

国家计量技术规范规程制修订

《全柱成像毛细管等电聚焦分析仪
校准规范》（征求意见稿）
编制说明

2026 年 08 月

《全柱成像毛细管等电聚焦分析仪校准规范》（征求意见稿）

编制说明

一、任务来源

根据《国家市场监督管理总局办公厅关于征集 2024 年国家计量技术规范修订和宣贯计划项目的通知》，由中国计量科学研究院牵头，联合深圳中国计量科学研究院技术创新研究院、上海市计量测试技术研究院有限公司、南京市计量监督检测院等 3 家单位申报《全柱成像毛细管等电聚焦分析仪校准规范》的制定工作并获得批准立项。

二、规范制定的必要性

全柱成像毛细管等电聚焦（icIEF）技术凭借其高分辨率、自动化和高通量的特点，已成为生物制药领域分析蛋白质电荷异质性的“金标准”方法。电荷异质性被监管机构认定为影响药物药代动力学、生物活性和免疫原性风险的关键质量属性（CQA），贯穿于生物制品的研发、生产及质量控制全过程。然而，当前 icIEF 技术的广泛应用缺乏统一的计量校准规范作为技术支撑，这不仅制约了测量结果的准确性和可靠性，也影响了不同实验室间数据的可比性与互认。

目前，icIEF 技术在应用中暴露出诸多亟待解决的计量学问题。不同仪器平台和实验条件下，同一样品的电荷分布图谱和等电点（ pI ）测定值常存在显著偏差，即便使用相似条件，不同系统间的测量差异也较为明显。造成这一现象的原因复杂多样，既包括仪器本身的结构差异，也涉及内标物（ pI 标记物）的质量偏差，以及毛细管涂层、样品添加剂等操作变量对分离效果的影响。尽管已有研究参照 ICH Q2(R1)等指南进行方法学验证，且《中国药典》已拟增订 icIEF 相关通则，但这些工作多聚焦于特定产品的分析方法开发，尚未上升为针对仪器本身的系统性计量校准规范。

因此，制定 icIEF 计量校准规范具有重要的现实紧迫性和战略意义。一方面，规范的建立可为 icIEF 仪器的量值溯源、校准方法、性能评价提供统一的技术依据，从根本上解决当前测量结果“不可比、难互认”的困境，确保 pI 测定值的准确可靠；另一方面，这也是支撑我国生物医药产业高质量发展的基础性工作，可为药品监管、质量标准提升以及国际协调提供坚实的计量技术保障。当前，针对

基于毛细管电泳原理的分析仪器，已有 JJG 964-2001《毛细管电泳仪检定规程》、JJF 1838-2020《遗传分析仪校准规范》的立项实践，充分表明建立 icIEF 专项计量校准规范的条件已基本成熟，亟需加快推进。

三、《全柱成像毛细管等电聚焦分析仪校准规范》的制定过程

1. 2024 年由中国计量科学研究院牵头，联合深圳中国计量科学研究院技术创新研究院、上海市计量测试技术研究院有限公司、南京市计量监督检测院等 3 家单位，向全国生物计量技术委员会提交了《全柱成像毛细管等电聚焦分析仪校准规范》的制定申请并获得批准立项。

2. 2024-2025 年规范制定任务下达后，由中国计量科学研究院牵头，成立了规范起草小组。起草小组对国内外主要全柱成像毛细管等电聚焦分析仪厂家、型号和使用情况等做了调研，确定了规范拟测量的主要技术指标，并同步展开了相关的测试和验证实验。

3. 2026 年 09 月，起草小组完成《全柱成像毛细管等电聚焦分析仪校准规范（征求意见稿）》并公开征求意见。

四、规范制定的主要技术依据及原则

（一）依据

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 JJG 964-2001《毛细管电泳仪检定规程》。

（二）原则

1. 架构

根据 JJF 1071-2010《国家计量校准规范编写规则》的要求，本规范架构上包括封面、扉页、目录、引言、范围、引用文件、概述、计量特性、校准条件、校准项目和校准方法、校准结果表达、复校时间间隔、附录几个部分。

2. 计量特性确定原则

根据全柱成像毛细管等电聚焦分析仪的结构及特点、全柱成像毛细管等电聚焦分析仪的检测目的等，确定全柱成像毛细管等电聚焦分析仪的计量特性；计量特性确定过程中也参照了现行有效的 GB/T 32267-2015 分析仪器性能测定术语。

3. 标准物质选则的原则

在毛细管等电聚焦（cIEF）领域，目前国内外均未见以“等电点”为特性量值的有证标准物质（CRM），现有商品化试剂如 Pharmalyte 载体两性电解质、ProteinSimple iCE 配套 pI Marker 或国内 iCIEF 系统适用性对照品等，均未经全面定值和不确定度评定，本质上属于工作标准品而非计量学意义上的标准物质。传统蛋白质标记物虽被广泛使用，但因其分子量大、构象复杂、电荷异构体多，且 pI 值来源于不同实验室的分散测定，缺乏统一溯源，难以满足精密量值传递的要求。在此背景下，亟需一种结构明确、可理论计算、且能通过物理化学基本定律建立溯源链的参考物质，以填补 cIEF 方法校准和质控的空白。

选择血管紧张素 I（Ang I，序列 DRVYIHPFHL）的理论等电点作为约定标准值，在计量学上具备充分的合理性。首先，Ang I 为十肽，分子量仅约 1296 Da，含有 7 个明确可电离基团（N 端 α -氨基、C 端 α -羧基、Asp¹侧链羧基、Arg²侧链胍基、Tyr⁴侧链酚羟基、His⁶和 His⁹侧链咪唑基），无显著二级结构，不存在翻译后修饰异质性，其电荷行为可由 Henderson-Hasselbalch 方程精确描述，理论模型与实验测定之间的偏差远小于蛋白质。其次，其溯源链完整且清晰：从 SI 基本单位出发，经 IUPAC 标准原子量确定氨基酸分子式，通过一级参考序列确定肽链化学结构，识别可电离基团后利用解离平衡模型计算净电荷为零时的 pH 值，最终得到等电点。该链条的起点为 SI 单位，中间环节均为物理化学基本定律，满足 ISO/IEC 17025 对溯源性的要求。再者，Ang I 的 pI 可通过多种独立算法交叉验证——ExPASy ProtParam（Bjellqvist 参数集）给出 6.92，IPC2 深度学习模型给出 7.23，Grimsley、Sillero、Dawson 等经验参数集给出 7.16—7.26。该差异本身可被量化为方法学不确定度，纳入标准值的不确定度评定，使理论值具有“可知的误差范围”，符合约定真值的定义。从标准值的不确定度评定来看，Ang I 理论 pI 的标准值端包含三个可量化分量：pKa 参数通过 GUM 传播律计算的不确定度、重复测量引入的不确定度以及多方法间系统偏差（IPC2 与 ExPASy 差异 0.31，按均匀分布折算为 0.09）。三者合成得到标准值的标准不确定度约为 0.14，扩展不确定度约 ± 0.28 （ $k=2$ ）。

综上所述，在 cIEF 领域缺乏 pI 有证标准物质的现实条件下，将 Ang I 理论等电点作为约定参考值是计量学上必要且合理的选择。其结构简单性保证了理

论模型与实验偏差的可控性，完整的化学计量溯源链确保了量值可追溯到 SI 单位，多方法交叉验证和不确定度量化评定则赋予了该值以“可知的置信区间”。待未来国内外发布 pI CRM 后，可通过桥接实验将现有数据溯源至更高等级的参考物质，实现计量层级的平稳升级。

五、规范制定说明

《全柱成像毛细管等电聚焦分析仪校准规范》包括封面、扉页、目录、引言、范围、引用文件、概述、计量特性、校准条件、校准项目和校准方法、校准结果表达、复校时间间隔以及附录几个部分，根据 JJF 1071-2010《国家计量校准规范编写规则》撰写。

1. 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》、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。

本规范的校准方法及计量特性等主要参考了 JJG 964-2001《毛细管电泳仪检定规程》。

本规范为首次发布。

2. 范围

本规范适用于各类全柱成像毛细管等电聚焦分析仪的校准。

3. 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJG 964-2001《毛细管电泳仪检定规程》、GB/T 32267-2015《分析仪器性能测定术语》。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。

4. 概述

全柱成像毛细管等电聚焦分析仪是一种基于蛋白质或其他两性电解质在 pH 梯度中按等电点差异进行分离，并采用实时成像检测方式在毛细管全长范围内直接记录聚焦后组分分布的分离分析仪器。该仪器的检测信号强度及峰位与被分析物的等电点和含量直接相关，通过对聚焦图谱的解析，可实现待测物的定性鉴定与定量分析。仪器一般配备毛细管柱、高压电源、温控装置、紫外/可见光或激光

诱导荧光成像检测系统、自动进样系统、电源模块及计算机与软件系统。检测系统采用电荷耦合器件（CCD）或互补金属氧化物半导体（CMOS）图像传感器，对毛细管整个轴向区域进行连续曝光采集，将透射光或发射光信号转换为数字图像。数据经计算机处理后，通过图像处理与峰识别算法，计算出各组分的等电点及相对百分含量，从而完成分离与检测的一体化分析。

5. 校准条件

5.1 环境条件：

5.1.1 环境温度：（10~30）℃。

5.1.2 相对湿度：≤85%。注：若制造商为设备规定了工作温、湿度范围，选择在制造商规定的温、湿度范围内试验。

5.2 测量标准及其他设备

5.2.1 标准溶液

选择多肽类物质（例如：血管紧张素I（人）纯度标准物质等），配制为合适浓度的标准溶液。

6. 校准项目和校准方法

6.1 等电点示值误差

精密称取适量标准物质，加纯水溶解并定量稀释至浓度为 1 mg/mL，作为样品储备液。检测时，取离心管，依次加入 pH 3~10 范围的两性电解质、1%甲基纤维素溶液、两个不同等电点标记物（其 pI 分别约为 4 和 8）及适量尿素；然后精密移取适量上述样品储备液加入该混合体系中，并补加纯水至总体积 100 μL，使待测样品终浓度为 0.2 mg/mL，尿素终浓度为 2 mol/L。充分混匀后，离心取上清，进行等电点测定，连续重复测定 3 次。根据公式（C.1）计算等电点示值误差。

$$\Delta pI = \frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 pI_i - pI_{theor} \quad (1)$$

式中：

ΔpI ——等电点示值误差，无量纲；

pI_i ——等电点测量值，无量纲；

pI_{theor} ——标准物质理论等电点，无量纲。

6.2 等电点示值测量重复性

采用 6.1 中制备的浓度为 0.2 mg/mL 的血管紧张素 I 测试溶液，在与 6.1 完

全相同的仪器工作条件下，进行检测，测试 3 次。根据式（2）计算相对标准偏差 RSD，作为等电点示值测量重复性。

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

式中：

RSD ——相对标准偏差，%；

x_i ——第 i 次测量的等电点示值，无量纲；

$\bar{x}$ ——3 次测量结果的算术平均值，无量纲；

n ——测量次数， $n=3$ 。

6.3 主成分峰面积测量重复性

采用 6.1 中制备的浓度为 0.2 mg/mL 的血管紧张素 I 测试溶液，在与 6.1 完全相同的仪器工作条件下，取测试溶液连续进样，按设定的等电聚焦程序分离检测，记录主成分峰面积响应值。重复上述测量操作 3 次。按式（3）计算 3 次峰面积测量结果的相对标准偏差 RSD ，作为主成分峰面积测量重复性。

$$RSD = \frac{1}{\bar{A}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (A_i - \bar{A})^2}{n-1}} \times 100\% \quad (3)$$

式中：

RSD ——相对标准偏差，%；

A_i ——第 i 次测量的主成分峰面积响应值，无量纲；

$\bar{A}$ ——3 次测量峰面积的算术平均值，无量纲；

n ——测量次数， $n=3$ 。

7. 校准结果表达

7.1 校准结果处理

经校准后的全柱成像毛细管等电聚焦分析仪应核发校准证书，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。校准原始记录格式（推荐性表格）见附录 A，校准证书内页格式（推荐性表格）见附录 B。

7.2 校准结果的测量不确定度

全柱成像毛细管等电聚焦分析仪校准结果的测量不确定度按 JJF 1059.1-

2012 的要求评定，校准结果测量不确定度评定示例见附录 C。

8. 复校时间间隔

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，送校单位可根据实际使用情况自主决定复校时间间隔，建议不超过 1 年。

9. 附录

附录部分包括了：校准原始记录格式（推荐性表格）附录 A，校准证书内页格式（推荐性表格）附录 B 和校准结果测量不确定度评定示例附录 C。

《全柱成像毛细管等电聚焦分析仪校准规范》起草组

2026 年 08 月