



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF ×××× - ××××

自动核酸合成仪性能测试技术规范

Technical Specification for Performance Test of
Automatic Nucleic Acid Synthesizer

(征求意见稿)

××××-××-×× 发布

×××× -××-×× 实施

国家市场监督管理总局发布

自动核酸合成仪
性能测试技术规范

Technical Specification for

Performance Test of Automatic Nucleic Acid Synthesizer

JJF ××××—××××

归口单位：

主要起草单位：

参加起草单位：

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：

参加起草人：

全国生物计量技术委员会

目录

引言	II
1 范围	3
2 引用文件	3
3 概述	3
4 计量特性	3
5 校准条件	4
5.1 环境条件	4
5.2 校准用试剂及设备	4
6 校准项目和校准方法	4
6.1 压力示值误差	4
6.2 体积示值误差	5
6.3 体积重复性	5
6.4 气密性测试	6
6.5 合成寡核苷酸相对分子质量相对误差	6
7 测试结果表达	7
8 复校时间间隔	7
附录 A 不同温度下乙腈的密度	8
附录 B 自动核酸合成仪校准记录参考格式	9
附录 C 校准证书内页推荐格式	11
附录 D 压力表示值误差校准结果的不确定度评定示例	13

引言

本规范起草中参考了 JJF 1001-2011《通用计量术语及定义》和 JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》等文件，按照 JJF 1071-2010《国家计量校准规范编写规则》的要求编制。

本规范为首次发布。

全国生物计量技术委员会

自动核酸合成仪性能测试技术规范

1 范围

本规范适用于基于固相亚磷酰胺法合成寡核苷酸的自动核酸合成仪性能测试。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

GB/T 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 34797-2017 核酸引物探针质量技术要求

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，其最新版本适用于本规范。

3 概述

自动核酸合成仪是基于固相亚磷酰胺法原理的 DNA 或 RNA 类寡核苷酸的自动化合成仪器，是一套由计算机控制的试剂递送系统。按照计算机控制程序，A、T、C、G 不同碱基经过解封、活化、偶联、戴帽、氧化步骤后被依次添加到固体支持物上（通常是可控孔径玻璃），最终寡核苷酸从固相载体上切下，并去除保护基，人工合成得到目标寡核苷酸。寡核苷酸合成过程中合成腔和管道的压力控制、试剂的进样量、气密性等量化指标对最终寡核苷酸合成质量有关键影响。

4 计量特性

合成仪的计量特性及计量特性指标见表 1。

表 1 自动核酸合成仪计量特性

计量特性	指标
压力示值误差	最大允许误差 $\leq 5\%$
进样量示值误差	最大允许误差 $\leq 2\%$
进样量重复性	$\leq 2\%$
气密性测试	≤ 0.5 kPa/min
合成核酸相对分子质量相对误差	$\leq 0.05\%$
注：以上技术指标不适用于合格判别，仅供参考。	

5 校准条件

5.1 环境条件

5.1.1 温度：（15~30）℃；

5.1.2 相对湿度：<80%；

5.1.3 供电电源：电压（220±22）V，频率（50±1）Hz；

5.1.4 附近无影响仪器正常工作的电磁场及机械振动；

5.1.5 仪器接地良好。

5.2 校准用试剂及设备

5.2.1 压力标准器：压力标准器最大允许误差绝对值应不大于被检压力仪表最大允许误差绝对值的 1/4；

5.2.2 乙腈：AR 级别；

5.2.3 分析天平：天平准确度为①级，分度值不大于 0.1 mg；

5.2.4 液质联用飞行时间质谱仪（TOF）；

5.2.5 其他仪器和辅助设备：压力泵，用于辅助不带加压功能的压力标准器。

6 校准项目和校准方法

6.1 压力示值误差

用胶管、压力标准器和待测压力仪表相连，若压力标准器不含加压功能，需要配备压力泵等压力发生器。在待测压力仪表规定的测量范围内（或工作压力点附近），均匀选取不少于 3 个示值误差测量点。测量时，由零点均匀缓慢加压至所选的最小测量点，记录读数，如此依次测量直至最大测量点，再依次逐点降压测量直至零位。

按公式（1）计算压力表的示值误差。

$$\Delta p = p - p_s \quad (1)$$

式中： Δp —— 压力示值误差，kPa；

p —— 待测压力表示值，kPa；

p_s —— 压力标准器示值，kPa。

6.2 进样量示值误差

将仪器各部分连接好，以乙腈的进样管道为例，设定进样量为 200 μL (或其他仪器常用进样量作为校准点)，启动仪器，在进样管道出口用事先称重过的洁净离心管收集乙腈，收集完成之后，在分析天平上称重，根据实验时乙腈的密度，将所进样乙腈的质量换算成体积，该测定重复 3 次。按公式 (2) 计算进样量实测值 V ，按公式 (3) 计算进样量的示值误差 ΔV 。

$$V = (W_2 - W_1) / \rho_t \quad (2)$$

式中：

V ——进样量实测值， μL ；

W_2 ——离心管+液体的质量，g；

W_1 ——离心管的质量，g；

ρ_t ——实验温度下乙腈的密度， g/cm^3 ，不同温度下乙腈的密度参见附录 A。

$$\Delta V = V_s - \bar{V} \quad (3)$$

式中：

\bar{V} ——同一设定进样量 3 次测量值的算术平均值， μL ；

V_s ——进样量设定值， μL 。

6.3 进样量重复性

按 6.2 中的测量方法重复进样和检测 6 次，按照公式 (4) 计算进样量的重复性。

$$RSD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (V_i - \bar{V})^2}{n-1}} \times \frac{1}{\bar{V}} \times 100\% \quad (4)$$

式中：

RSD ——相对标准偏差，%；

V_i ——第 i 次体积的测量值， μL ；

\bar{V} —— n 次体积测量的平均值, μL ;

n ——检测次数。

6.4 气密性测试 (本节仅适用于仪器合成腔有保压功能的情况)

给仪器的合成腔充压,使合成腔气压达到仪器正常工作时的气压,断开进气,持续 1 分钟,通过观察合成腔压力表的变化量来评价合成腔的气密性 S 。

$$S = \frac{\delta}{t} \quad (5)$$

式中:

S ——压力泄漏速率, kPa/min ;

δ ——气密性测试 1 min 压力值的变化量, kPa ;

t ——时间, 此处为 1 min。

6.5 合成寡核苷酸相对分子质量相对误差

核酸合成仪合成寡核苷酸序列 AAAATTTTCCCCGGGGATCG, 经过脱盐处理后,使用液质联用飞行时间质谱仪测定合成的寡核苷酸分子量。采用 ESI 源电离喷雾技术,负离子模式,具体实验条件参见 GB/T 34797 附录 B,并按式 6 计算合成核酸的分子量,单位用道尔顿。再按式 7 计算合成核酸的相对分子质量相对误差。

$$\text{MW}=(\text{A}\times 313.21)+(\text{G}\times 329.21)+(\text{C}\times 289.19)+(\text{T}\times 304.19)-61.94 \quad (6)$$

式中:

MW ——分子量;

A ——腺嘌呤含量;

G ——鸟嘌呤含量;

C ——胞嘧啶含量;

T ——胸腺嘧啶含量;

$$\text{ME}=\frac{|\text{TM}-\text{OM}|}{\text{TM}} \quad (7)$$

式中:

TM ——目标值;

OM ——观测值;

ME ——误差。

7 测试结果表达

测试记录应尽可能详尽地记载测量数据和计算结果，推荐的测试记录格式见附录 B。经测试的仪器应出具校准证书，校准证书应符合 JJF 1071-2010 中 5.12 的要求，校准证书内页格式见附录 C。示值误差的测量不确定度应按 JJF 1059.1 的要求评定，不确定度评定实例见附录 D。

8 复校时间间隔

建议复校时间间隔不超过 1 年。由于复校时间间隔的长短是由仪器的使用情况、使用者、仪器本身质量等着多因素所决定的，因此，送校单位可根据实际使用情况自主确定复校时间间隔。

全国生物计量技术委员会

附录 A

不同温度下乙腈的密度

不同温度下1 kg乙腈的体积按式 (A.1) 计算:

$$V_t = V_{20}(1 + \alpha(T_t - T_{20})) \quad (\text{A.1})$$

V_{20} ——20℃时1 kg乙腈的体积, cm^3 ;

V_t —— t 温度条件下, 1 kg乙腈体积, cm^3 ;

α ——乙腈的体积膨胀系数, $0.00119/^\circ\text{C}$ 。

可推导出:

$$\frac{V_t}{V_{20}} = \frac{1/V_{20}}{1/V_t} = \frac{\rho_{20}}{\rho_t} = 1 + \alpha(T_t - T_{20}) \quad (\text{A.2})$$

式中:

ρ_{20} ——20℃时乙腈的密度, 0.7822 g/cm^3 ;

ρ_t —— t 温度条件下乙腈的密度, g/cm^3 ;

因此, 不同温度下乙腈的密度按式 (A.3) 计算:

$$\rho_t = \rho_{20} - k(t - 20) \quad (\text{A.3})$$

式中:

k ——乙腈的温度校准系数, $0.0011 \text{ g/cm}^3 \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ 。

附录 B

自动核酸合成仪校准记录参考格式

送校单位		校准地址		
仪器型号		仪器编号		
制造厂商		检测日期		
环境温度		相对湿度		
校准人		核验人		
技术依据				
主要 测量 设备	名称/型号	测量范围	不确定度/准确度等级/最大允许误差	检定/校准证书编号/有效期

B.1 压力示值误差

压力表名称	压力设定点 (kPa)	示值 (kPa)	示值误差 (kPa)	扩展不确定度 ($k=2$) (kPa)

B.2 进样量示值误差和重复性

设定进样量 V_s :				液体密度:			
W_2							
W_1							
$(W_2 - W_1) / \rho$							
\bar{V}		ΔV		$U_{\Delta V}$		RSD	

B.3 气密性测试

压力初始值		压力最终值		压力变化量	
压力泄露速率					

B.4 合成核酸分子量误差

标准值	实测值	误差

附录 C

校准证书内页推荐格式

C.1 校准证书内页

证书编号XXXXXX-XXXX			
校准环境条件及地点:			
温度	°C	地点	
相对湿度	%	其他	
校准使用的主要设备			
名称/型号	测量范围	不确定度/准确度等级/最大允许误差	检定/校准证书编号/有效期

第X页共X页

C.2 校准证书校准结果页

证书编号XXXXXX-XXXX

校准结果

1. 压力表示值误差

压力表名称	压力设定点 (kPa)	示值误差(kPa)	扩展不确定度($k=2$)(kPa)

2. 进样量示值误差和重复性

进样量 V_s :进样量示值误差 ΔV :进样量示值误差的扩展不确定度($k=2$):

进样量重复性:

3. 气密性测试

压力泄露速率:

4. 合成核酸相对分子质量相对误差

相对误差:

以下空白

第X页共X页

附录 D

压力表示值误差校准结果的不确定度评定示例

D.1 数学模型

$$\Delta p = p - p_s$$

Δp —压力示值误差, kPa;

p —待测压力表示值, kPa;

p_s —压力标准器示值, kPa。

D.2 不确定度来源

- a) 压力标准器引入的不确定度。
- b) 被测压力表估读引入的不确定度。

D.3 不确定度分量的计算

D.3.1 压力标准器引入的标准不确定度 $u_1(P_A)$

根据压力标准器的检定证书, 准确度等级为 0.02 级的压力标准器在量程范围内的最大允许误差为 0.42kPa, 假设在量程范围内压力标准器的压力值符合均匀分布, $u_1(P_A) = 0.42 \div \sqrt{3} = 0.25\text{kPa}$ 。

D.3.2 被测压力表估读引入的不确定度 $u_2(P_x)$

被测压力表的最小分度值为 0.01MPa, $u_2(P_x) = 10 \times \frac{1}{5} \div \sqrt{3} = 1.16\text{kPa}$ 。

D.4 标准不确定度一览表

标准不确定度一览表见表 D.1。

表 D.1 标准不确定度分量一览表

项目/ kPa	来源	
	$u_1(P_A)/\text{kPa}$	$u_2(P_x)/\text{kPa}$
压力	0.25	1.16

D.5 合成不确定度

合成不确定度用公式 $u(\Delta) = \sqrt{u_1^2(P_A) + u_2^2(P_x)}$ 计算得到, 结果见表 D.2。

D.6 扩展不确定度

取 $k=2$ ，则仪器示值误差的扩展不确定度用 $U=k\cdot u(\Delta)$ 计算，结果见表 D.2。

表 D.2 合成和扩展不确定度结果

项目/ kPa	合成不确定度 $u(\Delta)$ / kPa	扩展不确定度 U / kPa	包含因子 k
压力	1.2	2.4	2