

RB

中华人民共和国认证认可行业标准

RB/T XXXXX—XXXX

检测仪器设备国产化验证评价指南
核酸提取仪（磁珠法）

Verification and comprehensive evaluation method of domestic instruments and
equipment

Nucleic Acid Extractors (magnetic beads method)

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

(征求意见稿)

— XX — XX 发布

XXXX — XX — XX 实施

国家认证认可监督管理委员会 发布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 试剂及设备 2

 4.1 试剂 2

 4.2 设备 2

5 验证与综合评价要素 2

 5.1 安装条件及验评实施准备 2

 5.2 基本性能 2

 5.3 应用性能 3

 5.4 综合评价 5

参考文献 6

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

检测仪器设备国产化验证评价指南

核酸提取仪（磁珠法）

1 范围

本文件规定了国产核酸提取仪验证与综合评价方法。
本文件适用于使用核酸提取仪的检验检测机构开展该设备的性能评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

核酸 nucleic acid

由核苷酸或脱氧核苷酸通过3',5'磷酸二酯键连接而成的一类生物大分子。具有非常重要的生物功能，主要是贮存遗传信息和传递遗传信息。包括核糖核酸（RNA）和脱氧核糖核酸（DNA）两类。

3.2

磁珠 magnetic beads

对超顺磁性纳米颗粒的表面进行一定的改良和修饰，使其在不同条件下可与核酸分子特异高效结合和解离，这种超顺磁性纳米颗粒被称为磁珠。利用磁珠的这个特性在外加磁场的作用下，能从各种生物样本中分离纯化核酸DNA和RNA。

3.3

核酸提取试剂盒(磁珠法) nucleic acid extraction kit (magnetic beads method)

将生物样本经裂解液消化后，释放出核酸，核酸与磁珠结合，利用磁珠分离仪器将核酸提取纯化，将生物样本中的DNA、RNA提取出来，作为后续扩增的模板，用于下游实验的辅助试剂。

3.4

核酸提取仪（磁珠法） nucleic acid extractor (magnetic beads method)

应用配套的核酸提取试剂来自动完成样本核酸提取工作的仪器。

3.5

核酸纯度 purify of nucleic acid

使用核酸提取试剂从一定量生物样本中提取得到的产物中核酸相对其他杂质的量。

3.6

提取产量 yield

使用核酸提取试剂从一定质量或体积的生物样本中提取得到的核酸的总量。

3.7

核酸完整性 nucleic acid integrity

提取过程中保持核酸一级结构（序列）完整而不发生改变的程度。

3.8

提取回收率 extraction recovery rate

使用核酸标准物质，提取后的拷贝数或浓度与原始拷贝数或浓度的比率。

3.9

交叉污染性 cross contamination

使用标准物质（或阳性质粒）和空白对照的加样数量分别为提取仪提取孔位的一半，标准物质（或阳性质粒）和空白对照按照如下间隔分布共同提取，测试提取结果的干扰性。

3.10

磁通量 magnetic flux

提取仪使用磁棒的磁通。

4 试剂及设备

4.1 试剂

4.1.1 核酸标准物质：采用市售有证核酸标准物质，以拷贝数浓度进行标识。

4.1.2 核酸提取试剂：采用市售配套核酸提取试剂进行验评。

4.1.3 核酸定量试剂：采用市售配套核酸定量试剂进行验评，评价提取效率应选用精密度更高的绝对定量检测方法。

4.1.4 实验用水：符合 GB/T 6682 规定的一级水的要求，用于分子生物学试剂制备。

4.2 设备

4.2.1 温度测量装置：由若干个精密温度传感器，数据采集分析模块组成的校温仪，测温范围（0~120）℃，温度校准装置测量不确定度 ≤ 0.3 ℃，经计量检定或校准合格。

4.2.2 振动频率测量装置：测量范围（0.5~500）Hz，0.1级或优于0.1级，经计量检定或校准合格。

4.2.3 移液器：规格为10 μL、100 μL、200 μL、1000 μL，经计量检定或校准合格。

4.2.4 电子天平：分度值0.1 mg，最大称量值 ≥ 200 g，满足①级要求，经计量检定或校准合格。

4.2.5 微量分光光度计：经过校准，或用有证标准物质进行标定。

4.2.6 水平电泳仪：制胶面积不小于7×7 cm。

4.2.7 凝胶成像系统：像素不低于130万。

4.2.8 数字PCR仪或荧光定量PCR仪：市售经计量检定或校准合格的仪器。

4.2.9 高斯计：经过校准，或标定的设备。

5 验证与综合评价要素

5.1 安装条件及验评实施准备

5.1.1 实验室环境不得存在强烈的机械振动和电磁干扰。

5.1.2 实验室温度应控制在（15 - 30）℃，相对湿度不大于70 %。

5.1.3 验评设备放置在便于检查、可实现稳定的热交换和空气流通的环境。

5.2 基本性能

5.2.1 温度控制性能指标

5.2.1.1 温度示值误差

温度点一般选择55℃、65℃、90℃，或者其他有实际需要的温度为校准点。使用温度测量装置，将温度传感器固定在提取仪的加热模块上，温度传感器均匀分布，保证温度传感器与加热模块贴合紧密。对于不同加热模块的提取仪，可根据实际情况均匀选取测量点，测温点数选取规则如下：提取仪孔位数48位 - 96位，测温点选7个；提取仪孔位数8位 - 48位，测温点选5个；提取仪孔位数8位及以下的，测温点选3个。

设定被校提取仪的校准温度，稳定10 min或以上，待温度稳定后，读取测温点的温度值，计算温度的示值误差。

5.2.1.2 温度均匀性

分别测试提取仪温度设定为55℃、65℃、90℃(也可选择其他有实际需要的温度进行测试)时工作区域的温度均匀性。计算温度的均匀性。

注：若提取仪提取通道少于3个，则不做均匀性考察。

5.2.1.3 温度稳定性

测试提取仪温度设定为65℃时加热区域的温度稳定性。待提取仪温度稳定后，测试10 min，隔1 min记录一次所有测温点温度传感器测量平均值，这些平均值极差的一半，冠以±号表示温度的稳定性。

5.2.2 振动控制性能指标

5.2.2.1 振动频率示值误差

校准振动频率点选取提取仪频率设定最大值的20%(低)、50%(中)、80%(高)3个点，或者其他有实际需求的振动频率作为校准点。使用振动频率测量装置进行测量。

待提取仪稳定5 min后,设定待测频率值，分别测量低、中、高提取仪振动频率的示值，每个频率，测量3次，计算振动频率的示值误差。

注：若提取仪振动频率没有具体数值，则此项可以不做。

5.2.2.2 振动频率稳定性

测试提取仪振动频率设定为中等值时振动频率的稳定性。待提取仪振动稳定后，测试10 min，隔1 min记一次振动频率，10 min内测得的振动频率极差的一半，冠以±号表示振动频率的稳定性，计算振动频率的稳定性。

5.2.3 磁通量

采用特斯拉计或高斯计按说明安装好探头，将特斯拉计或高斯计探头的测量点贴紧磁棒端面进行测量，得出最高磁通量值，每根磁棒重复测量3次。

5.2.4 取液量控制性能指标（具备取液功能的提取工作站）

5.2.4.1 取液量示值误差

分别设定取液量为50μL、100μL、200μL，或者其他有实际需要的取液量作为校准点，超纯水作为被取液，选择一个通道，每个取液量测量3次，用电子天平称量所取液体质量，根据实验温度时水的密度，将所取液体的质量换算成体积，计算取液量的示值误差。

5.2.4.2 取液量重复性

测试取液量设定值为100μL时提取仪取液量的重复性，选择一个通道重复取液7次，用电子天平称量所取液体质量,根据实验温度时水的密度，将所取液体的质量换算成体积，计算不同取液量的重复性。

5.2.4.3 取液量一致性

测试取液量设定值为100μL时提取仪取液量的一致性，用提取仪的多通道取液器取液一次，用电子天平分别称量各通道取液的质量，根据实验温度时水的密度，将所取液体的质量换算成体积，所有通道取液体积的极差表示取液量的一致性，计算取液量的一致性。

注：若提取仪取液通道少于3个，此项可以不做。

5.3 应用性能

5.3.1 核酸完整度

选择琼脂糖凝胶电泳方法进行核酸完整度测定，根据条带位置 and 不同条带的荧光亮度分析综合计算评价核酸的完整性。

5.3.2 核酸纯度

采用微量紫外分光光度计测定260 nm、280 nm、230 nm 提取液的吸光度 OD₂₆₀、OD₂₈₀、OD₂₃₀，计算OD₂₆₀/OD₂₈₀、OD₂₆₀/OD₂₃₀，表征核酸纯度。

5.3.3 提取回收率

采用数字PCR仪或荧光定量PCR仪，结合配套检测试剂盒，测试核酸标准物质提取前后的浓度或拷贝数，按照公式（1）计算回收率。

$$\text{回收率} = \frac{\text{提取后总拷贝数}}{\text{提取前总投入拷贝数}} \times 100\%$$

公式（1）

- 提取后总拷贝数=数字 PCR 测定的提取后核酸的拷贝数浓度×提取的总体积
- 提取前总投入拷贝数=数字 PCR 测定的核酸标准物质拷贝数浓度×投入体积

5.3.4 交叉污染性

使用有效期内、经数字PCR方法定值的有证核酸标准物质和空白对照（DEPC水）作为测试样本。标准物质和空白对照的加样数量分别为提取仪提取孔位的一半，标准物质和空白对照按照棋盘式间隔分布，如图1和图2所示，提取完成后使用数字PCR仪或荧光定量PCR仪检测试剂盒测试样本的阳性或阴性状况，判断阳性样本会引起阴性样本的判断，引起假阳性。

96样本提取——96深孔板中强阳性样本和阴性样本加样示例，见图1。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

注：黑色部分为强阳性样本，白色部分为阴性样本。

图1 96深孔板中强阳性样本和阴性样本加样示例

16样本提取——96深孔板中强阳性样本和阴性样本加样示例，见图2。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

注：黑色部分为强阳性样本，白色部分为阴性样本，灰色部分为提取相关试剂、磁珠和提取后的核酸孔位。

图2：16样本提取——96深孔板中强阳性样本和阴性样本加样示例

5.3.5 核酸提取的一致性

选择核酸提取仪适配的核酸提取或纯化试剂盒，使用有效期内、经数字PCR方法定值的有证核酸标准物质，按照说明书操作方法在核酸提取仪上进行核酸提取，设置重复，数量不少于总通量的50%，采用数字PCR方法或qPCR检测核酸拷贝数或Ct值，并按照如下公式（2）计算一致性，判定结果是否符合≤15%的要求。

$$\text{一致性} = \frac{\text{提取后总拷贝数 RSD}}{\text{提取后总拷贝数平均值}} \times 100\% \quad \text{公式（2）}$$

- RSD=标准差/平均值×100%

5.4 综合评价

5.4.1 安装评价

对产品运输和安装过程中发生故障和服务的描述和评价。

5.4.2 培训评价

对培训内容和实操的全面性、针对性、专业性、应用案例等方面进行评价。

5.4.3 维修评价

对维修服务的及时性、所需备件的提供速度、维修期间备用产品的提供情况进行描述和评价。

5.4.4 操作评价

对仪器设备整体的易用性、容错性、可溯源性、扩展性、智能性等进行描述和评价。

5.4.5 软件评价

对界面的友好度、兼容性、稳定性等进行描述和评价。

5.4.6 配套试剂盒种类和三方试剂盒开放性

5.4.6.1 针对仪器设备提供的自研配套和第三方提取试剂盒种类描述和评价。

5.4.6.2 针对仪器设备适配的耗品，如深孔板、磁珠、程序储存等进行描述和评价。

参 考 文 献

- [1] 《检验检测机构资质认定管理办法》（修正案）（国家质量监督检验检疫总局令第163号）
 - [2] 《检验检测机构监督管理办法》（国家市场监督管理总局令第39号）
-