

浅析 DNA 测序仪校准的必要性及其控制管理要求

吴秋昀*

(安徽衡磊司法鉴定所, 合肥 230001)

摘要: 司法鉴定机构是出具司法鉴定意见书的专业机构, 有关司法鉴定意见书均具有法律效应。在法医物证领域, 其以实验室数据为基础, 进行分析判断, 出具结果。为保证出具的鉴定意见具有可靠性、权威性及公信力, 要求法医物证专业的实验室必须通过国家检验检测机构资质认定 (CMA), 建立起完善的质量管理体系, 规范实验室环境、实验设备及人员操作, 以获得准确可靠的鉴定结果。DNA 测序仪是法医物证专业中关键仪器设备之一, 为确保该设备在鉴定实验的过程中正常运行, 对该仪器在规定的周期内进行校准工作, 具有必要性。本文通过分析校准的特点和依据, 结合 DNA 测序仪的操作原理、校准等, 为法医物证实验室更好地进行质量控制管理提供参考。

关键词: DNA 测序仪校准; 法医物证; 检验检测机构资质认定; 仪器设备管理方法; 期间核查

0 引言

检验检测机构资质认定中分别对人员、仪器设备、原料、方法、环境等进行了要求, 仪器设备作为检测必备的工具之一, 对整个检测的结果具有重要影响, 为了保证其精确度, 必须对仪器设备进行检定与校准, 才能够更好地调整仪器设备的误差, 避免误差过大, 从而保证仪器设备准确, 数据可靠^[1]。

司法鉴定是运用科学技术手段, 对专门性问题做出判断结论的活动, 是科学且严谨的学科。法医物证鉴定是通过采集检材、提取 DNA 信息、实验、计算、分析等步骤, 得出科学结论的过程, 一般用于民事纠纷、刑事案件中, 为法律诉讼提供依据。正因为司法鉴定报告作为法庭书证之一, 更加要求鉴定结论的准确性, 因此, 司法鉴定机构及法医物证实验室应制定校准方案, 并进行复核和必要的调整, 以保持对校准状态的信心^[2], 其中维护设备运行的有效性尤为关键。随着 DNA 测序技术和校准方法的发展, DNA 测序仪校准可能成为司法鉴定质量控制的基石, 需要作为实验室管理的重要事项进行考量。

1 校准

1.1 校准的含义

计量是科学的检测, 是实现量值准确、同一的活动, 具有准确性、一致性、可溯源性和法制性的特点。量值溯源的

途径之一即为校准^[3], 该过程采用自底层至顶层的量值追踪手段, 构成机构确保量值精确性与可信度的关键策略。

所谓校准, 即在特定的设定下, 通过一系列的程序活动, 旨在明确测量设备或测量体系所展现的数值, 以及实体量具或参照物所表征的数值, 与测量标准所再现的相应数值之间的相互关系^[4]。采用更高层级的计量规范, 对测量设备的计量特性执行评价过程, 旨在确立待校准物体指示值与相应计量标准所呈现的量值之间的相互关系, 通过对该关系的审核及施行必要调整, 确保达成量值可追溯性的目标。

1.2 校准的特点

校准具备计量中的三大特点, 分别为准确性、一致性和可溯源性。

(1) 准确性是指检验检测的结果与被检验检测真值的一致程度。校准工作的根本是保证数据的准确可靠, 但在实际检验检测过程中, 不存在准确无误的测量结果, 出具的数据一定是与不确定度联系在一起的规范化的测量。因此校准时, 不仅是确定仪器设备的量值问题, 也必须了解到不确定的误差范围, 在出具量值的同时, 结合校准数据和不确定度进行校准确认^[5]。

(2) 一致性是指在计量单位统一的基础上, 即使在不同时间、地点、人物和采用的方式, 只要符合相关要求, 获得的测量结果应在等效区间或协议区间内保持一致。

(3) 可溯源性是对所有测量设备和计量标准的最基本要求^[6], 指任何一个测量结果或计量标准的量值, 都能追溯到

* 通信作者: 吴秋昀, 主检法医师, 研究方向为法医物证鉴定。E-mail: 303083761@qq.com

校准规范中规定的计量基准与不确定度范围内，使准确性和一致性得到技术保证。定期的检定校准，是保证检测结果准确的重要手段，是实施量值传递和溯源性的重要方法^[7]。

1.3 校准的依据

针对特定仪器设备的校准程序，其遵循的基准是与之相对应的国家计量校准规范。在缺乏特定校准项目的国家级计量标准规范的情况下，应优先选取公开颁布的国际、国家或区域性的标准与技术准则。此外，亦可采纳那些经过验证的校准手段，包括但不限于由权威技术机构、学科专业书籍或学术期刊公开的校准技术，设备生产商推荐的校准程序，以及实验室自主开发的校准方案，同时参考计量检定规程的相关章节。

2 DNA 测序仪的运行原理

毛细管技术和荧光检测技术被融合应用于 DNA 测序仪的运作机制中，其核心功能是对样本实施片段多态性分析，该分析涵盖片段长度的测定 (STR)、基因型的比较分析以及单核苷酸多态性 (SNP) 的探究等多个领域。电泳测序中，将带电的样本分子注入毛细管进样端 (即负极)。随后，在毛细管的两端施加直流电压，促使样本内不同长短的 DNA 片段从负极向正极方向迁移。通过电泳，这些带电的 DNA 片段依据其长度差异实现分离，依次穿过检测窗口，依据片段长度的顺序得以识别。含有荧光标记的 DNA 片段迁移至特定区域，激光束的照射引发荧光素发射出荧光。该荧光信号随即被 CCD 检测器捕获，并转化为电信号，进而传输至电脑系统，如图 1 所示。在接收到信号之后，工作站按照事先确立的程序进行初步的数据加工，随后将其存放于计算机系统的数据库中。在此基础上，操作平台依据预设的运行机制，对目标样品的 DNA 碱基序列或片段信息实施详尽的分析，将得出的结果数据实施存储保全。

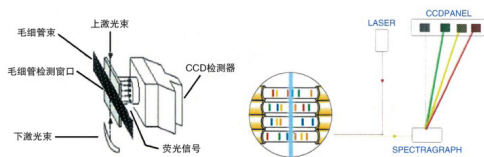


图 1 DNA 测序仪运行原理示意图

3 DNA 测序仪校准的必要性

3.1 实验频次的影响

本所法医物证鉴定近年来的工作重心一直是解决我国居民的“黑户”问题，即非婚生子女、出生证明信息错误等情况下，导致无法正常办理户口信息，亦或在领养、诉讼、公证等情况下，均需要通过司法亲子鉴定来确定亲子

关系。因此，社会需求不断上升，实验样本的数量一直增加，DNA 测序仪的使用频次也不断提高，其稳定性与规范性均需要通过定期校准来得以实现。

3.2 环境变化的影响

一般来说，法医物证实验室中 DNA 测序仪会放置在固定的实验室内，通常要求环境温度保持在 10℃ 至 35℃ 之间，相对湿度应保持 10% 至 80% 之间，确保电源稳定，避免电压波动；工作台需稳固，避免振动；设备周围应有足够空间，确保散热良好，避免灰尘和污染物。

温度过高或过低都可能导致运行异常或故障；高湿度条件有可能会使设备内部出现凝结现象，进而可能诱发电路短路或金属腐蚀；湿度不足的环境极易诱发静电，进而对设备的正常运行造成干扰。若持续暴露于不适宜的温度与湿度条件下，设备的退化速率将显著提升，影响实验结果的可比性。

因此，通过监控和调节温湿度，进行定期校准，可以有效保障测序仪的正常运行和数据的准确性。

3.3 标准规范的影响

随着社会发展，科技不断赋能司法鉴定，计量要求将不断提高，计量方法和计量方式也将与时俱进、保持革新。在未来的鉴定工作中，我们需要保持专业灵敏度，了解最新且适用的校准标准，选择相对合适的计量方式，通过校准与核查等结果，来判断仪器设备是否满足继续使用的条件。

3.4 实验人员操作的影响

不同状态、不同型号的仪器设备，不同操作人员的个人实验习惯不同，都可能导致设备性能、数据质量及实验结果的差异。除了建立标准化流程、加强监督与反馈、制定定期维护计划，确保设备处于最佳状态以外，可利用设备校准来确保测序仪的正常运行和数据的准确性。

以上多种因素相互作用，在不同状态下对仪器设备的使用均会产生不同程度的影响。

目前，国家级检验检测机构资质认定参考的标准体系文件有中国国家认证认可监督管理委员会发布的《检测和校准实验室能力的通用要求》(GB/T 27025—2019)^[2]、《检测实验室安全 第 1 部分：总则》(GB/T 27476.1—2014)^[8]等。司法鉴定行业多采用国家推荐使用的标准 (GB/T) 或司法鉴定行业规范 (SF) 等，而《遗传分析仪校准规范》(JJF 1838—2020)^[9] 由中国计量科学院及公安部物证鉴定中心联合编写发布，且校准规范中未明确本行业需采用的具体规范。而标准化的实质就是要最大化地减低人为因素所致的主观性、随意性^[10]。

尽管当前 DNA 测序仪的校准工作在大多数的司法鉴定机构中尚未得以普及，但从该仪器设备的运行原理、

常规实验环境以及使用更新需求来看，预计未来一段时间内，DNA 测序仪的校准工作将逐渐得到行业的广泛认可，并有效实施和推广。

4 DNA 测序仪管理的实施

4.1 校准

DNA 测序仪是一种定性的仪器，通过实验获得的数据峰值直接影响实验结果，所涉及的重要的环节有毛细管进样、CCD 检测器识别信号与转换信号等。然而，上述环节产生的不确定度和偏差的允许范围尚无明确标准。因此，定期开展 DNA 测序仪的校准工作具有一定程度的必要性。

(1)制定校准计划：在 DNA 测序仪正式使用之前，或使用周期之间，必须根据仪器设备的使用情况来制定客观有效的校准计划，以满足一定周期内的检验检测要求。

(2)校准的方法：《遗传分析仪校准规范》(JJF 1838—2020)于 2021 年 1 月 2 日起实施，适用于基于毛细管电泳原理的遗传分析仪的校准。该校准规范的发布实行，表示该校准方法的有效性已得以充分论证，因此在法医物证领域中，DNA 测序仪的校准方法可参照此校准规范来进行。

(3)实施校准的步骤

参照《遗传分析仪校准规范》(JJF 1838—2020)，在特定的环境条件下，使用校准用标准物质，进行校准实验。

①开机自检。②以电阻率 18 M Ω 的蒸馏水为样本进行电泳，记录基线 45 min，按公式计算基线噪声。③使用规定的荧光标记 DNA 片段长度混合标准物质为样本进行电泳，导出记录每个毛细管道片段 DNA 标准物质原始测量谱图的相对迁移时间和峰面积，连续测量 5 次并按公式要求计算相对迁移时间和峰面积的标准偏差。④导出数据并记录每个毛细管管道 DNA 片段的原始测量谱图的峰面积，取 5 次测量平均值，按公式计算相对标准偏差作为通道差异。⑤将荧光标记 DNA 片段长度标准物质作为样本，连续进样 3 次，用仪器自带软件导出并记录片段 DNA 标准物质原始谱图的峰高，来计算峰高的算术平均值。通过以上步骤确定有效的数值范围和不确定度的范围。实验所获得的数据结果需详细地载入校准记录中，由校准机构颁发校准证书。

因校准是测量仪器计量确认的一个环节^[11]，系自下而上的计量方式，通过精细化层级化的参数管理，能够显著提升 DNA 测序仪的数据可靠性，尤其适用于司法鉴定中“可追溯、可复现”的技术要求。作为企业单位，可根据实验室的日常使用频率，在保证 DNA 测序仪功能完好的基础上，自行确定校准周期。

4.2 DNA 测序仪的其他管理方法

4.2.1 仪器设备的期间核查

虽然测量仪器或计量标准检定证书中给出了有效期，但实际并不能确保在此期间其技术性能始终维持在允许的范围内^[12]。在两次校准周期中的一次核查叫做期间核查^[13]。

按照 JJF 1001—2018《通用计量术语及定义》的定义，期间核查是设备按照规定程序验证其功能或计量特性是否持续满足方法要求或规定要求而进行的操作。实验室需制定一个可操作性的期间核查程序，以保证测量设备期间核查工作的一致性^[14]。该核查过程专注于评估设备的指示读数，或者其相应的修正值及修正系数，是否仍旧处于既定的最大容许误差范围之内，或是扩展不确定度，以及准确度等级的标准界限内^[15]。对仪器设备实施周期性的核查，构成了检测实验室量值溯源策略框架的关键组成部分。目前，基层检测实验室从经济性、实用性、可靠性、可行性等方面综合考虑使用最多的是用标准物质核查，实验室间比对和仪器间比对^[16]。

DNA 测序仪的期间核查工作具体为：在满足测序实验要求的环境条件下，使用有效标准物质或已确认结果的样本，通过扩增电泳实验，分析实验数据结果，确认获得的数据峰值的准确性、完整性及均衡性等。

实验室应根据设备的稳定性和使用情况来确定是否需要进行期间核查。对于需要进行期间核查的设备，在技术上可行时，实验室应确定期间核查的方法与周期，并保存核查记录^[17]。通常情况下，可依据具体情境适度调整核查的频次，以实现最优化的核查效果。

4.2.2 仪器设备的日常维护与保养

DNA 测序的过程依赖于环境与仪器的协同作用，硬件与软件的高度配合。因此，DNA 测序仪的日常维护保养需要综合考虑多方面因素的相互影响。

环境方面，合理配置空调和除湿器等设备，严格控制实验室的温湿度，每日记录相关数据，尽可能维持稳定的环境条件。软件方面，需重点注意操作流程。硬件方面，主要指实验人员对仪器设备的操作使用。耗材需选取高纯度甲酰胺，避免反复冻融；2~8℃保存电泳胶，不同种类的电泳胶不可混用；使用电阻率为 18.2 M Ω 的蒸馏水；新鲜配制及定期更换缓冲液。

5 实例

XX 市 XX 计量检测技术有限公司受安徽 XX 鉴定所委托，对 ABI3130xl 型基因分析仪进行校准工作。该公司的校准依据为“仪器说明书”，并且校准人员未对仪器进行实验检测，最终出具该仪器设备的校准证书(如图 2 所示)。

校准结果是为了确认被校仪器是否满足特定的检验工作要求，不能仅通过查看其是否符合说明书规定，也要按照有关标准的要求，通过实验得出客观实验数据，结合日常工作中的数据，进一步确认该仪器的正常运行状态。

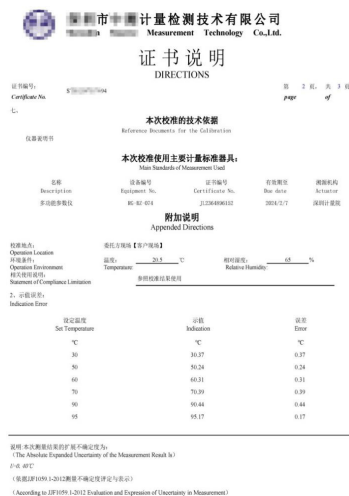


图 2 XX 检测公司出具的校准证书

6 结论

DNA 测序技术一直是分子生物学相关研究中最常用的技术手段之一，一定程度上推动了该领域的快速发展^[18]。当下法医物证专业中户籍类常规业务持续收缩，考虑到实验室内多种仪器设备校准费用的累加，选择以功能核查作为 DNA 测序仪的功能检测方法仍较为普遍。通过对仪器设备的检定和校准才能最大程度地减少设备的误差，实现准确的提升，避免因误差而出现的非必要损失，从而得到质量较高的样品和数据^[19]。日常维护和期间核查是基础，校准是更正式的验证，通过验证仪器灵敏度、分辨率、重复性等关键性能参数，实验人员确认仪器符合标准。通过定期校准来建立设备全生命周期档案，为应对外部评审、司法质证提供可追溯的技术证据链。校准与日常维护、期间核查形成三级质控网络，既可以弥补期间核查的局限性，也能够预防因设备隐性能衰减引发的系统性风险。

法医物证鉴定通过技术纵深发展(复杂疑难亲缘、特殊遗传标记的溯源分析、二代测序等)与质量管理升级(设备校准驱动数据可信度)持续巩固司法公信力。作为与国家标准乃至国际标准的接轨，科学校准是未来发展的方向。DNA 测序仪的校准不仅是技术合规动作，更是实验室应对新兴鉴定需求、参与行业标准制定的战略性能力建设环节，为司法公正提供“零误差”的科学支撑，有助法医物证学实验室更好服务于司法公正，确保每一项法医检测的准确无误，提升司法程序运行效率^[20]。

参考文献

- [1] 吴磊, 郭苏平. 仪器设备检定和校准的必要性及注意事项[J]. 中国新技术新产品, 2019, (5): 79-80.
- [2] 中华人民共和国国家市场监督管理总局. 国家标准化委员会. 检测和校准实验室能力的通用要求: GB/T 27025—2019[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- [3] 马宏伟. 特种设备检验机构仪器设备的量值溯源探讨[J]. 中国机械, 2014, (17): 26-27.
- [4] 陈明波. 浅析检测机构仪器设备的计量检定/校准管理[J]. 现代测量与实验室管理, 2016, (6): 58-59.
- [5] 黄鹏辉, 常振元, 李博, 等. 对特种设备检验仪器校准结果确认的探讨[J]. 特种设备安全技术, 2019, (4): 54-55.
- [6] 郑朕, 万雯婷. 浅议期间核查与检定校准的区别[J]. 中国科技投资, 2013: 102.
- [7] 赵慧娟. 测量设备期间核查的探讨[J]. 金属材料与冶金工程, 2024, 52(6): 51-53.
- [8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 检测实验室安全第1部分: 总则: GB/T 27476.1—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [9] 国家市场监督管理总局. 遗传分析仪校准规范: JJF 1838—2020[S]. 北京: 中国标准出版社, 2020.
- [10] 何晓丹, 李成涛. 法医物证鉴定专业标准体系构建[J]. 中国司法鉴定, 2016, (6): 27-31.
- [11] 赵志荣. 试验仪器设备检定和校准的必要性及注意事项[J]. 山西建筑, 2016, 42(18): 240-241.
- [12] 黄成芬. 期间核查的实施及判定方法[J]. 大众科技, 2013, 15(162): 26-27.
- [13] 陈夏芬, 刘杏利, 郑泽纯. 浅谈实验室设备管理[J]. 中国检验检测, 2024, (5): 171-174.
- [14] 张锋, 陈永红, 李振宇. 实验室测量设备示值误差的期间核查方法应用研究[J]. 中国检验检测, 2024, (1): 67-69.
- [15] 何飞, 王曼霞, 高绪慧, 等. 检测实验室如何进行仪器设备的期间核查[J]. 中国计量, 2017, (12): 77-78.
- [16] 胡丹东, 崔玉娟. 对基层检测实验室仪器期间核查的理解和实施[J]. 天水师范学院学报, 2011, 31(2): 139-141.
- [17] 中国合格评定国家认可委员会. 检测和校准实验室能力认可准则的应用要求: CNAS-CL01-G001[S]. 北京: 中国合格评定国家认可委员会, 2024.
- [18] 谢浩, 赵明, 胡志迪, 等. DNA测序技术方法研究及其进展[J]. 生命的化学, 2015, 35(6): 811-816.
- [19] 王艳丽. 仪器设备检定和校准的必要性及注意事项[J]. 中国机械, 2019, (9): 32-33.
- [20] 石卫胜, 王兵, 李曼曼, 等. 加强法医物证学实验室建设和管理的探索[J]. 法制博览, 2024, (10): 85-87.