



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF ××××—202×

分子杂交仪校准规范

Calibration Specification for Molecular Hybridization instruments

（征求意见稿）

202X-XX-XX 发布

202X-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局 发布

分子杂交仪校准规范

Calibration Specification for Molecular
Hybridization instruments

JJF XXXX—202X

归口单位：全国生物计量技术委员会

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	IV
1 范围	1
2 引用文件	1
3 术语	1
3.1 分子杂交	1
4 概述	1
5 计量特性	1
6 校准条件	2
6.1 环境条件	2
6.2 测量标准及其他设备	2
7 校准项目和校准方法	2
8 校准结果表达	4
9 复校时间间隔	4
附录 A 校准原始（推荐）记录格式	6
附录 B 校准证书（内页）推荐格式	8
附录 C 测量不确定度评定示例	9

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 1101—2019《环境试验设备温度、湿度参数校准规范》。

本规范为首次发布。

全国生物计量技术委员会

分子杂交仪校准规范

1 范围

本规范适用于普通分子杂交仪、半自动分子杂交仪和全自动分子杂交仪的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJF 1101—2019 环境试验设备温度、湿度参数校准规范

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

JJF 1101—2019 中界定的术语和定义适用于本规范。

3.1 分子杂交 molecular hybridization

具有一定同源序列的两条核酸单链（DNA 或 RNA），在一定条件下按碱基互补配对原则，经过退火形成异质双链的过程。该过程是高度特异性的，由此可以根据所使用的已知序列探针进行核酸分子的特异性检测。

4 概述

分子杂交仪（以下简称杂交仪）是用于核酸分子杂交的一类实验设备，杂交仪通过控制温度、时间等参数，使 DNA 或 RNA 分子在特定条件下进行杂交反应。杂交仪包括普通分子杂交仪、半自动分子杂交仪和全自动分子杂交仪。普通分子杂交仪通常由封闭恒温箱体或恒温载台、振荡或旋转机构以及相应的控制系统全部或部分组成，可实现温度、转速等参数的控制和调整；半自动、全自动分子杂交仪主要由样品载台或反应仓、温控模块、振荡模块、移液装置、可编程控制系统与显示终端全部或部分组成，可半自动或全自动的完成杂交、洗膜、孵育、显色等操作步骤。

5 计量特性

杂交仪的主要计量特性指标见表 1。

表 1 杂交仪的主要计量特性指标

计量特性	计量特性指标
温度偏差	$\pm 1.0\text{ }^{\circ}\text{C}$

温度均匀度	$\leq 1.0\text{ }^{\circ}\text{C}$
温度波动度	$\pm 1.0\text{ }^{\circ}\text{C}$
转速（或振荡频率）示值误差	$\pm 10\%$
样本检出准确率	100%

注：以上技术指标不用于合格性判别，仅供参考。

6 校准条件

6.1 环境条件

6.1.1 环境温度（10~30）℃，相对湿度不大于 80%。

6.1.2 周围无剧烈振动，无强电磁干扰。

6.2 测量标准及其他设备

6.2.1 温度测量装置

可至少同时采集 9 组温度数据，测量范围（0~100）℃，最大允许误差：±0.3℃。

6.2.2 转速测量装置

测量范围 0~100 r/min，最大允许误差：±3%。

6.2.3 振动频率测量装置

测量范围 0~500 Hz，最大允许误差：±3%。

6.2.4 核酸标准物质和试剂

人乳头瘤病毒（HPV）有证标准物质，或客户要求的其他检验项目的有证标准物质，相对扩展不确定度≤30%。

配套试剂盒。

7 校准项目和校准方法

7.1 温度偏差、温度均匀度、温度波动度

在杂交仪温度设定范围内均匀的选择高、中、低三点，或根据用户的实际需求设置温度校准点。

将温度测量装置的传感器探头均匀布置在杂交仪的箱体内部或反应平台上。校准箱式结构的杂交仪时，温度测量点设置于箱体内部的 8 个角和中心位置，温度传感器应不与箱内壁、振荡或旋转机构等部位接触。校准平板加热式结构的杂交仪时，温度测量点设置于反应平台的 4 个角和中心位置，温度传感器应尽量与加热模块紧密贴合。

将杂交仪设定到待校准温度，开启仪器运行，显示温度达到设定值 10 min 后

开始记录数据，每 2 min 记录一次，30 min 内共记录 16 组数据。按公式（1）计算各测量点 16 次测量中的最高温度与设定温度的差值，即为温度上偏差；按公式（2）计算各测量点 16 次测量中的最低温度与设定温度的差值，即为温度下偏差。

$$\Delta t_{\max} = t_{\max} - t_s \quad (1)$$

$$\Delta t_{\min} = t_{\min} - t_s \quad (2)$$

式中：

$\Delta t_{\max}$ ——温度上偏差，℃；

$\Delta t_{\min}$ ——温度下偏差，℃；

$t_{\max}$ ——各测量点 16 次测量中的最高温度，℃；

$t_{\min}$ ——各测量点 16 次测量中的最低温度，℃；

t_s ——杂交仪设定温度，℃。

按公式（3）计算每组测量中实测最高温度与最低温度差值中的最大值，即为温度均匀度。

$$\Delta t_u = \max(t_{i\max} - t_{i\min}) \quad (3)$$

式中：

Δt_u ——温度均匀度，℃；

$t_{i\max}$ ——各测量点在第 i 次测得的最高温度，℃；

$t_{i\min}$ ——各测量点在第 i 次测得的最低温度，℃。

各测量点实测最高温度与最低温度之差的一半，冠以“±”号，取全部测量点中变化量的最大值，即为杂交仪 30 min 内温度波动度的校准结果，按公式（4）计算。

$$\Delta t_f = \pm \max[(t_{j\max} - t_{j\min})/2] \quad (4)$$

式中：

Δt_f ——温度波动度，℃；

$t_{j\max}$ ——测量点 j 在 n 次测量中的最高温度，℃；

$t_{j\min}$ ——测量点 j 在 n 次测量中的最低温度，℃。

7.2 转速（或振荡频率）示值误差

对具有旋转或振荡功能的杂交仪进行该项目的校准。在可调范围内均匀选取高、中、低三个值作为杂交仪转速或振荡频率的校准点，或选择其他有实际需求的转速或频率作为校准点，使用转速测量装置或振荡频率测量装置进行测量。

设定杂交仪转速或振荡频率，启动设备，平稳运行 5 min 后开始测量，测量时间间隔为 1 min，共测量 3 次，按式（5）（6）计算转速或振荡频率示值误差。

$$\bar{r} = \frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 r_i \quad (5)$$

$$\Delta r = \frac{r_s - \bar{r}}{\bar{r}} \times 100\% \quad (6)$$

式中：

$\bar{r}$ ——平均转速或振荡频率，r/min 或 Hz；

r_i ——转速或振荡频率的单次测量值，r/min 或 Hz；

Δr ——转速或振荡频率示值误差，%；

r_s ——转速或振荡频率设定值，r/min 或 Hz。

7.3 样本检出准确率

对用于相关临床项目检测的自动分子杂交仪进行样本检出准确率的校准。

使用对应检测项目的有证标准物质，按照试剂盒使用说明书进行杂交实验，加入标准物质时，可根据实际情况均匀选取 5~8 个样本孔位加入标准物质，另外选取 1~2 个孔位加入纯水作为空白样本。杂交实验完成后，记录阳性样本检出数量和阴性样本检出数量，根据式（7）计算样本检出准确率。

$$TR = \frac{x_{TP} + x_{TN}}{x} \times 100\% \quad (6)$$

式中：

TR——样本检出准确率，%；

x_{TP} ——阳性样本检出数量；

x_{TN} ——阴性样本检出数量；

x ——样本总数。

8 校准结果表达

经校准后的杂交仪应填发校准证书，校准证书应符合 JJF 1071—2010 中 5.12 的要求，并给出各校准项目名称和测量结果以及扩展不确定度。推荐的校准原始记录格式见附录 A。校准证书应包括的信息及推荐的校准证书的内页格式见附录 B。杂交仪校准结果的不确定度按 JJF 1059.1—2012 的要求评定，校准不确定度评定示例见附录 C。

9 复校时间间隔

建议杂交仪复校准间隔一般不超过 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、仪器本身质量等诸因素所决定的，因此，送校单位可根据实际使用情况自主决定复校时间间隔。如果在使用过程中对仪器测量结果产生怀

疑或更换主要部件应及时校准。

全国生物计量技术委员会

附录 A

校准原始（推荐）记录格式

校 准 记 录

（推荐性表格）

共 2 页，第 1 页

仪器名称			型号	
制造厂商			出厂编号	
委托单位	名称		温度	
	地址		湿度	
记录编号			证书编号	
校准员			核验员	

本次使用的主要 计量标准器具	规格型号	不确定度/准确度等 级/最大允许误差	器具编号	有效性确认

一、温度校准（单位℃）

次数	实测温度值								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
设定值		上偏差		下偏差		均匀度		波动度	

温度测量不确定度：

共 2 页，第 2 页

二、转速（或振荡频率）校准

设定值	测量次数			平均值	示值误差 (%)
	1	2	3		

测量不确定度：

三、样本检出准确率

阳性样本数量	阳性检出数量	阴性样本数量	阴性检出数量	样本检出准确率

附录 B

校准证书（内页）推荐格式

校 准 证 书				
共 1 页, 第 1 页				
校准项目	校准结果			
温度偏差 (°C)	设定值	温度上偏差	温度下偏差	扩展不确定度 ($k=2$)
温度均匀度 (°C)	设定值	均匀度		
温度波动度 (°C)	设定值	波动度		
转速 (或振荡频率) 示值误差	设定值	测量值	示值误差	扩展不确定度 ($k=2$)
样本检出准确率				

(以下空白)

校准员: _____ 核验员: _____

附录 C

测量不确定度评定示例

C.1 温度偏差的不确定度评定

C.1.1 测量方法

采用温度测量装置对杂交仪的温度进行测量，并与杂交仪设置温度进行比较。

C.1.2 测量模型

温度上偏差公式可由公式 (C.1) 给出

$$\Delta t_{\max} = t_{\max} - t_s \quad (\text{C.1})$$

式中：

$\Delta t_{\max}$ —— 温度上偏差，℃；

$t_{\max}$ —— 各测量点 16 次测量中的最高温度，℃；

t_s —— 杂交仪设定温度，℃。

由于上偏差与下偏差不确定度来源和数值相同，因此仅以温度上偏差为例进行不确定度评定。

C.1.3 不确定度来源

- (1) 测量重复性引入的不确定度。
- (2) 标准器引入的不确定度。

C.1.4 标准不确定度评定

- (1) 测量重复性引入的标准不确定度

选定一台箱式结构的杂交仪，使用温度测量装置在 42.0 ℃ 校准点，连续测量 10 次，得到一组测量值：42.43 ℃、42.60 ℃、42.50 ℃、42.38 ℃、42.00 ℃、42.53 ℃、42.52 ℃、42.27 ℃、41.95 ℃、42.44 ℃。

则单次测量结果的实验标准差 s ：

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \approx 0.242 \text{ } ^\circ\text{C}$$

则 $u_1 = s = 0.242^\circ\text{C}$ 。

- (2) 标准器引入的标准不确定度

由标准器引入的不确定度分量主要由标准器分辨力引入的不确定度、标准器准确度引入的不确定度组成。

标准器分辨力为 0.01 ℃，不确定度区间半宽 0.005 ℃，服从均匀分布，则分辨率引入的标准不确定度分量：

$$u_2 = \frac{0.005}{\sqrt{3}} \text{ } ^\circ\text{C} \approx 0.003 \text{ } ^\circ\text{C}$$

温度测量标准器的最大允许误差为 $\pm 0.3 \text{ } ^\circ\text{C}$ ，则标准器准确度引入的标准不确定度分量：

$$u_3 = \frac{a}{k} = \frac{0.3}{\sqrt{3}} \text{ } ^\circ\text{C} \approx 0.17 \text{ } ^\circ\text{C}$$

C.1.5 标准不确定度一览表

标准不确定度一览表见表 C.1。

表 C.1 温度上偏差校准结果标准不确定度一览表

不确定度来源	u	标准不确定度
温度测量重复性	u_1	$0.242 \text{ } ^\circ\text{C}$
标准器分辨力	u_2	$0.003 \text{ } ^\circ\text{C}$
标准器最大允许误差	u_3	$0.17 \text{ } ^\circ\text{C}$

C.1.6 合成标准不确定度 u_c

由于各不确定度输入量不相关，故

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2} \approx 0.296 \text{ } ^\circ\text{C}$$

C.1.7 扩展不确定度

取 $k=2$ ，则温度上偏差校准的扩展不确定度为 $U = 2u_c = 0.6 \text{ } ^\circ\text{C}$ 。

C.2 转速示值误差的不确定度评定

C.2.1 测量方法

采用转速测量装置对杂交仪旋转架的转速进行测量。

C.2.2 测量模型

转速示值误差可由公式 (C.2) 给出

$$\bar{r} = \frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 r_i \quad (\text{C.2})$$

$$\Delta r = \frac{r_s - \bar{r}}{\bar{r}} \times 100\% \quad (\text{C.3})$$

式中：

$\bar{r}$ ——平均转速，r/min；

r_i ——转速的单次测量值，r/min；

Δr ——转速示值误差，%；

r_s ——转速设定值，r/min。

灵敏系数：

$$c = \frac{\partial(\Delta r)}{\partial(r)} = -\frac{r_s}{r^2} \quad (\text{C.4})$$

C.2.3 不确定度来源

(1) 测量重复性引入的不确定度。

(2) 标准器引入的不确定度。

C.2.4 标准不确定度评定

(1) 测量重复性引入的标准不确定度

选定一台杂交仪，使用转速测量装置测量其转速，连续测量 10 次，得到一组测量值（单位：r/min）：10.3、10.2、10.3、10.2、10.2、10.2、10.2、10.3、10.1、10.2。

则单次测量结果的实验标准差 $s(x_i)$ ：

$$s(x_i) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \approx 0.063 \text{ r/min}$$

转速实际测量 3 次，则 $u_1 = \frac{s(x_i)}{\sqrt{3}} \approx 0.036 \text{ r/min}$

(2) 标准器引入的标准不确定度

由标准器引入的不确定度分量主要包括标准器分辨力引入的不确定度、标准器准确度引入的不确定度。

标准器分辨力为 0.1 r/min，不确定度区间半宽 0.05 r/min，服从均匀分布，则分辨率引入的标准不确定度：

$$u_2 = \frac{0.05}{\sqrt{3}} \text{ r/min} \approx 0.029 \text{ r/min}$$

转速测量装置转速测量的最大允许误差为 $\pm 3\%$ ，则标准器准确度引入的不确定度：

$$u_3 = \frac{a}{k} = \frac{10.2 \times 3\%}{\sqrt{3}} \text{ r/min} \approx 0.177 \text{ r/min}$$

C.2.5 标准不确定度一览表

标准不确定度一览表见表 C.2。

表 C.2 转速校准结果标准不确定度一览表

不确定度来源	u	标准不确定度	灵敏系数
测量重复性	u_1	0.036 r/min	-0.096 (r/min) ⁻¹
标准器分辨力	u_2	0.029 r/min	
标准器最大允许误差	u_3	0.177 r/min	

C.2.6 合成标准不确定度 u_c

由于各不确定度输入量不相关，故

$$u_c = \sqrt{r^2 \times (u_1^2 + u_2^2 + u_3^2)} \approx 0.018$$

C.2.7 扩展不确定度 U

取 $k=2$ ，则转速校准的扩展不确定度为 $U = 2u_c = 4\%$ 。