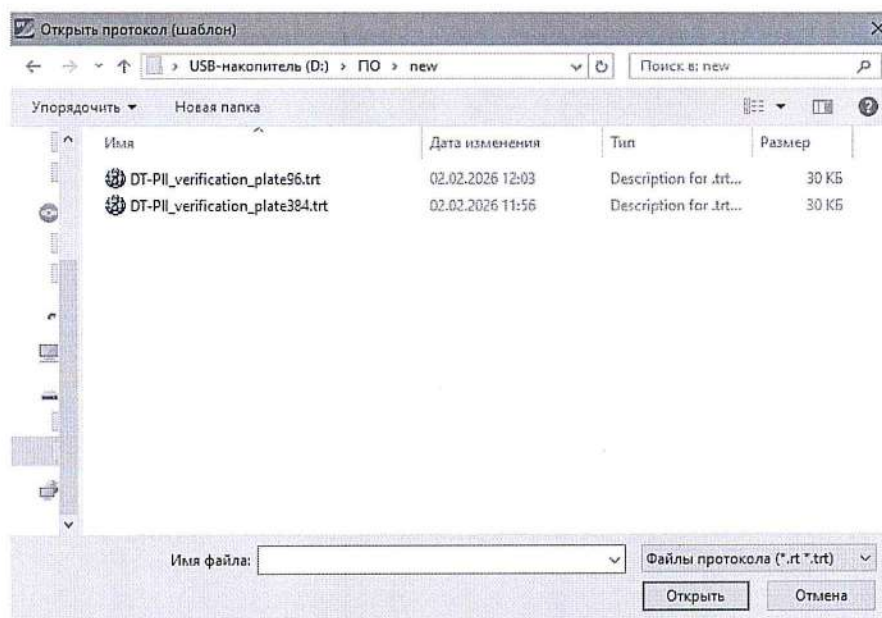
А.2.2 Выбрать оператора «admin1» (пароль по умолчанию «123»).



А.2.3 На вкладке «Протокол» нажать кнопку «Открыть протокол».

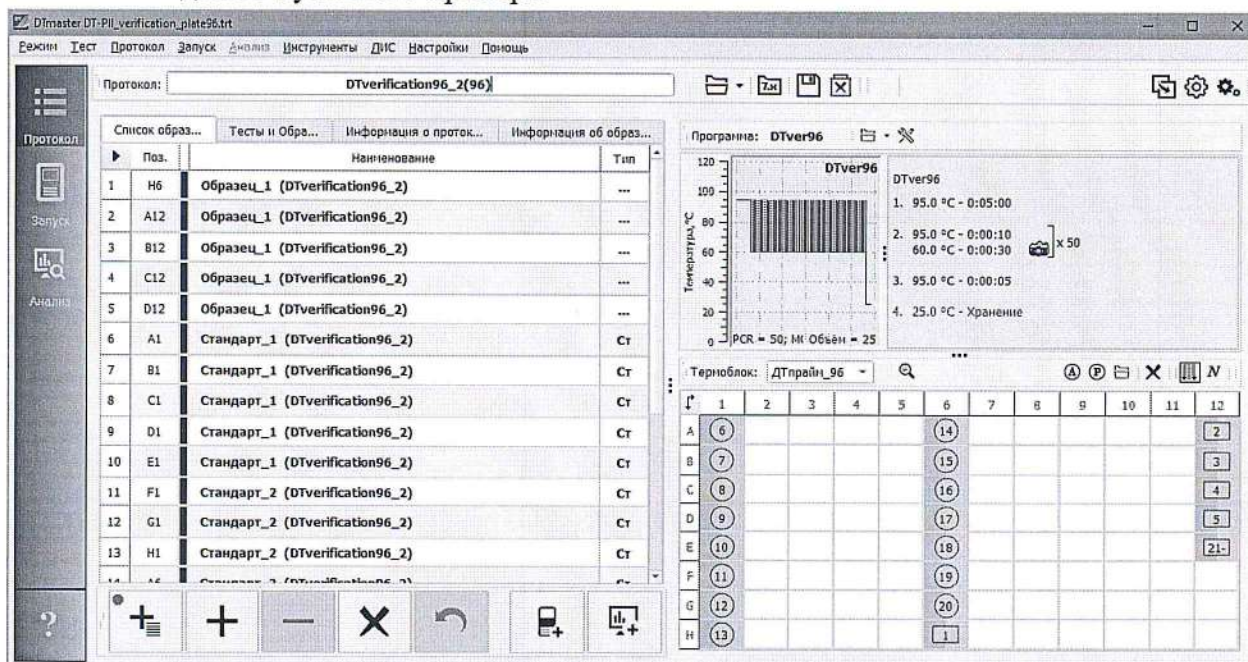


А.2.4 Выбрать в открывшемся окне ранее сохраненный шаблон в зависимости от типа поверяемого прибора: «DT-PII_verification_plate96.trt» для поверки 96-луночных приборов и/или «DT-PII_verification_plate384.trt» для поверки 384-луночных приборов. Нажать кнопку «Открыть».

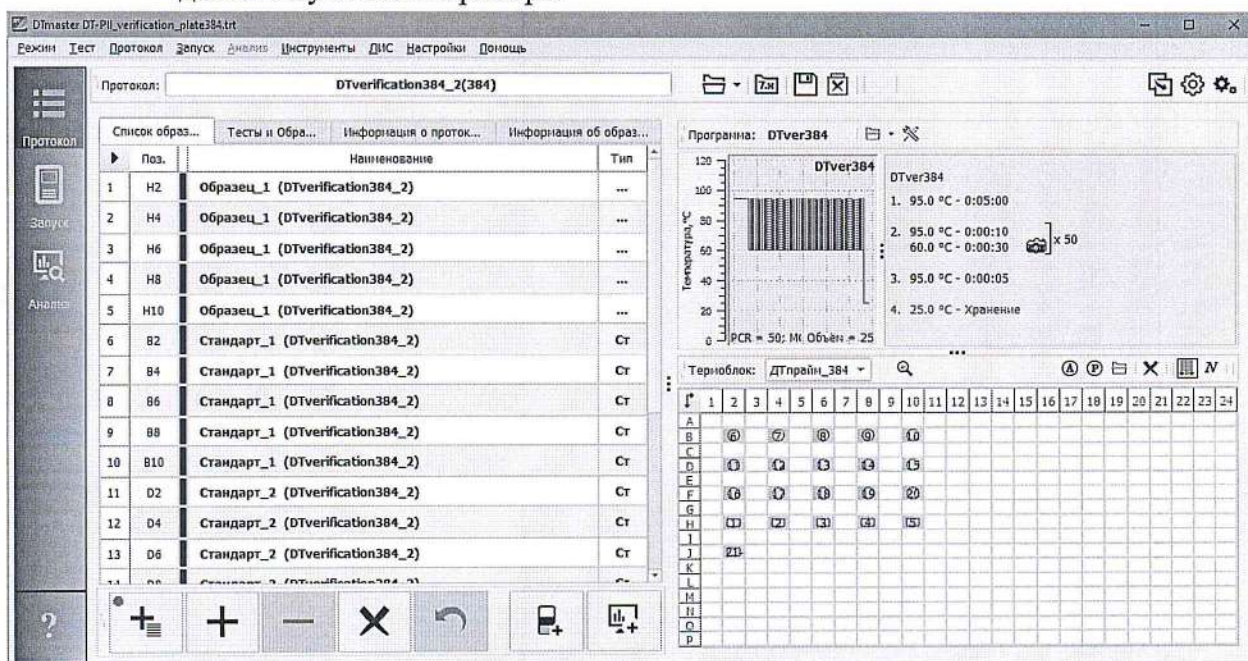


Произойдет автоматическое заполнение всех необходимых данных протокола, а также будет сформирована схема дозирования (расположения пробирок):

— для 96-луночного прибора:



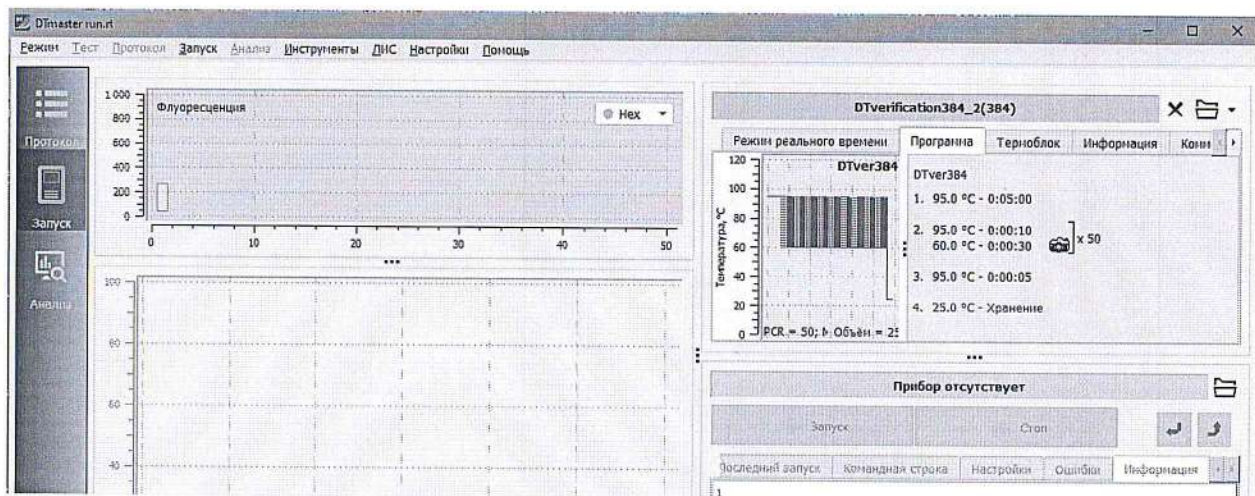
— для 384-луночного прибора:



А.2.5 Далее необходимо нажать кнопку «Загрузить в окно запуска»



, чтобы перейти в режим работы с прибором.



Подготовка стандартных образцов и реагентов, проведение ПЦР при поверке с использованием ГСО 9866-2011 стандартный образец состава ДНК сои (КОМПЛЕКТ ГМ-СОЯ-ВНИИМ)

Б.1 Оборудование, материалы и реагенты

Оборудование:

- ПЦР-бокс («Бокс лабораторный с УФ лампой для проведения полимеразной цепной реакции БЛ-ПЦР», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия);
- дозаторы пипеточные Eppendorf Research Plus одноканальные с переменным объемом дозирования, рег. № 55543-13, 0,5-10 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл, или аналогичные;
- микроцентрифуга-вортекс, встряхиватель лабораторный ДТспин ООО «НПО ДНК-Технология», Россия;
- штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия;
- штатив универсальный «Рабочее место для реагентов», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия;
- устройство для запечатывания микропланшетов ДТпак, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия.

Материалы:

- пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз, «SSIbio», США, или аналогичные;
- пробирки микроцентрифужные объемом 0,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз, «Biologix», Китай, или аналогичные;
- пробирки стрипованные объемом 0,2 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз, и крышки к ним, «Axygen», США, или аналогичные;
- одноразовые наконечники для дозаторов, свободные от ДНКаз и РНКаз, объемом 10 мкл с фильтром, 200 мкл, «Vertex», США, и 1000 мкл, «Sartorius», Германия, или аналогичные;
- микропланшет ПЦР (384 лунки), «4tiude», Великобритания, или аналогичный;
- полимерная термопленка для запаивания микропланшета, «4tiude», Великобритания, или аналогичная.

Реагенты:

- набор реагентов для идентификации и количественного анализа линий (трансформационных событий) генетически модифицированной (ГМ) сои в продуктах питания, пищевом сырье, семенах и кормах для животных методом полимеразной цепной реакции в реальном времени серия «Соя количество»: «Соя GTS 40-3-2 количество», ООО «НПФ СИНТОЛ», Россия;
- комплект стандартных образцов состава ДНК сои (КОМПЛЕКТ ДНК СОЯ ВНИИМ), ГСО 9866-2011 с аттестованными значениями массовой доли ДНК генетически модифицированной сои линии 40-3-2 в ДНК натуральной сои, ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева», Россия.

Б.2 Подготовка стандартных образцов и реагентов, проведение ПЦР

Б.2.1 Разморозить при комнатной температуре следующие компоненты набора реагентов для идентификации и количественного анализа линий (трансформационных событий) генетически модифицированной (ГМ) сои серии «Соя количество»: «Соя GTS 40-3-2 количество», производства ООО «НПФ СИНТОЛ»:

- реакционная смесь «Соя Линия»;
- Syn Taq ДНК-полимераза T+/ГМ+;
- ОКО.

Б.2.2 Разморозить при комнатной температуре набор стандартных образцов ДНК сои (КОМПЛЕКТ ГМ-СОЯ-ВНИИМ).

Б.2.3 После размораживания указанные выше компоненты набора реагентов «Соя GTS 40-3-2 количество» и стандартные образцы необходимо встряхнуть на вортексе, а затем сбросить капли со стенок кратковременным центрифугированием на микроцентрифуге-вортексе.

Б.2.4 Подготовить стандартный образец ГМ-СОЯ_ВНИИМ-5 и смесь реагентов из набора реагентов «Соя GTS 40-3-2 количество».

Б.2.5 Подготовка стандартного образца ГМ-СОЯ_ВНИИМ-5

Необходимо разбавить стандартный образец ГМ-СОЯ_ВНИИМ-5 с помощью ОКО из состава набора реагентов «Соя GTS 40-3-2 количество» в соотношении 1:2 (в три раза).

Для проверки одного или двух приборов 96 и/или 384 формата рекомендуется смешать 30 мкл стандартного образца ГМ-СОЯ_ВНИИМ-5 с 60 мкл ОКО, тщательно встряхнуть полученную смесь на вортексе и сбросить капли со стенок кратковременным центрифугированием на микроцентрифуге-вортексе.

Б.2.6 Подготовка смеси реагентов из набора реагентов «Соя GTS 40-3-2 количество» («Соя линия+фермент»)

В отдельной чистой пробирке объемом 1,5 мл необходимо смешать 893 мкл реакционной смеси «Соя Линия» и 23,5 мкл Syn Taq ДНК-полимераза T+/ГМ+.

Тщательно перемешать пробирку с полученной смесью «Соя линия+фермент» на вортексе, сбросить капли со стенок кратковременным центрифугированием на микроцентрифуге-вортексе.

Б.2.7 Подготовка реакционной смеси для проведения ПЦР

Промаркировать 5 чистых пробирок объемом от 0,5 до 1,5 мл:

- 1) в первую пробирку внести 210 мкл приготовленной смеси «Соя линия+фермент» и 66 мкл стандартного образца сои ГМ-СОЯ_ВНИИМ-0,1;
- 2) во вторую пробирку внести 210 мкл приготовленной смеси «Соя линия+фермент» и 66 мкл стандартного образца сои ГМ-СОЯ_ВНИИМ-1;
- 3) в третью пробирку внести 210 мкл приготовленной смеси «Соя линия+фермент» и 66 мкл стандартного образца сои ГМ-СОЯ_ВНИИМ-5;
- 4) в четвертую пробирку внести 210 мкл приготовленной смеси «Соя линия+фермент» и 66 мкл образца сои ГМ-СОЯ_ВНИИМ-5, разведённого в 3 раза;
- 5) в пятую пробирку внести 57 мкл смеси «Соя линия+фермент» и фермента и 18 мкл ОКО.

Тщательно встряхнуть содержимое пяти пробирок на вортексе и сбросить капли со стенок кратковременным центрифугированием на микроцентрифуге-вортексе.

Полученных реакционных смесей для проведения ПЦР достаточно для проверки одного или двух любых приборов ДТпрайм II.

Б.2.8 Поверка 96-луночного прибора

Б.2.8.1 При поверке 96-луночного прибора промаркировать пустые пробирки объемом 0,2 мл, либо стрипованные пробирки объемом 0,2 мл в соответствии со схемой, представленной ниже.

Б.2.8.2 В промаркированные пробирки внести по 25 мкл реакционных смесей для проведения ПЦР.

Схема для 96-луночного прибора:

Г	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	6					14						2
B	7					15						3
C	8					16						4
D	9					17						5
E	10					18						21-
F	11					19						
G	12					20						
H	13					1						

где:

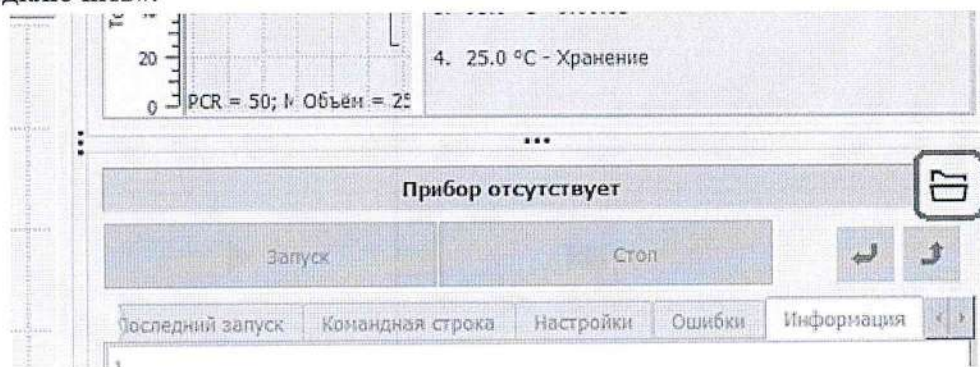
- пробирки 6–10 – стандартный образец ГМ-СОЯ_ВНИИМ-0,1;
- пробирки 11–15 – стандартный образец ГМ-СОЯ_ВНИИМ-1;
- пробирки 16–20 – стандартный образец ГМ-СОЯ_ВНИИМ-5;
- пробирки 1–5 – разбавленный стандартный образец ГМ-СОЯ_ВНИИМ-5;
- пробирка 21 – К- (отрицательный контрольный образец).

Б.2.8.3 Плотно закрыть крышки пробирок/стрипов, сбросить капли со стенок кратковременным центрифугированием на микроцентрифуге-вортексе.

Б.2.8.4 Установить пробирки/стрипы в термоблок амплификатора таким образом, чтобы образцы были расположены в соответствии со схемой, представленной выше.

Б.2.8.5 В режиме «Запуск» ранее запущенного и подготовленного к проведению ПЦР ПО

ДТмастер нажать кнопку выбора прибора , после чего выбрать прибор из списка и нажать кнопку «Подключить».



Б.2.8.6 Нажать кнопку «Запуск». Прибор начнет выполнять заданную программу амплификации.

Б.2.9 Поверка 384-луночного прибора

Б.2.9.1 Подготовить чистый 384-луночный планшет.

Б.2.9.2 В лунки 384-луночного планшета в соответствии со схемой, представленной ниже, внести по 18 мкл реакционной смеси для проведения ПЦР.

Схема для 384-луночного прибора:

Г	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
A																								
B		6		7		8		9		10														
C																								
D		11		12		13		14		15														
E																								
F		16		17		18		19		20														
G																								
H		1		2		3		4		5														
I																								
J		21																						
K																								
L																								
M																								
N																								
O																								
P																								

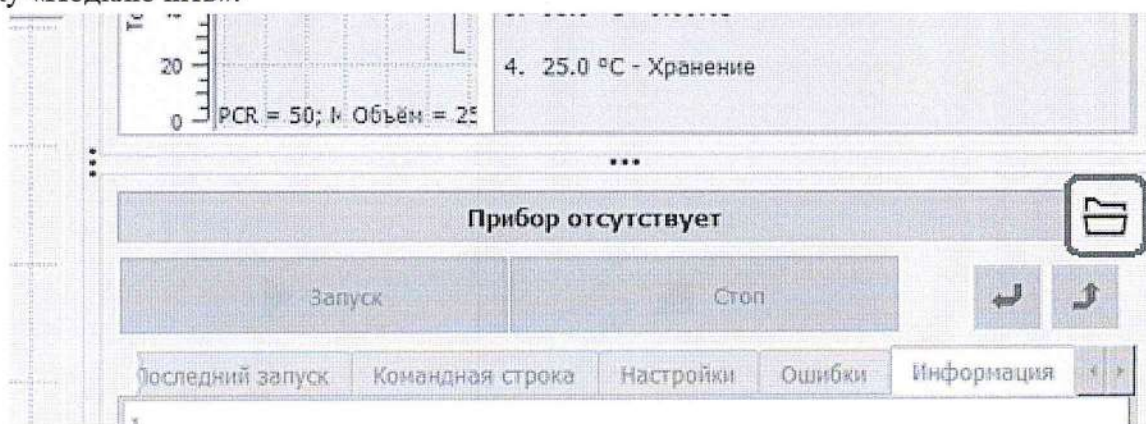
где:

- лунки 6–10 – стандартный образец ГМ-СОЯ_ВНИИМ-0,1;
- лунки 11–15 – стандартный образец ГМ-СОЯ_ВНИИМ-1;
- лунки 16–20 – стандартный образец ГМ-СОЯ_ВНИИМ-5;
- лунки 1–5 – разбавленный стандартный образец ГМ-СОЯ_ВНИИМ-5;
- лунка 21 – К- (отрицательный контрольный образец).

Б.2.9.3 Запаять 384-луночный планшет с помощью специальной ПЦР-пленки для запаивания и устройства ДТ-пак. Далее планшет необходимо кратковременно центрифугировать.

Б.2.9.4 Установить 384-луночный планшет в термоблок амплификатора таким образом, чтобы образцы были расположены в соответствии со схемой, представленной выше.

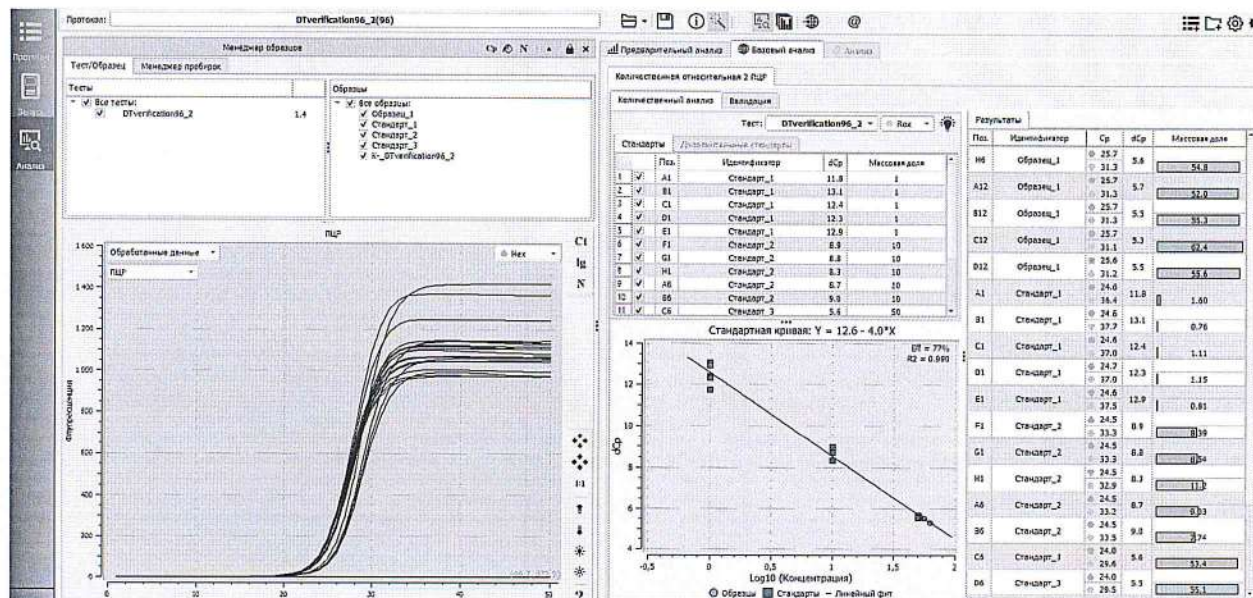
Б.2.9.5 В режиме «Запуск» ранее запущенного и подготовленного к проведению ПЦР ПО ДТмастер нажать кнопку выбора прибора , после чего выбрать прибор из списка и нажать кнопку «Подключить».



Нажать кнопку «Запуск». Прибор начнет выполнять заданную программу амплификации.

Б.3 Интерпретация полученных результатов

Б.3.1 После завершения программы амплификации прибор автоматически перейдет в режим «Анализ»:



Б.3.2 В таблицу во вкладке «Стандарты» необходимо ввести точное значение содержания модифицированной сои в соответствии с паспортом ГСО:

Стандарты		Дополнительные стандарты			
		Поз.	Идентификатор	dCp	Массовая доля
3	☒	C1	Стандарт_1	12.4	1.05
4	☒	D1	Стандарт_1	12.3	1.05
5	☒	E1	Стандарт_1	12.9	1.05
6	☒	F1	Стандарт_2	8.9	10.90
7	☒	G1	Стандарт_2	8.8	10.90
8	☒	H1	Стандарт_2	8.3	10.90
9	☒	A6	Стандарт_2	8.7	10.90
10	☒	B6	Стандарт_2	9.0	10.90
11	☒	C6	Стандарт_3	5.6	51.40
12	☒	D6	Стандарт_3	5.5	51.40
13	☒	E6	Стандарт_3	5.7	51.40

Примечание-Знак разделения целой и дробной частей – точка.

Б.3.3 Произойдет автоматический расчёт стандартной кривой, а также статистический анализ результатов. Итоговые расчёты представлены на вкладке «Валидация»:

Количественный анализ Валидация

1. Относительная ошибка: $\delta = 4\%$
2. Среднеквадратичное отклонение: $\sigma = 2\%$
3. Коэффициент детерминации: $R^2 = 0.987$
4. Эффективность ПЦР: $Eff = 84\%$

Б.3.4. При необходимости можно сформировать готовый бланк с результатами поверки, нажав на кнопку «Бланк ответа» .

Б.3.5. Допускается исключать отдельные стандарты или образцы в случае явных «выбросов».

Б.3.6 Для приведения результата к единицам массовой концентрации (г/мкл), необходимо подставить полученное значение в формулу (Б.1):

$$C = R_{\Pi} \cdot K \quad (Б.1)$$

где С - предел детектирования – полученное значение массовой концентрации ДНК генетически модифицированной сои, г/мкл;

R_{Π} – значение массовой доли ГСО ДНК генетически модифицированной сои линии 40-3-2 в ДНК натуральной сои в образце, г/кг;

К- коэффициент пересчета массовой доли в массовую концентрацию,

$K = 0,33 \cdot 10^{-10}$ г/мкл.

**Подготовка управляющего программного обеспечения
амплификаторов на рабочем ПК к проведению ПЦР при поверке с использованием
ГСО 12688-2024 состава геномной ДНК человека E701 (ruGIAB E701)**

В.1 Установка ПО, дистрибутива с модулем анализа и тестами, а также шаблонов (производится, если управляющий компьютер ранее не использовался для поверки приборов).

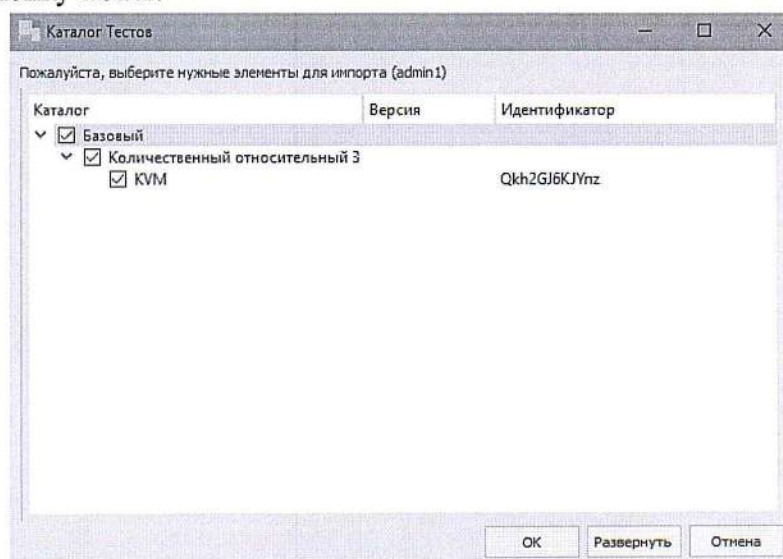
В.1.1 Установить на управляющем ПК/ноутбуке ПО ДТмастер. Для установки необходимы права администратора.

В.1.2 Установить дистрибутив с модулем анализа и тестами для поверки 96-луночных приборов «DTmaster_QR3_1.3.0.6_01042026.exe».

Для установки дистрибутива необходимо подтвердить авторизацию оператора «admin1» (пароль по умолчанию «123»).



При установке дистрибутива необходимо отметить галочками чек-бокс с типом анализа и тестами. Нажать кнопку «ОК».



В.1.3 Скопировать в любую удобную директорию шаблон протокола «DT-ПЦ_verification_plate_KVM(96).trt».

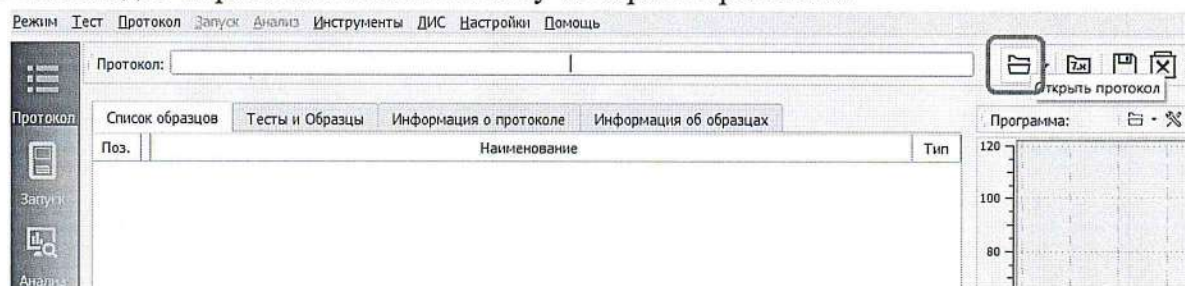
В.2 Настройка ПО непосредственно при проведении поверки

В.2.1 Запустить ПО ДТмастер.

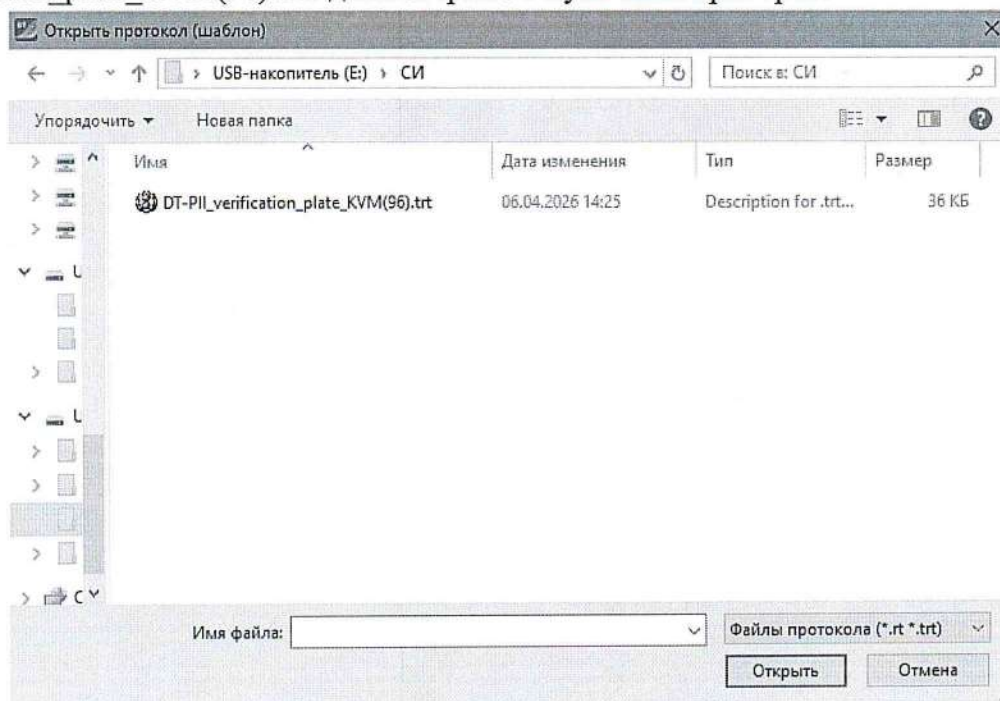
В.2.2 Выбрать оператора «admin1» (пароль по умолчанию «123»).



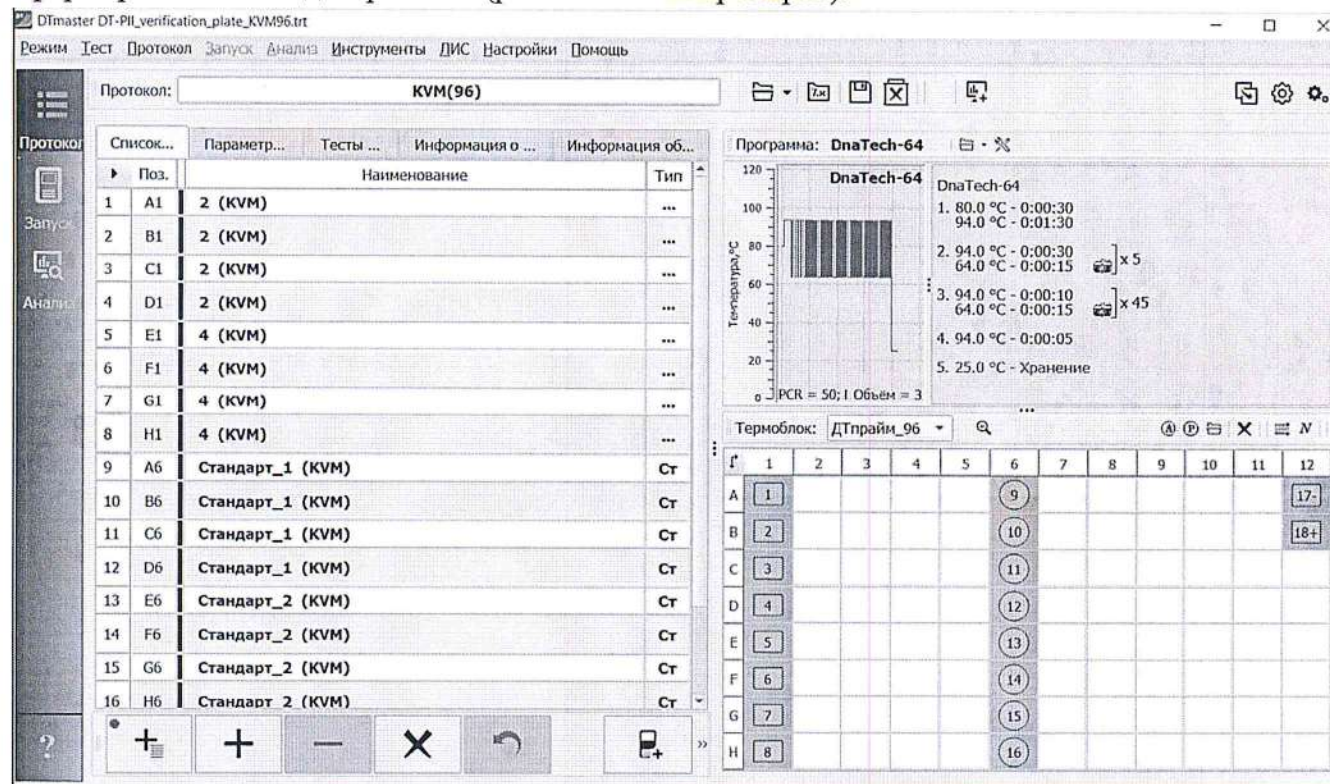
В.2.3 На вкладке «Протокол» нажать кнопку «Открыть протокол».



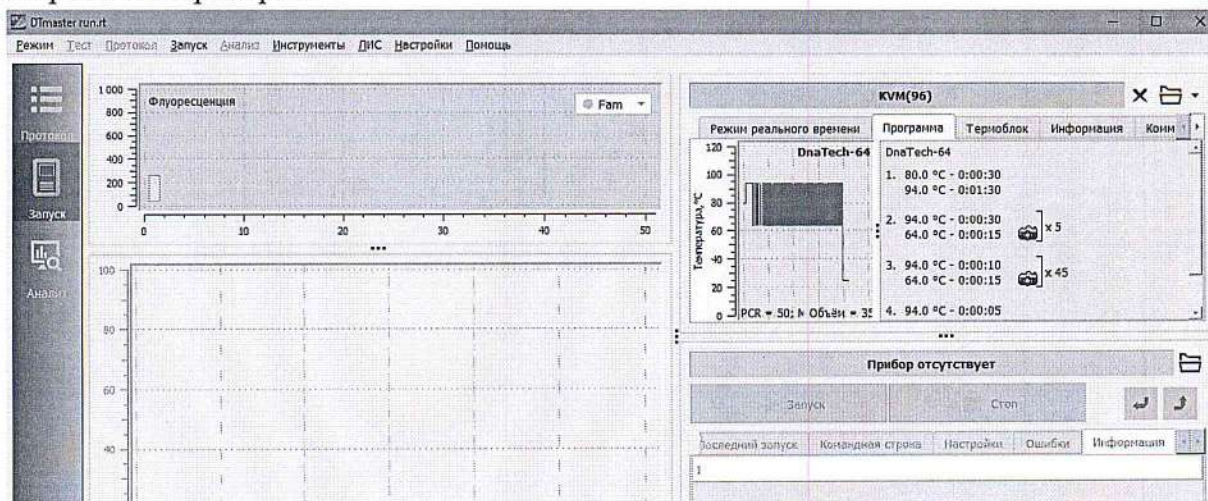
В.2.4 Выбрать в открывшемся окне ранее сохраненный шаблон «DT-PII_verification_plate_KVM(96).trt» для поверки 96-луночных приборов.



Произойдет автоматическое заполнение всех необходимых данных протокола, а также будет сформирована схема дозирования (расположения пробирок):



В.2.5 Далее необходимо нажать кнопку «Загрузить в окно запуска», чтобы перейти в режим работы с прибором.



**Подготовка стандартных образцов и реагентов, проведение ПЦР
при проверке с использованием ГСО 12688-2024 состава геномной ДНК человека E701
(ruGIAB E701)**

Г.1 Оборудование, материалы и реагенты

Оборудование:

- ПЦР-бокс («Бокс лабораторный с УФ лампой для проведения полимеразной цепной реакции БЛ-ПЦР», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия);
- дозаторы пипеточные Eppendorf Research Plus одноканальные с переменным объемом дозирования, рег. № 55543-13, 0,5-10 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл, или аналогичные;
- микроцентрифуга-вортекс, встряхиватель лабораторный ДТспин ООО «НПО ДНК-Технология», Россия;
- штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия;
- штатив универсальный «Рабочее место для реагентов», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия;

Материалы:

- пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз, «SSIbio», США, или аналогичные, или пробирки микроцентрифужные объемом 0,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз, «Biologix», Китай, или аналогичные;
- одноразовые наконечники для дозаторов, свободные от ДНКаз и РНКаз, объемом 10 мкл с фильтром, 200 мкл, «Vertex», США, и 1000 мкл, «Sartorius», Германия, или аналогичные.

Реагенты:

- ГСО 12688-2024 состава геномной ДНК человека E701 (ruGIAB E701);
- комплект реагентов для ПЦР-амплификации геномной ДНК человека в режиме реального времени (КВМ), в варианте исполнения фасовка S, пробирки, или фасовка S, стрипы, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия;
- деионизированная вода (MQ H2O) (при её отсутствии – физиологический раствор стерильный или буфер для растворения из состава любого набора реагентов для выделения НК производства компании «ДНК-Технология»).

Г.2 Подготовка и проведение ПЦР с использованием ГСО 12688-2024 состава геномной ДНК человека E701 (ruGIAB E701), 96 формат

Г.2.1 Разморозить при комнатной температуре набор ГСО 12688-2024 состава геномной ДНК человека E701 (ruGIAB E701). После размораживания пробирки необходимо встряхнуть на микроцентрифуге-вортексе, а затем сбросить капли со стенок кратковременным центрифугированием на микроцентрифуге-вортексе.

Г.2.2 Подготовить раститровку стандартного образца:

Г.2.3 Подготовить 4 чистых пробирки объемом от 0,5 до 1,5 мл. Промаркировать их следующим образом: «1», «2», «3», «4».

Г.2.4 В каждую промаркированную пробирку добавить по 90 мкл деионизированной воды (MQ H2O) (при её отсутствии – физиологического раствора стерильного или буфера для растворения из состава любого набора реагентов для выделения НК производства компании «ДНК-Технология»).

Г.2.5 Добавить в пробирку «1» 10 мкл образца ruGIAB E701, тщательно перемешать пипетированием. Закрыть крышку пробирки, встряхнуть пробирку на микроцентрифуге-вортексе, затем сбросить капли кратковременным центрифугированием.

Г.2.6 Добавить в пробирку «2» 10 мкл образца из пробирки «1», тщательно перемешать пипетированием. Закрыть крышку пробирки, встряхнуть пробирку на микроцентрифуге-вортексе, затем сбросить капли кратковременным центрифугированием.

Г.2.7 Добавить в пробирку «3» 10 мкл образца из пробирки «2», тщательно перемешать пипетированием. Закрыть крышку пробирки, встряхнуть пробирку на микроцентрифуге-вортексе, затем сбросить капли кратковременным центрифугированием.

Г.2.8 Добавить в пробирку «4» 10 мкл образца из пробирки «3», тщательно перемешать пипетированием. Закрыть крышку пробирки, встряхнуть пробирку на микроцентрифуге-вортексе, затем сбросить капли кратковременным центрифугированием.

Г.3 Подготовка реагентов из состава набора реагентов KBM:

Перед началом работы пробирку с раствором Таq-полимеразы и пробирку с положительным контрольным образцом из состава набора реагентов KBM необходимо перемешать на микроцентрифуге-вортексе, затем сбросить капли кратковременным центрифугированием.

Г.4 Подготовка и проведение ПЦР

Г.4.1 Промаркировать пробирки объемом 0,2 мл (фасовка S, пробирки), либо стрипованные пробирки объемом 0,2 мл (фасовка S, стрипы) из состава набора реагентов KBM в соответствии со схемой, представленной ниже.

Г	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1					9						17-
B	2					10						18+
C	3					11						
D	4					12						
E	5					13						
F	6					14						
G	7					15						
H	8					16						

Г.4.2 В промаркированные пробирки внести по 10 мкл раствора Таq-полимеразы, не повреждая слой парафина.

Г.4.3 Внести в пробирки по 5 мкл образца в соответствии со схемой, представленной выше, где:

- пробирки 1–4 – образец из пробирки «2»;
- пробирки 5–8 – образец из пробирки «4»;
- пробирки 9–12 – стандарт-1 (образец из пробирки «1»);

- пробирки 13–16 – стандарт-2 (образец из пробирки «3»);
- пробирка 17 – К- (отрицательный контрольный образец);
- пробирка 18 – К+ (положительный контрольный образец).

В качестве отрицательного контрольного образца можно использовать деионизированную воду (MQ H2O) (при её отсутствии – физиологический раствор стерильный или буфер для растворения из состава любого набора реагентов для выделения НК производства компании «ДНК-Технология»).

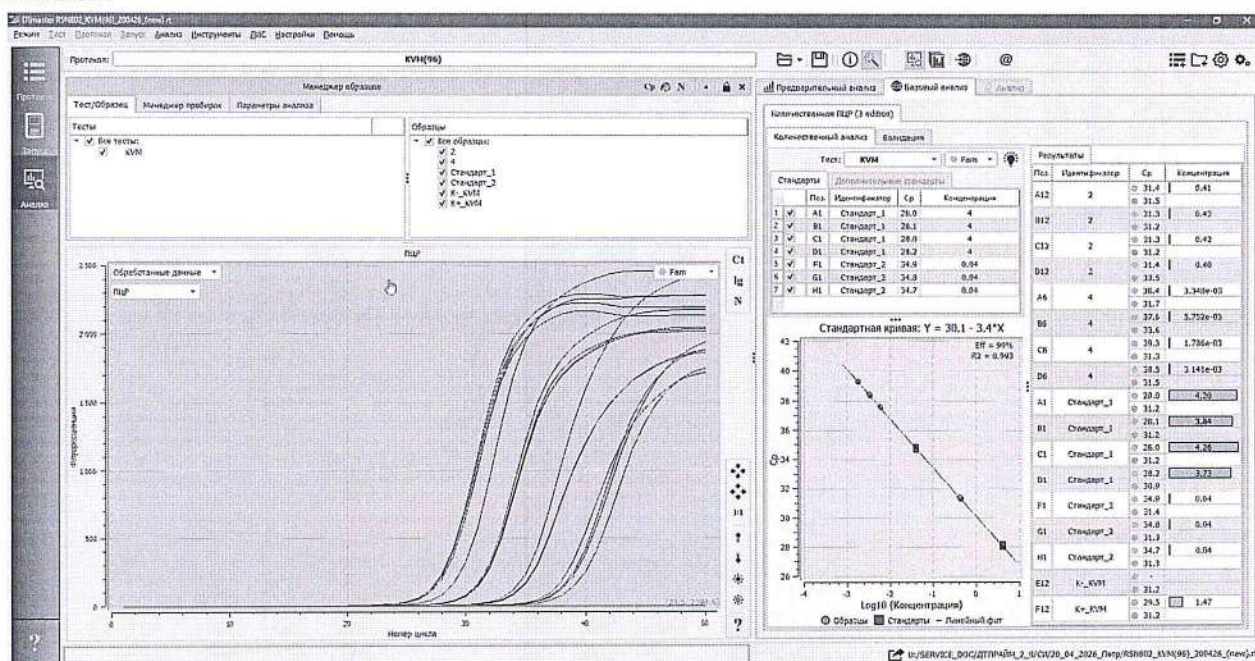
Г.4.4 Плотнo закрыть крышки пробирок/стрипов, сбросить капли со стенок кратковременным центрифугированием на микроцентрифуге-вортексе.

Г.4.5 Установить пробирки/стрипы в термоблок амплификатора таким образом, чтобы образцы были расположены согласно схеме, представленной выше.

Г.4.6 Нажать кнопку «Запуск». Прибор начнет выполнять заданную программу амплификации.

Г.5 Интерпретация полученных результатов

Г.5.1 После завершения программы амплификации прибор автоматически перейдет в режим «Анализ»:



Г.5.2 Произойдет автоматический расчёт стандартной кривой, а также статистический анализ результатов. Итоговые расчёты представлены на вкладке «Валидация»:

Количественный анализ

Валидация

1. Среднеквадратичное отклонение: $\sigma = 7\%$
2. Коэффициент детерминации: $R^2 = 0.999$
3. Эффективность ПЦР: $Eff = 98\%$
4. Предел детектирования: $DetLim = 2.07e-12$ г/мкл

Г.5.3 При необходимости можно сформировать готовый бланк с результатами поверки, нажав на

кнопку «Бланк ответа»

Г.5.4 Допускается исключать отдельные стандарты или образцы в случае явных «выбросов».