JJF

中华人民共和国国家计量技术规范

JJF 2055—2023

数字聚合酶链反应分析仪校准规范

Calibration Specification for Digital Polymerase Chain Reaction Analyzers

2023-06-30 发布　　2023-12-30 实施

国家市场监督管理总局 发布

数字聚合酶链反应分析仪校准规范

Calibration Specification for Digital Polymerase Chain Reaction Analyzers

JJF 2055—2023

归 口 单 位：全国生物计量技术委员会

主要起草单位：中国计量科学研究院

参加起草单位：南京市计量监督检测院

中国测试技术研究院

本规范委托全国生物计量技术委员会负责解释

本规范主要起草人：

董莲华（中国计量科学研究院）

王　晶（中国计量科学研究院）

高运华（中国计量科学研究院）

参加起草人：

王尚君（南京市计量监督检测院）

陈鸿飞（南京市计量监督检测院）

周李华（中国测试技术研究院）

目　　录

引言 ……（Ⅱ）
1　范围……（1）
2　引用文件……（1）
3　术语和计量单位……（1）
3.1　数字 PCR ……（1）
3.2　数字 PCR 仪 ……（1）
3.3　拷贝数……（1）
3.4　拷贝数浓度……（1）
4　概述……（2）
5　计量特性……（2）
6　校准条件……（3）
6.1　环境条件……（3）
6.2　测量标准及其他设备……（3）
7　校准项目和校准方法……（3）
7.1　校准条件……（3）
7.2　温度示值误差、温度均匀性校准……（3）
7.3　升降温速率校准……（5）
7.4　拷贝数浓度示值相对误差校准……（6）
7.5　拷贝数浓度重复性校准……（7）
7.6　荧光强度重复性……（8）
7.7　反应单元个数重复性……（8）
8　校准结果表达……（8）
8.1　校准结果处理……（8）
8.2　校准证书……（8）
8.3　校准结果的测量不确定度……（9）
9　复校时间间隔……（9）
附录 A　标准物质和荧光溶液配制及使用 ……（10）
附录 B　反应体系的配制 ……（11）
附录 C　校准原始记录参考格式 ……（12）
附录 D　校准证书（内页）参考格式 ……（14）
附录 E　拷贝数浓度示值相对误差的不确定度评定示例 ……（16）
附录 F　温度示值误差校准结果的不确定度评定示例 ……（19）

引　　言

JJF 1071《国家计量校准规范编写规则》、JJF 1001《通用计量术语及定义》和JJF 1059.1《测量不确定度评定与表示》共同构成支撑本规范制定工作的基础性系列规范。

校准方法及计量特性等主要参考了JJF 1527《聚合酶链反应分析仪校准规范》、YY/T 1173《聚合酶链反应分析仪》和ISO 20395：2019《生物技术—核酸目标序列定量方法性能评估要求—qPCR和dPCR》（Biotechnology—Requirements for evaluating the performance of quantification methods for nucleic acid target sequences—qPCR and dPCR）。

本规范为首次发布。

数字聚合酶链反应分析仪校准规范

1 范围

本规范适用于微滴式、芯片式和微孔式数字 PCR（Ploymerase Chain Reaction）仪计量性能的校准，对于其他类型的数字 PCR 仪，可参照本规范执行。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJF 1527 聚合酶链反应分析仪校准规范

YY/T 1173 聚合酶链反应分析仪

ISO 20395：2019 生物技术—核酸靶序列定量方法的性能评价要求—qPCR 法和 dPCR 法（Biotechnology—Requirements for evaluating the performance of quantification methods for nucleic acid target sequences—qPCR and dPCR）

凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本规范；凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本规范。

3 术语和计量单位

3.1 数字 PCR digital PCR，dPCR

将核酸模板分布在多个等体积的反应单元，每个反应单元中包含或不包含一个或多个拷贝的靶序列（核酸模板），对靶序列进行 PCR 扩增，并对特定的 PCR 产物进行检测，再根据阳性微滴的比例以及泊松分布原理，计算出靶序列的浓度或拷贝数。

注 1：假设在分割过程中，核酸靶序列是随机且独立地分布在各个反应单元中。

注 2：阳性分割和阴性分割的计数通常在热循环反应后对 PCR 产物的终点检测，也有一些 dPCR 平台可以对 PCR 产物进行实时 qPCR 监测。

[ISO 20395：2019，3.10]

3.2 数字 PCR 仪 digital PCR analyzer

基于 PCR 技术原理，模拟 DNA 或 RNA 复制过程，在核酸模板、引物、聚合酶等存在的条件下，将核酸模板分布在多个反应单元中，特异扩增已知序列，对扩增后的荧光信号进行检测分析的仪器设备。

3.3 拷贝数 copies number

包含特定核酸序列的分子数。

[ISO 20395：2019，3.6]

3.4 拷贝数浓度 copies number concentration [ISO 20395：2019，3.7]

单位体积中包含特定核酸序列的分子数。

注：以 copies/μL 为计量单位。