

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 9 月 17 日 (17.09.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/181602 A1

(51) 国际专利分类号:
C12Q 1/6851 (2018.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2019/081772

(22) 国际申请日: 2019 年 4 月 8 日 (08.04.2019)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201910192256.X 2019年3月14日 (14.03.2019) CN

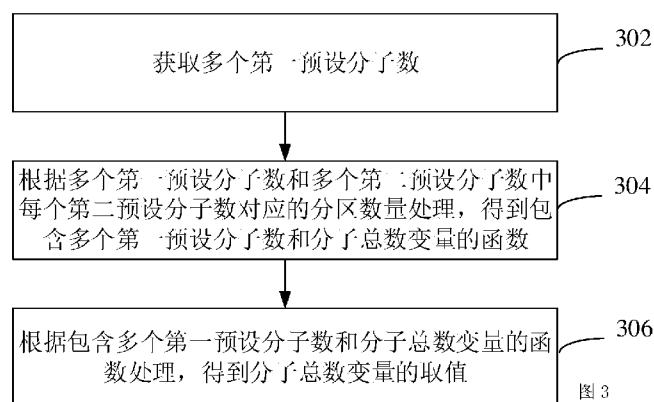
(71) 申请人: 深圳市检验检疫科学研究院 (SHENZHEN ACADEMY OF INSPECTION AND QUARANTINE) [CN/CN]; 中国广东省深圳市福田区福强路 1011 号 B 栋 1209 室,

Guangdong 518045 (CN)。中国科学院深圳先进技术研究院 (SHENZHEN INSTITUTES OF ADVANCED TECHNOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区西丽大学城学苑大道 1068 号, Guangdong 518055 (CN)。深圳国际旅行卫生保健中心 (SHENZHEN INTERNATIONAL TRAVEL HEALTH CARE CENTER) [CN/CN]; 中国广东省深圳市福田区皇岗口岸生活区 1 号综合楼, Guangdong 518033 (CN)。

(72) 发明人: 夏贇 (XIA, Yun); 中国广东省深圳市福田区福强路 1011 号 B 栋 1209 室, Guangdong 518045 (CN)。顾大勇 (GU, Dayong); 中国广东省深圳市福田区福强路 1011 号 B 栋 1209 室, Guangdong

(54) **Title:** ABSOLUTE QUANTIFICATION METHOD AND DEVICE, COMPUTER APPARATUS, AND STORAGE MEDIUM

(54) 发明名称: 绝对定量方法、装置、计算机设备和存储介质



302 Obtain multiple first preset numbers of molecules

304 Perform processing according to the multiple first preset numbers of molecules and a quantity of partitions corresponding to each of multiple second preset numbers of molecules, so as to obtain a function including the multiple first preset numbers of molecules and a variable for the total number of molecules

306 Perform processing according to the function including the multiple first preset numbers of molecules and the variable for the total number of molecules, so as to obtain the value of the variable for the total number of molecules

(57) **Abstract:** An absolute quantification method, comprising: obtaining multiple first preset numbers of molecules; performing processing according to the multiple first preset numbers of molecules and a quantity of partitions corresponding to each of multiple second preset numbers of molecules, so as to obtain a function including the multiple first preset numbers of molecules and a variable for the total number of molecules; and performing processing according to the function including the multiple first preset numbers of molecules and the variable for the total number of molecules, so as to obtain the value of the variable for the total number of molecules.

(57) **摘要:** 一种绝对定量方法, 包括: 获取多个第一预设分子数; 根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数; 根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到分子总数变量的取值。

518045 (CN)。董瑞玲(DONG, Ruiling); 中国广东省深圳市福田区福强路1011号B栋1209室, Guangdong 518045 (CN)。陈艳(CHEN, Yan); 中国广东省深圳市南山区西丽大学城学苑大道1068号, Guangdong 518055 (CN)。刘笔锋(LIU, Bifeng); 中国湖北省武汉市华中科技大学生命科学与技术学院, Hubei 430074 (CN)。何建安(HE, Jianan); 中国广东省深圳市福田区福强路1011号B栋1209室, Guangdong 518045 (CN)。徐云庆(XU, Yunqing); 中国广东省深圳市福田区皇岗口岸生活区1号综合楼, Guangdong 518033 (CN)。谢聪贤(XIE, Congxian); 中国广东省深圳市福田区皇岗口岸生活区1号综合楼, Guangdong 518033 (CN)。陈枝楠(CHEN, Zhinan); 中国广东省深圳市福田区福强路1011号B栋1209室, Guangdong 518045 (CN)。

(74) 代理人: 广州华进联合专利商标代理有限公司(ADVANCE CHINA IP LAW OFFICE); 中国广东省广州市天河区珠江东路6号4501房(部位: 自编01-03和08-12单元)(仅限办公用途), Guangdong 510623 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

绝对定量方法、装置、计算机设备和存储介质

相关申请的交叉引用

本申请要求于 2019 年 03 月 14 日提交中国专利局、申请号为 201910192256.X、发明名称为“绝对定量方法、装置、计算机设备和存储介质”的中国专利申请的优先权，其全部内容通过引用结合在本申请中。

技术领域

本申请涉及计算机技术领域，特别是涉及一种绝对定量方法、装置、计算机设备和计算机存储介质。

背景技术

随着分子生物学技术的发展，出现了 dPCR (Digital Polymerase Chain Reaction, 数字多聚酶链式反应) 技术，它是一种核酸分子绝对定量技术。dPCR 是一种常规聚合酶链反应方法的生物技术改进，可用于包括 DNA, cDNA 或 RNA 等克隆扩增核酸链的直接绝对定量。传统的 dPCR 绝对定量方法通过将一个样本体系分成几百、几万甚至上千万份，分配到不同的反应分区，每个分区包含 0 或 1 个拷贝的目标分子，在每个反应分区中分别对目标分子进行 PCR 扩增，扩增结束后对各个反应分区的荧光信号进行统计学分析，从而计算出溶液中的核酸分子数。然而目前的绝对定量方法，容易出现随机误差而导致绝对定量结果不准确。

发明内容

本申请实施例提供一种绝对定量方法、装置、计算机设备和计算机存储介质。

一种绝对定量方法，所述方法包括：获取多个第一预设分子数；根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数；根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到分子总数变量的取值。

一种绝对定量装置，所述装置包括：获取模块，用于获取多个第一预设分子数；函数求取模块，用于根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数；分子总数确定模块，用于根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到分子总数变量的取值。

一种计算机设备，包括存储器和处理器，所述存储器存储有计算机程序，所述处理器执行所述计算机程序时实现以下步骤：获取多个第一预设分子数；根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数；根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到分子总数变量的取值。

一种计算机可读存储介质，其上存储有计算机程序，所述计算机程序被处理器执行时实现以下步骤：获取多个第一预设分子数；根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数；根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到分子总数变量的取值。

本发明的一个或多个实施例的细节在下面的附图和描述中提出。本发明的其它特征、目的和优点将从说明书、附图以及权利要求书变得明显。

附图说明

为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案，下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍，显而易见地，下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例，对于本领域普通技术人员来讲，在不付出创造性劳动的前提下，还可以根据这些附图获得其他的附图。

图 1 为一个实施例中绝对定量方法的应用环境图。

图 2 为另一个实施例中绝对定量方法的应用环境图。

图 3 为一个实施例中绝对定量方法的流程示意图。

图 4 为另一个实施例中绝对定量方法的流程示意图。

图 5 为一个实施例中预设面积参数为 1、5、25 和 125 的多重阵列对应的分子分布以及曲线示意图。

图 6 为另一个实施例中预设面积参数为 1、5、25 和 125 的多重阵列对应的分子分布以及曲线示意图。

图 7 为一个实施例中预设面积参数为 1、5、25 和 125 的多重阵列分子分布以及算法结果验证示意图。

图 8 为另一个实施例中预设面积参数为 1、5、25 和 125 的多重阵列分子分布以及算法结果验证示意图。

图 9 为一个实施例中四种绝对定量方法的动态范围对比示意图。

图 10 为一个实施例中单分散体积数字 PCR 的定量置信水平为 95% 的边界分布曲线示意图。

图 11 为一个实施例中获取多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量的示意图。

图 12 为一个实施例中通过本申请实施例中的绝对定量方法和泊松单点估计计算方法的结果示意图。

图 13 为一个实施例中将已知分子总数的分子散落在阵列中的示意图。

图 14 为另一个实施例中将已知分子总数的分子散落在阵列中的示意图。

图 15 为一个实施例中绝对定量装置的结构框图。

图 16 为一个实施例中计算机设备的内部结构图。

具体实施方式

为了使本申请的目的、技术方案及优点更加清楚明白，以下结合附图及实施例，对本申请进行进一步详细说明。应当理解，此处描述的具体实施例仅仅用以解释本申请，并不用于限定本申请。

本申请实施例中提供的绝对定量方法，可以应用于如图 1 所示的应用环境中。其中，终端 102 可以但不限于各种个人计算机、笔记本电脑、智能手机、平板电脑和便携式可穿戴设备。

本申请实施例中提供的绝对定量方法，还可以应用于如图 2 所示的应用环境中。其中，PCR (Polymerase Chain Reaction, 多聚酶链式反应) 检测终端 202 可以但不限于是 PCR 检测芯片、PCR 多孔板、各类荧光显微镜光学传感器、普通 PCR 仪、梯度 PCR 仪、原位 PCR 仪、实时荧光定量 PCR 仪或数字 PCR 仪等。终端 204 可以但不限于是各种个人计算机、笔记本电脑、智能手机、平板电脑和便携式可穿戴设备。

在一个实施例中，如图 3 所示，提供了一种绝对定量方法，以该方法应用于图 1 中的终端 102 或图 2 中的终端 204 为例进行说明，包括：

步骤 302，获取多个第一预设分子数。

其中，第一预设分子数是指在终端中预存储的第一预设分子参数对应的多个数值。其中，第一预设分子数中最少包含 0 个、1 个和 2 个，还可以包含 3 个、4 个和 5 个，或者更多，等等不限于此。

具体地，终端获取多个第一预设分子数。例如第一预设分子数为 k ，则获取 $k=0$ 、 $k=1$ 、 $k=2$ 、 $\dots$ 、 $k=100$ 等等但不限于此。

步骤 304，根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理，得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数。

其中，第二预设分子数的数量不限，第二预设分子数中至少包含 0，还可以包含 1、2、3、4 和 5，或者更多，等等不限于此。每个第二预设分子数对应的分区数量至少包括第二预设分子数为 0 时对应的分区数量。则终端根据分区总数和 0 对应的分区数量，可得到 1 对应的分区数量。第二预设分子数的个数少于或等于第一预设分子数的个数。例如第一预设分子数为 0、1、2、3、4 和 5，共 6 个，那么第二预设分子数可以为 0 和 1，共 2 个。每个第二预设分子数对应的分区数量可以通过终端模拟或者从 PCR (Polymerase Chain Reaction, 多聚酶链式反应) 检测终端中通过判定算法得到。

具体地，终端获取多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量。例如，在阵列中

有 256 个分区，在 256 个分区中无分子对应的分区数量为 255 个，1 个分子对应的分区数量为 1，2 个分子对应的分区数量为 0，3 个分子对应的分区数量为 0 等但不限于此。终端根据多个第一预设分子数，以及多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理，得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数。

5 该包含分子总数变量的函数可用于表征多个第一预设分子数与每个第一预设分子数对应的分区数量的函数关系。例如终端将第一预设分子数作为 x 轴中的变量，第一预设分子数对应的分区数量作为 y 轴中的变量。

本实施例中，终端根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量，进行拟合或者插值处理得到包含分子总数变量的函数。其中，插值法又称内插法，是利用
10 在某区间中已知的若干点的函数值作出适当的特定函数的方法。例如已知多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量，则可再根据第一预设分子数作出包含第一预设分子数和分子总数变量的函数。插值可以通过拉格朗日插值法、牛顿插值法、牛顿迭代法、区间二分法、弦截法、雅克比迭代法或牛顿科特斯数值积分法等方法，进行插值计算得到包含分子总数变量的函数。

本实施例中，终端还可以根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数
15 对应的分区数量，以及每个第一预设分子数对应的权重，得到包含分子总数变量的函数。

本实施例中，终端还可以根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量进行拟合或插值处理，得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数。

步骤 306，根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理，得到分子总数变量的取值。

具体地，终端根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数求解得到分子总数变量的取值。

20 上述绝对定量方法中，通过获取多个预设分子数，并根据多个第一预设分子数、和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含第一预设分子数和分子总数变量的函数，根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到分子总数变量的取值，能得到多个第一预设分子数和分子总数之间的关系，且能得到较多的分子数对应的信息，例如每个第一预设分子数对应的分区数量等，避免因仅用第二预设分子数为 0 和 1 时计算分子总数而导致的随机误差，使绝对定量结果更加准确，并且拓宽了动态范围。
25

在一个实施例中，如图 4 所示，根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数，包括：

步骤 402，获取多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值。

其中，预设面积参数的值是指一个阵列中的每个分区对应的面积参数的值。多个预设面积参数的
30 值是指多个阵列中的每个阵列中的每个分区对应的面积参数的值。预设体积参数的值是指一个阵列中的每个分区对应的体积参数的值。多个预设体积参数的值是指多个阵列中的每个阵列中的每个分区对应的体积参数的值。其中，预设面积参数的值和预设体积参数的值可呈等比排列，也可呈其他形式。

具体地，终端获取多个预设面积参数的值或者多个预设体积参数的值。例如，预设面积参数为 A，
35 第一阵列中的每个分区对应的面积参数的值为 1，第二阵列中每个分区对应的面积参数的值为 5，第三阵列中每个分区对应的面积参数的值为 25，第四阵列中每个分区对应的面积参数的值为 125。

步骤 404，根据多个第一预设分子数，和多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值，得到每个
预设面积参数的值或每个体积参数的值的每个第一预设分子数对应的包含分子总数变量的期望值函数。

其中，每个面积参数的值或每个体积参数的值的每个第一预设分子数对应的包含分子总数变量的
40 期望值函数可用于表征每个第一预设分子数与对应的分区数量的函数关系。

具体地，终端根据多个第一预设分子数和多个预设面积参数的值，得到每个预设面积参数的值的
每个第一预设分子数对应的包含分子总数变量的期望值函数。或者，终端根据多个第一预设分子数和
多个预设体积参数的值，得到每个预设体积参数的值的每个第一预设分子数对应的包含分子总数变量的
期望值函数。

45 本实施例中，例如多重体积多元泊松分布模型函数，即期望值函数为

$f(A, k, \lambda) = E(C_{A,k}) = n \times (A \times m/n)^k \times e^{-A \times m/n} / k! = n \times (A \times \lambda)^k \times e^{-A \times \lambda} / k!$, 其中 k 为第一预设分子数, m 为分子总数, n 为分区数, 分区数为一个常量。 λ 为平均分子数, 即分子总数和分区数的比值。 f 为待拟合模型函数, A 为预设面积参数或预设体积参数, $E(C_{A,k})$ 为预设面积参数或预设体积参数为 A 中的第一预设分子数为 k 的分区数量 $C_{A,k}$ 的期望。下表 1 以 k 取 0、1、2 和 3 为例, 得到每个预设面积参数的值的每个第一预设分子数对应的包含分子总数变量的期望值函数。

表 1

$A \backslash k$	0	1	2	3
1	$n \times e^{-m/n}$	$m \times e^{-m/n}$	$n \times (m/n)^2 \times e^{-m/n} / 2$	$n \times (m/n)^3 \times e^{-m/n} / 6$
5	$n \times e^{-5 \times m/n}$	$5 \times m \times e^{-5 \times m/n}$	$n \times (5 \times m/n)^2 \times e^{-5 \times m/n} / 2$	$n \times (5 \times m/n)^3 \times e^{-5 \times m/n} / 6$
25	$n \times e^{-25 \times m/n}$	$25 \times m \times e^{-25 \times m/n}$	$n \times (25 \times m/n)^2 \times e^{-25 \times m/n} / 2$	$n \times (25 \times m/n)^3 \times e^{-25 \times m/n} / 6$
125	$n \times e^{-125 \times m/n}$	$125 \times m \times e^{-125 \times m/n}$	$n \times (125 \times m/n)^2 \times e^{-125 \times m/n} / 2$	$n \times (125 \times m/n)^3 \times e^{-125 \times m/n} / 6$

步骤 406, 根据期望值函数, 和每个预设面积参数或每个预设体积参数的每个第二预设分子数对应的分区数量, 处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数。

其中, 拟合函数是根据每个第二预设分子数对应的分区数量对包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数进行拟合得到的函数。

具体地, 终端根据每个预设面积参数的值的每个第一预设分子数对应的包含分子总数变量的期望值函数, 和每个预设面积参数的每个第二预设分子数对应的分区数量, 得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数。

终端根据每个预设体积参数的值的每个第一预设分子数对应的包含分子总数变量的期望值函数, 和每个预设体积参数的每个第二预设分子数对应的分区数量, 得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数。该拟合函数可用于表征多个第一预设分子数与每个第一预设分子数对应的分区数量的函数关系。

本实施例中, 例如第二预设分子数对应的分区数量如表 2:

表 2

$A \backslash k$	0	1	2	3
1	251	5	0	0
5	218	36	2	0
25	136	89	24	6
125	16	32	44	60

则根据表 2 的数据以及表 1 的期望值函数, 可得到拟合函数的表达式 $SSE(f) = \sum [f - y]^2$, 拟合函数的形式不限于此。拟合函数的表达式中仅包含 m 一个未知变量, y 为第二预设分子数对应的分区

数量。那么该拟合函数中包括 16 个求和项，能得到包含多个第一预设分子数、预设面积参数和分子总数变量的拟合函数。

根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到分子总数变量的取值，包括：

步骤 408，根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数处理，得到多个预设面积参数或多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值。

其中，多个预设面积参数或多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值即为多个阵列的一个分子总数变量的取值。其中每个阵列中的分区对应一个预设面积参数或者预设体积参数。

具体地，终端根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数处理得到多个预设面积参数或多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值。例如共有 4 个预设面积参数，每个预设面积参数对应一个阵列，阵列 1、阵列 2、阵列 3 和阵列 4，那么终端根据拟合函数处理得到阵列 1、阵列 2、阵列 3 和阵列 4 中的分子总数的总和。

本实施例中，终端可通过牛顿迭代法等计算方法对包含多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数进行计算，则当拟合函数 $SSE(f) = \sum [f - y]^2$ 的值达到最小值时，确定最小值对应的分子总数变量的取值。

上述绝对定量方法中，通过获取多个预设面积参数的值或者多个预设体积参数的值，并得到期望值函数，从而得到拟合函数，处理得到分子总数变量的取值，能得到不同面积或体积下的每个预设分子数对应的期望值函数，减少不同面积或体积对应的期望值函数和每个第二预设分子数对应的分区数之间的误差，并减少因面积或体积变化而引起的绝对定量误差，且无论是分子总数多少，即无论分子的浓度多少，都能对分子总数进行定量，提高了绝对定量的动态范围、绝对定量的准确性以及绝对定量的分辨率。

在一个实施例中，根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数，包括：

步骤 (a1)，获取多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值。

步骤 (a2)，根据多个第一预设分子数，和多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值，以及同一预设面积参数的值或同一预设体积参数的值对应的每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到每个预设面积参数的值或每个预设体积参数的值对应的包含第一预设分子数和分子总数变量的函数。

其中，每个预设面积参数的值或每个预设体积参数的值对应的包含第一预设分子数和分子总数变量的函数是指每一个预设面积参数的值或预设体积参数的值对应一个函数，即每一个预设面积参数的值对应一个包含第一预设分子数和分子总数变量的函数；每一个预设体积参数的值对应一个包含第一预设分子数和分子总数变量的函数。

具体地，终端根据多个第一预设分子数和多个预设面积参数的值，以及每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到每个预设面积参数的值对应的包含第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数或者插值函数。或者，终端根据多个第一预设分子数和多个预设体积参数的值，以及每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到每个预设体积参数的值对应的包含第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数或者插值函数。

本实施例中，如表 1 和表 2，终端根据多个第一预设分子数 k 和多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值 A ，得到函数 $f(A, k, \lambda) = n \times (A \times m / n)^k \times e^{-A \times m / n} / k! = n \times (A \times \lambda)^k \times e^{-A \times \lambda} / k!$ 。再根

据每个第二预设分子数对应的分区数量 y ，处理得到拟合函数 $SSE(f) = \sum [f - y]^2$ 。例如当 $A=1$ 时，拟合函数为：

$$SSE(f) = \left[\left(n \times e^{-m/n} - 251 \right)^2 + \left(m \times e^{-m/n} - 5 \right)^2 + \left(n \times (m/n)^2 \times e^{-m/n} / 2 - 0 \right)^2 + \left(n \times (m/n)^3 \times e^{-m/n} / 6 - 0 \right)^2 \right]$$

可依次得到 A=5、A=25 和 A=125 时的拟合函数。

本实施例中，终端根据多个第一预设分子数和多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值，以及每个第二预设分子数对应的分区数量，进行插值计算，得到每个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的包含第一预设分子数和分子总数变量的插值函数。例如终端只获取到第二预设分子数为 0、1、2 和 3 对应的分区数量，进行插值计算，可以得到包含第一预设分子数为 0、1、2、3、4、...、100 等等和分子总量的插值函数 $f(k)$ 。或者终端可根据任意第二预设分子数对应的分区数量中的 3 个数值点确定一个插值函数，然后评估第 4 个点拟合的不确定度等，以确定第 4 个点与该任意 3 个点之间的误差，那么可得到 4 个插值结果。终端从 4 个插值结果中选取偶然误差最小的结果作为第 4 个点的数据。

根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到分子总数变量的取值，包括：

步骤 (a3)，根据每个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的包含分子总数变量的函数处理，得到多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的分子总数变量的取值。

具体地，终端根据每个预设面积参数的值对应的包含分子总数变量的拟合函数或者插值函数，处理得到多个预设面积参数的值对应的分子总数变量的取值。或者，终端根据每个预设体积参数的值对应的包含分子总数变量的拟合函数或者插值函数，处理得到多个预设体积参数的值对应的分子总数变量的取值。

本实施例中，终端可根据每个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的包含分子总数变量的拟合函数，处理得到多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的分子总数变量的取值。具体地，终端通过牛顿迭代法等方式对每个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的包含分子总数变量的拟合函数进行计算。当每个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的拟合函数达到最小值时，确定最小值对应的分子总数变量的取值。终端对每个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的分子总数变量的取值进行求和，得到多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的分子总数变量的取值。

本实施例中，终端可根据每个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的包含分子总数变量的插值函数处理得到多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的分子总数变量的取值。具体

$$m = \int_0^{+\infty} f(A, k, m) \times k dk$$

地，设插值函数为 $f(k)$ ，则有 $m = \int_0^{+\infty} f(A, k, m) \times k dk$ ，由于式子中仅有 m 一个未知数，则可得到每个预设面积参数或多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值。终端对每个预设面积参数或多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值进行求和，则得到多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的分子总数变量的取值。

上述绝对定量方法中，通过获取多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值，处理得到包含第一预设分子数和分子总数变量的函数，得到多个预设面积参数的值或多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值，能得到不同面积或不同体积下的分子总数变量的取值，减少因面积或体积变化而引起的绝对定量误差，并且无论是分子总数多少，即无论分子的浓度多少，都能对分子总数进行定量，提高了绝对定量的动态范围、绝对定量的分辨率以及绝对定量的准确性。

在一个实施例中，如图 5 所示，为一个实施例中预设面积参数为 1、5、25 和 125 的多重阵列对应的分子分布以及曲线示意图。其中，502 是指面积=256 对应的曲线，504 是指面积=1280 对应的曲线，506 是指面积=6400 对应的曲线，508 是指面积=32000 对应的曲线。如图 6 所示，为另一个实施例中预设面积参数为 1、5、25 和 125 的多重阵列对应的分子分布以及曲线示意图。其中，602 是指面积=256 对应的曲线，604 是指面积=1280 对应的曲线，606 是指面积=6400 对应的曲线，608 是指面积=32000 对应的曲线。其中，以四个阵列为例，每个阵列中有 256 个分区，即分区总数为 256。面积=256 是当预设面积参数为 1 时的阵列面积，即阵列面积=1×256=256。面积=1280 是当预设面积参数为 5 时的阵列面积，即阵列面积=5×256=1280。面积=6400 是当预设面积参数为 25 时的阵列面积，即阵列面积=25×256=6400。面积=32000 是当预设面积参数为 125 时的阵列面积，即阵列面积=125×256=32000。

图 5 中 A 图已知的分子总数为 1, B 图分子总数为 2, C 图分子总数为 5; D 图分子总数为 10, E 图分子总数为 20, F 图分子总数为 50; G 图分子总数为 100, H 图分子总数为 200, I 图分子总数为 500。图 6 中的 J 图分子总数为 1000, K 图分子总数为 2000, L 图分子总数为 5000; M 图分子总数为 10000, N 图分子总数为 20000, O 图分子总数为 50000; P 图分子总数为 100000, Q 图分子总数为 200000, R 图分子总数为 500000。

终端采用空间点过程方法模拟核酸分子在溶液空间中的分布, 采用等比例的预设面积参数, 即 1, 5, 25 和 125 四个预设面积参数对应的阵列模拟不同分子数条件下的二维泊松过程。同时, 记录阵列中分子数为 0~15 时对应的分区数量, 并绘制每个预设面积参数对应的阵列的泊松二项分布随机变量理论期望值的连续曲线并与统计模拟实验结果进行对比。其中, 统计模拟实验结果即为图 5 和图 6 中的柱形图, 连续曲线是 $E(C_{A,k}) = n * [m(A)/n]^k * e^{-m(A)/n} / k!$, 它是分区数量的理论期望值。其中 $m(A)$ 是每重面积阵列中的分子总数。图 5 中的 A~I 图曲线从左到右依次为面积=256、面积=1280、面积=6400 和面积=32000 对应的曲线。根据图 5 和图 6 中所示的模拟结果, 可以发现, 四重面积阵列中, 方格分区面积越大, 平均分子数 λ 也越大, 不同面积阵列间 λ 的期望比与面积比相同。当分子总数较小时, 例如 1~500, 小面积阵列中几乎无分子, 其 λ 也较小, 因此难以对低浓度分子进行分辨。但是如图 5 所示的方格阴影部分, 仍有少量分子可以被大面积阵列所捕捉, 提供浓度反馈。反之, 如图 6, 当分子总数较大时, 例如 10000~500000 大面积阵列中每个分区中的分子数, 即 k 值远大于 0, λ 期望值也较大, 无法有效体现泊松分布的分布特征, 因此难以对高浓度分子进行分辨。如图 6 中的 P、Q 和 R 图, 仅存在面积=256 和面积=1280 的曲线, 而不存在面积=6400 和面积=32000 的曲线。但是在小面积阵列中仍然随机存在分子数接近于 0 的分区, 因此图 6 中的 P、Q 和 R 图中均有面积=256 和面积=1280 的曲线, 因此可对浓度进行反馈。故阵列面积或体积大小会对分子总数的计算造成较大的影响。

上述绝对定量方法中, 通过模拟分子在溶液中的分布, 以及利用算法得到分区数和预设分子数之间的函数关系, 可得知当分子总数较小时, 预设面积参数较小的阵列中几乎无分子, 则无法对分子总数进行精确的计算, 此时需要预设面积参数较大的阵列进行分子总数的计算; 当分子总数较大时, 预设面积参数较大的阵列中难以存在分子数为 0 的分区, 则无法对分子总数进行计算, 此时需要预设面积参数较小的阵列进行分子总数的计算; 故阵列面积或体积大小对绝对定量的范围产生较大的影响。

在一个实施例中, 有高度多样性与特异性的核酸分子作为生物标志物能对不同种类生物物种、个体乃至单个基因进行识别与检测。未来分子检测除了用于疾病预测及早期甚至超早期诊断外, 还将用来指导常规体检, 让常规体检更加有的放矢, 从而改变健康管理观念。此外, 它还可以用于特定人群、特殊物品及特定环境, 例如特定地点及时间窗口中病原体的高灵敏定性或定量检测, 用以来指导疾病管理, 进而指导安全用药, 帮助医生定制个性化治疗方案, 以便更加有效地控制及治疗疾病或疫情。

目前针对传染病病原体核酸检测的 qPCR (Real-time Quantitative PCR, 实时荧光定量核酸 PCR) 或 RT-qPCR (reverse transcription PCR, 逆转录 PCR) 技术, 是目前全球通用的传染病的诊断检测技术。qPCR 技术虽然具有较好检测灵敏度和特异性, 但是其检测性能依然严重受制于扩增酶的抑制剂耐受性, 最低检测极限还达不到单分子检测的需求。并且一旦体系中产生非特异性扩增或检测物污染, 那么整个检测结果将呈现假阳性, 导致严重的诊断事故。此外, qPCR 检测过程依赖于较精密的荧光监测设备, 需实时反馈每轮循环——至少 40 轮后的荧光信号, 检测耗时且硬件成本较高。因此, 从目前的检测性能现状以及传染病病原分子诊断的未来发展方向的角度来看, qPCR 技术并未达到“检得出, 检得快, 检得准”的目标。

自从 1999 年以来, 为了更好地鉴定稀有癌症突变, 有人提出了以单分子检测为目的的“数字 PCR”概念以来, 以 dPCR 为代表的数字核酸扩增方法已经在精准医疗、微生物检测、食品安全等多个领域获得广泛应用。数字核酸扩增方法采用绝对定量的手段, 无需标准品作为参照, 采用分子计数的方法实现核酸精确定量。另外, 伴随着 dPCR 商品化产品的发展, 在 qPCR 上应用的检测体系可以无缝地转移到 dPCR 仪器系统上, 从而满足实验室对于检测结果的要求。由单分子核酸扩增技术发展而来的数字核酸扩增方法, 通过将微升级的反应溶液进行纳升或皮升级的均一化分割, 排除了数目可知并占据可观比例的空分区, 同时增加了剩余有效反应分区中的局部核酸样本浓度。相较于宏观体积中的单分子扩

增反应, 这些分区中的核酸分子与反应试剂的相对浓度比得到了大幅提高, 因此分子间碰撞概率急剧上升从而使得引物、模板及聚合酶之间的相互作用变得更加快速、频繁、直接且稳定。在此种特殊反应条件下, 扩增效率与检测灵敏度可以得到相应的潜在提升。除此之外, 由于模板核酸分子被限定在有限的局部空间中, 因此扩增反应受到外部环境带来的干扰因素, 例如酶抑制剂或非特异性扩增模板等将会降到最低程度, 扩增反应稳健性与特异性得到有效保证, 从而提高了检测准确性。综合以上特点, 相比于 qPCR, 数字核酸扩增方法能提供更加可靠的病原体载量测定结果。

传统的 dPCR 平台往往采用具有良好一致性的反应分区进行检测分析, 而对于单一体积的 dPCR, 其定量检测的上限主要受到单个反应分区的体积及反应分区数量的影响, 检测下限则取决待检样品的总体积。因此, 为保证较宽的动态检测范围, 往往需要数万到数百万个微小的反应分区, 这就使得检测的精度和动态范围无法独立调节, 提高了检测分析的成本与难度, 也降低了实验设计的效率。因此, 传统 dPCR 技术动态范围严重受限于反应分区的数量, 并且也无法如 qPCR 一样将样品浓度转化为扩增结果的指数函数进行计算, 因此对跨度大的未知浓度样品难以实现精准检测。目前主流 dPCR 平台的动态范围为 5 左右, 远低于 qPCR 平台的 $9 \sim 10$ 。

在一个实施例中, 如图 7、图 8 和图 9 所示, 图 7 为一个实施例中预设面积参数为 1、5、25 和 125 的多重阵列分子分布以及算法结果验证示意图。其中, 702 是指面积=256 对应的曲线, 704 是指面积=1280 对应的曲线, 706 是指面积=6400 对应的曲线, 708 是指面积=32000 对应的曲线。图 8 为另一个实施例中预设面积参数为 1、5、25 和 125 的多重阵列分子分布以及算法结果验证示意图。其中, 802 是指面积=256 对应的曲线, 804 是指面积=1280 对应的曲线, 806 是指面积=6400 对应的曲线, 808 是指面积=32000 对应的曲线。图 9 为一个实施例中四种绝对定量方法的动态范围对比图。其中, input m 表示已知的预设分子总数。SVEstSum M 表示单重体积泊松估计求和计算结果。MVEst M 表示多重体积泊松联合估计计算结果。SVFitSum M 表示本申请中根据每个预设面积参数的值或每个预设体积参数的值对应的包含分子总数变量的函数处理得到多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的分子总数变量的取值的计算结果。MVFit M 表示通过本申请实施例中根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数处理得到多个预设面积参数或多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值的计算结果。

动态范围是指对待测对象有可测量响应的范围。在本实施例中, 动态范围也即通过某种方式能测量出分子总数的数值范围。由图 7 和图 8 可知, 当已知的分子总数大于或等于 5000 时, SVFitSum M=Inf, 其中 Inf 表示无穷大, 故 SVFitSum M 对应的方法无法求出对应的分子总数。而当已知的分子总数为 5000 时, MVEst M=4387.835, MVFit M=5078.2875, 其中 MVFit M 对应的方法误差更小。当已知的分子总数为 500060 时, MVEst M=NaN, 其中 NaN 表示计算结果为无效数据, 即 MVEst M 对应的方式无法求出对应的分子总数。而 MVFit M 对应的方式仍旧可以进行绝对定量, 此时 MVFit M=440922.3。且 MVFit M 在已知分子总数为 $5 \sim 500060$ 中的计算结果误差均在一个较小的范围内。例如当已知的分子总数为 50 时, 通过 MVFit M 的方式得出的分子总数为 51.0047。当已知的分子总数为 500 时, 通过 MVFit M 的方式得出的分子总数为 524.9766。当已知的分子总数为 5000 时, 通过 MVFit M 的方式得出的分子总数为 5078.2875。当已知的分子总数为 50000 时, 通过 MVFit M 的方式得出的分子总数为 48371.7。对每组同分子数测试重复 10 次但不限于此, 可得到不同算法结果的线性回归数据, 根据数据结果, 可以比较不同算法的动态范围及定量能力。如图 9 所示, SVEstSum M 方法的动态范围上限为 $10^3 \sim 10^4$, SVFitSum M 方法的动态范围上限约为 10^4 , MVEst M 方法的动态范围上限为 $10^4 \sim 10^5$, MVFit M 方法的动态范围上限约为 10^6 。相对于其他结果, MVFit M 方法的动态范围至少可提高 1.5 个数量级。

上述绝对定量方法中, 能摆脱分区总数对动态范围的限制, 且相对于其他结果, 本申请实施例中的方法的动态范围至少可提高 1.5 个数量级。

在一个实施例中, 如图 10 所示, 为一个实施例中单分散体积数字 PCR 的定量置信水平为 95% 的边界分布曲线示意图。横轴坐标是阴性分区的总占比, 最高是 1, 即全部分区含有分子数为 0; 最低是 0, 即每个分区都最少含有 1 个分子。图 10 中的 4 种不同的线型表示的是不同分区数 $n = 120000, 12000, 1200, 120$ 对应的定量置信边界。由图可知随着 n 数量级的增加, 该边界的上下距离越来越小, 趋近于

中间的 0 线。然而在坐标横轴两端 1 和 0 处,会出现边界距离急速增大的情况。这说明单一体积阵列
在分子总数特别低,即阴性占比接近 1,以及特别高,即阴性占比接近 0 的两种极端情况下,数字绝对
定量方法的精度会大幅下降。这种精度的降低也会带来定量分辨率的降低,要判定较为接近的两个不
同分子数浓度较为困难,较容易产生两类判定错误。本申请实施例中获取多个预设面积参数的值或多
5 个预设体积参数的值的方案则可以克服以上的技术缺陷。比如在某一面积阵列中阴性占比已经接近于 1
或 0,但是在更大面积阵列中阴性占比不可能也是接近 1,或者更小面积的阵列中阴性占比不可能也是
接近 0。

上述绝对定量方法中,能消除各单一阵列定量的边缘效应影响,提高绝对定量的分辨率与精准度。

在一个实施例中,在获取多个第一预设分子数之前,该绝对定量方法还包括:将分子散落在每个
10 预设面积参数或每个预设体积参数对应的阵列中;获取每个阵列中的分区中所含的分子数;根据每个
阵列中的分区中所含的分子数统计每个阵列中的多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分
区数量。

其中,阵列是由分区构成的,一个阵列中可以有多个分区。阵列的数量不限,每个阵列对应一个
预设面积参数或者一个预设体积参数。分子可以是模拟的分子,也可以是真正的核酸分子等不限于此。

15 具体地,终端获取至少一个阵列,在终端通过泊松分布或者空间点过程的方式将分子散落在每个
预设面积参数对应的阵列中。或者,终端通过泊松分布或者空间点过程的方式将分子散落在每个预设
体积参数对应的阵列中。终端获取每个阵列中的分区中所含的分子数量。也即终端获取至少一个阵列
中的每个阵列中的分区中所含的分子数量。终端根据每个阵列中的分区中所含的分子数统计每个阵列
中的多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量。

20 例如阵列 1 的分区 1 的分子数量为 0,阵列 1 的分区 2 的分子数量为 1,阵列 1 的分区 3 的分子数
量为 1,阵列 1 的分区 4 的分子数量为 2。则终端根据阵列 1 中的分区中所含的分子数得到预设分子数
为 0 对应的分区数量为 1 个,预设分子数为 1 对应的分区数量为 2 个,预设分子数为 2 对应的分区数
量为 1 个。

本实施例中,可将分子随机散落在 PCR (Polymerase Chain Reaction, 多聚酶链式反应) 检测终
25 端中每个预设面积参数或者每个预设体积参数对应的阵列中。PCR 检测终端检测出每个阵列中的分区中
所含的分子数。终端从 PCR 检测终端中获取每个阵列中的分区中所含的分子数,并根据每个阵列中的
分区中所含的分子数统计每个阵列中的多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量。

上述绝对定量方法中,通过将分子散落在每个预设面积参数对应的阵列中,并获取每个阵列中的
分区中所含的分子数,统计每个阵列中预设分子数对应的分区数量,能得到不同面积或不同体积下的
30 每个预设分子数对应的分区数量,并和每个预设分子数对应的期望值函数得到残差平方和,减少因面
积或体积变化而引起的绝对定量误差,提高绝对定量的准确性。

在一个实施例中,在获取多个预设分子数之前,该绝对定量方法还包括:将分子散落在阵列中;
获取阵列中的每个分区中所含的分子数;根据每个分区中所含的分子数统计多个第二预设分子数中每
个第二预设分子数对应的分区数量。

35 其中,阵列的数量不限。一个阵列中可以包含多个分区。

具体地,终端将分子散落在一个阵列中,并获取阵列中每个分区中所含的分子数。终端根据每个
分区中所含的分子数统计多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量。

本实施例中,可将分子随机散落在 PCR 检测终端的阵列中。PCR 检测终端检测出每个阵列中的分区
中所含的分子数。终端从 PCR 检测终端中获取每个阵列中的分区中所含的分子数,并根据每个阵列中
40 的分区中所含的分子数统计每个阵列中的多个第二预设分子数中预设分子数对应的分区数量。

上述绝对定量方法中,将分子散落在阵列中,获取每个分区所含的分子数,并统计多个第二预设
分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量,能得到分子数的多种分子信息,而不局限于有无分子
数,从而提高绝对定量的准确性。

在一个实施例中,本申请实施例中充分利用数字核酸扩增单分子水平高灵敏度与高特异性,建立
45 进一步细分阳性分区的模型与方法,将把以往单一的全或无终点判定时丢失的信息重新加以利用,将

反应终点的状态从两种变为三种、四种甚至更多，即第二预设分子数从 0 和 1 变为多个。细分阳性分区的方法可采用数字核酸扩增结合扩增曲线判定法来实现，例如 1 个分子与 2 个分子浓度相差 100%，2 个分子与 3 个分子浓度相差 50%。细分阳性分区的具体原理及结果如图 11 所示。其中，如图 11 所示，为一个实施例中获取多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量的示意图。其中大方格代表一个阵列，小方格代表一个分区。图 11 的第一个图为未知，即为分子在阵列中的随机分布，图中的黑点表示分子。图 11 中的第二个图为传统的检测方式，即仅仅能判断是否有分子在分区中，以白方格表示 0，黑方格表示 1。图 11 中的第三个图为本申请实施例中所采用的方式，通过检测方格即分区中的分子数统计可得到第二预设分子数对应的分区数量。

在一个实施例中，如图 12 所示，为一个实施例中通过本申请实施例中的绝对定量方法和泊松单点估计计算方法的结果示意图。图 12 为通过获取多个第一预设分子数；根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数；根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到分子总数变量的取值的方案处理得到的拟合曲线。终端采用 16×16 的 256 位二维方形阵列，模拟了不同分子总数的二维泊松过程，即图 12 中所示的实际值的二维泊松过程。终端将已预知的总数的分子随机散布于该二维阵列中，同时记录阵列中每个方格所含的第二预设分子数，随后统计出此时阵列中第二预设分子数为 0~3 的方格总数，即分区数。终端分别根据单点泊松估计得到估计值以及根据本申请实施例中的绝对定量方法得到拟合值两种模式，对分子总数进行计算。数据点为第二预设分子数对应的分区数量的点。在图 12 中，第二预设分子数为 0、1、2 和 3，第一预设分子数为 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 和 15。如表 3，列举了第一预设分子数与分区数的对应关系。

表 3

所含分子数	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	拟合值	估计值	真实值
分区数统计	255	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1.001958	1
	246	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10.3	10.20055	10
	202	49	4	1	0	0	0	0	0	0	0	61.0625	60.6489	60
	59	99	58	28	11	0	0	1	0	0	0	353.35	375.7158	350
	15	53	62	52	40	18	9	3	4	0	0	660.5	726.3046	690
	0	2	8	23	37	39	30	32	28	22	18	1575.175	∞	1615

其中，单点泊松分布的公式为 $M = -n \ln(i/n)$ 。 n 为分区总数， i 为第二预设分子数为 0 时对应的分区数量。对于实际值为 1 的情况，第二预设分子数为 0 时对应的分区数为 255，第二预设分子数为 1 时对应的分区数量为 1，所以泊松单点估计的计算公式，分子数估计值为：

$$M = -n \ln(i/n) = -256 \ln(255/256) = 1.0019582262109001$$

对于实际值 10 的情况，0 分区数为 246，1 分区数为 10，所以泊松单点估计的计算公式，分子数估计值为：

$$M = -n \ln(i/n) = -256 \ln(246/256) = 10.200552588083116$$

对于实际值 60 的情况，0 分区数为 202，1 分区数为 49，所以泊松单点估计的计算公式，分子数估计值为：

$$M = -n \ln(i/n) = -256 \ln(202/256) = 60.648895252059575$$

其他情况依次类推。

而拟合值的计算方法则为本申请实施例中的方法。对于实际值为 1 的情况，第二预设分子数为 0 时对应的分区数量为 255，第二预设分子数为 1 时对应的分区数量为 1，第二预设分子数为 2 时对应的分区数量为 0，第二预设分子数为 3 时对应的分区数量为 0。而期望值函数 $E(C_k) = n * (m/n)^k * e^{-m/n} / k!$ ，那么 $E(C_0) = n * e^{-m/n}$ ， $E(C_1) = n * (m/n) * e^{-m/n}$ ， $E(C_2) = n * (m/n)^2 * e^{-m/n} / 2$ ， $E(C_3) = n * (m/n)^3 * e^{-m/n} / 6$ ，从而拟合函数 $SSE(f) = \sum [E(C_k) - y]^2 = (n * e^{-m/n} - 255)^2 + [n * (m/n) * e^{-m/n} - 1]^2 + [n * (m/n)^2 * e^{-m/n} / 2 - 0]^2 + [n * (m/n)^3 * e^{-m/n} / 6 - 0]^2$ ，该式中 n 为 256， e 为自然常数，于是式子仅含有分子总数变量 m 一个未知参数，因此可以通过牛顿迭代法计算出 $SSE(f)$ 取得

最小极值时的取值，即分子总数的拟合值。其他情况依次类推。

由于该阵列中的分区数量较少，也由于第二预设分子数为 0 时对应的分区数量逐渐为 0，因此单点估计所能定量的分子总数大约在 1~1200 之间，约为 3 个数量级。由图 6 可知，当分子数真实值为 1615 时，第二预设分子数为 0 对应的分区数量为 0，计算结果突变到无穷大，造成较大的定量误差。与此对比，本申请实施例中的绝对定量方法，此时仍可通过已获取的 1、2、3 分子分别对应分区数量为 2、8、23，对分子总数进行计算。终端得到的拟合结果为 1575.175，计算误差为

$(1615-1575.175)/1615=2.477\%$ ，仍然保证了较好的准确性，且定量范围超过单点估计结果。

如图 13 所示，为一个实施例将已知分子总数的分子散落在阵列中的示意图。如图 14 所示，为另一个实施例中将已知分子总数的分子散落在阵列中的示意图。其中图 13 和图 14 中的横坐标均表示第一预设分子数，纵坐标均表示分区数。由图 14 可知，当给定 $m \geq 1500$ 时，其中 m 为分子总数，0 分区的数下降到 0，即 256 个方格全部包含有分子（至少 1 个），此时采用单点估计的公式 $M = -n \cdot \ln(i/n)$ ，计算所得的定量结果为 ∞ ，因此单点估计的定量范围约为 $0 \sim 1300$ 。一般情况下，从统计学上考虑，要达到至少 1 个 0 分区 ($n \cdot P\{X=0\} = n \cdot e^{-m/n} \geq 1$)，目标分子数应不低于 $n \cdot \ln(n)$ 。这个数值一般就是定量动态范围的上限。而如上表所示，拟合方法的定量能力在给定 m 为 1615 时，依然可以计算出定量结果为 1575.175，而此时估计值结果为 ∞ ，因此本申请实施例中采用的方法的定量动态范围超过了单点估计方法。

在一个实施例中，根据期望值函数和每个预设面积参数或每个预设体积参数的每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数，包括：

根据期望值函数和每个第二预设分子数对应的分区数量确定求和项；

根据求和项及对应的权重，得到包含权重以及多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数，其中，权重与分子总数变量的不确定度呈负相关。

其中，该拟合函数可以是残差平方和函数，也可以是以其他拟合方式求得的拟合函数等不限于此。求和项是指拟合函数中的求和项。不确定度反映了拟合函数的估计结果的可靠性，可转化为百分比形式。当某个估计结果具有高不确定度，例如 50% 等，说明该拟合函数并不合理。

具体地，终端根据期望值函数和每个第二预设分子数对应的分区数量确定拟合函数中的求和项。

例如 $SSE(f) = \sum [f - y]^2$ 中的求和项 $[f - y]^2$ ，即在每个求和项前乘以对应的权重。终端根据求和项及对应的权重得到包含权重以及多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数，其中，权重与分子总数变量的不确定度呈负相关。即，分子总数变量的不确定度越大，权重越小；分子总数变量的不确定度越小，权重越大。

本实施例中，该绝对定量方法还包括：根据分子总数的取值计算得到不确定度的值；根据期望值函数和每个第二预设分子数对应的分区数量确定求和项；将不确定度的值作为求和项对应的权重；根据包含权重以及多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数处理得到分子总数变量的取值。

上述绝对定量方法中，通过根据期望值函数和每个第二预设分子数对应的分区数量确定求和项，再根据求和项和对应的权重得到拟合函数，能减少随机误差对分子总数变量的值带来的影响，提高绝对定量的准确性。

在一个实施例中，该绝对定量方法还包括：

步骤 (b1)，根据拟合函数得到拟合优度。

其中，拟合优度可用于反映某个统计模型刻画该数据集的准确度。

具体地，终端根据拟合函数得到拟合优度。

本实施例中，拟合优度可由下式计算：

$$g_{fit} = \frac{\chi^2}{df} = \frac{1}{df} \times \sum_{i=1}^N (f - y_i)^2 = \frac{SSE(\lambda)}{df}$$

其中， λ 为平均分子数，即分子总数 m 和分区总数 n 之比； y 为第二预设分子数对应的分区数量，

i 为第二预设分子数对应的分区数量的标号, f 为期望值函数, N 为预设分子数的个数。

步骤 (b2), 获取加权矩阵和平均分子数对应的雅可比矩阵, 其中, 平均分子数变量是根据分子总数变量和分区总数之比得到的。

其中, 加权矩阵是指原模型进行加权, 使之成为一个新的不存在异方差性的模型的矩阵。雅可比矩阵是指是一阶偏导数以一定方式排列成的矩阵。分区总数是指阵列中总的分区数量。当存在多个阵列时, 则为多个阵列中的分区数量的总和。

具体地, 终端获取预设的加权矩阵, 以及根据平均分子数获取的雅可比矩阵。其中, 平均分子数是根据分子总数和分区总数之比得到的。

本实施例中, 例如加权矩阵为下式:

$$W = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

平均分子数对应的雅可比矩阵为

$$J = \begin{pmatrix} \frac{\partial f(1,0,\lambda)}{\partial \lambda} & \frac{\partial f(1,1,\lambda)}{\partial \lambda} & \frac{\partial f(1,2,\lambda)}{\partial \lambda} & \frac{\partial f(1,3,\lambda)}{\partial \lambda} \\ \frac{\partial f(5,0,\lambda)}{\partial \lambda} & \frac{\partial f(5,1,\lambda)}{\partial \lambda} & \frac{\partial f(5,2,\lambda)}{\partial \lambda} & \frac{\partial f(5,3,\lambda)}{\partial \lambda} \\ \frac{\partial f(25,0,\lambda)}{\partial \lambda} & \frac{\partial f(25,1,\lambda)}{\partial \lambda} & \frac{\partial f(25,2,\lambda)}{\partial \lambda} & \frac{\partial f(25,3,\lambda)}{\partial \lambda} \\ \frac{\partial f(125,0,\lambda)}{\partial \lambda} & \frac{\partial f(125,1,\lambda)}{\partial \lambda} & \frac{\partial f(125,2,\lambda)}{\partial \lambda} & \frac{\partial f(125,3,\lambda)}{\partial \lambda} \end{pmatrix}$$

其中, λ 为平均分子数。

步骤 (b3), 根据雅可比矩阵和加权矩阵得到估计方差。

具体地, 终端根据雅可比矩阵和加权矩阵计算得到估计方差。

本实施例中, 平均分子数 λ 的不确定度 C 可由以下矩阵计算得到

$$C = (J^T W J)^{-1}$$

其中, J 为雅可比矩阵, W 为加权矩阵。

那么可得

$$\begin{aligned} C^{-1} &= \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial \lambda} \\ \frac{\partial f_2}{\partial \lambda} \\ \frac{\partial f_3}{\partial \lambda} \\ \frac{\partial f_4}{\partial \lambda} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial \lambda} & \frac{\partial f_2}{\partial \lambda} & \frac{\partial f_3}{\partial \lambda} & \frac{\partial f_4}{\partial \lambda} \end{pmatrix} \\ &= \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial \lambda} \\ \frac{\partial f_2}{\partial \lambda} \\ \frac{\partial f_3}{\partial \lambda} \\ \frac{\partial f_4}{\partial \lambda} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial \lambda} & \frac{\partial f_2}{\partial \lambda} & \frac{\partial f_3}{\partial \lambda} & \frac{\partial f_4}{\partial \lambda} \end{pmatrix} \\ &= \left(\frac{\partial f_1}{\partial \lambda}\right)^2 + \left(\frac{\partial f_2}{\partial \lambda}\right)^2 + \left(\frac{\partial f_3}{\partial \lambda}\right)^2 + \left(\frac{\partial f_4}{\partial \lambda}\right)^2 \end{aligned}$$

$$C = \frac{1}{\left(\frac{\partial f_1}{\partial \lambda}\right)^2 + \left(\frac{\partial f_2}{\partial \lambda}\right)^2 + \left(\frac{\partial f_3}{\partial \lambda}\right)^2 + \left(\frac{\partial f_4}{\partial \lambda}\right)^2}$$

那么不确定度为

此时不确定度 C 矩阵的对角元素 c_{11} 即为平均分子数 λ 的估计方差：

$$c_{11} = \frac{1}{\left(\frac{\partial f_1}{\partial \lambda}\right)^2 + \left(\frac{\partial f_2}{\partial \lambda}\right)^2 + \left(\frac{\partial f_3}{\partial \lambda}\right)^2 + \left(\frac{\partial f_4}{\partial \lambda}\right)^2}$$

步骤 (b4)，根据拟合优度和估计方差得到平均分子数变量对应的不确定度。

5 具体地，终端根据拟合优度和估计方差计算得到平均分子数变量对应的不确定度。

本实施例中，得到平均分子数 λ 的不确定度 $\hat{\sigma}_\lambda^2$ 如下式：

$$\hat{\sigma}_\lambda^2 = g_{fit} c_{11} = \frac{SSE(\lambda)}{df \cdot \left[\left(\frac{\partial f_1}{\partial \lambda}\right)^2 + \left(\frac{\partial f_2}{\partial \lambda}\right)^2 + \left(\frac{\partial f_3}{\partial \lambda}\right)^2 + \left(\frac{\partial f_4}{\partial \lambda}\right)^2\right]} = \frac{SSE(\lambda)}{df \cdot (J(\lambda))^T W J(\lambda)} = \frac{SSE(\lambda)}{15 \cdot (J(\lambda))^T W J(\lambda)}$$

其中只有一个未知数 λ 。

10 步骤 (b5)，根据平均分子数变量对应的不确定度确定求和项对应的权重。

具体地，终端根据平均分子数变量对应的不确定度确定求和项对应的权重。

本实施例中，终端可求取平均分子数变量的取值后，计算出平均分子数变量的取值对应的不确定度的数值，将不确定度的数值处理后得到求和项对应的权重。其中，权重与不确定度的数值呈负相关。

15 在一个实施例中，该绝对定量方法还包括：根据不确定度得到置信区间。其中，置信区间是指待拟合参数的估计区间，例如分子总数变量的估计区间。置信区间展现的是这个参数的真实值有一定概率落在测量结果的周围的程度，其给出的是被测量参数的测量值的可信程度。具体地，终端可得到一个关于平均分子数 λ 的置信水平为 $1-\alpha$ 的 t 分布置信区间为：

$$\{\lambda : |\lambda - \hat{\lambda}| \leq t_{df, \alpha/2} \cdot \hat{\sigma}_\lambda\}$$

$$\text{即, } \left(\hat{\lambda} - t_{df, \alpha/2} \cdot \sqrt{SSE(\hat{\lambda}) / [(J(\hat{\lambda}))^T W J(\hat{\lambda})]}, \hat{\lambda} + t_{df, \alpha/2} \cdot \sqrt{SSE(\hat{\lambda}) / [(J(\hat{\lambda}))^T W J(\hat{\lambda})]} \right)$$

20 其中， $t_{df, \alpha/2}$ 为 t 分布双侧分位数，对于 95% 置信水平，有 $t_{15, 0.025} = 2.131$ ($\alpha = 0.05$)。自由度为 15 的 $t_{15, 0.025}$ 的值可由概率论相关书籍得出，或者 MATLAB (矩阵实验室) 中的 t 分布函数也可以直接得到。具体函数为 `tinvt(1-alpha/2, 15)`, `alpha=0.05`。

25 上述绝对定量方法中，根据拟合函数得到拟合优度，获取加权矩阵和雅可比矩阵，并得到估计方差，从而确定平均分子数变量的不确定度，根据不确定度确定权重，能根据拟合优度和不确定度等评判拟合结果的可靠性，为拟合函数增加权重，能减少随机误差对分子总数变量的取值带来的影响，提高绝对定量的准确性。

在一个实施例中，根据期望值函数和每个预设面积参数或每个预设体积参数的每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数，还包括：

步骤 (c1)，根据期望值函数和每个第二预设分子数对应的分区数量确定求和项。

30 步骤 (c2)，根据多个预设分子数得到每个第一预设分子数对应的方差函数。

具体地，终端根据多个预设分子数得到每个预设面积参数的值或每个预设体积参数的值对应的每个预设分子数对应的方差函数。当预设面积参数的值或者预设体积参数的值发生变化时，方差函数相应发生变化。

本实施例中，例如当第一预设分子数 $k=0$ 时，方差为

$$D(C_{A,0}) = n \times e^{-A \times m/n} \times (1 - e^{-A \times m/n});$$

当第一预设分子数 $k=1$ 时，方差 $D(C_{A,1}) = A \times m \times e^{-A \times m/n} \times (1 - A \times m/n \times e^{-A \times m/n})$;

当第一预设分子数 $k=2$ 时，方差为

$$D(C_{A,2}) = n \times (A \times m/n)^2 \times e^{-A \times m/n} \times [2 - (A \times m/n)^2 \times e^{-A \times m/n}] / 4;$$

当第一预设分子数 $k=3$ 时，方差为

$$D(C_{A,3}) = n \times (A \times m/n)^3 \times e^{-A \times m/n} \times [2 - (A \times m/n)^2 \times e^{-A \times m/n}] / 4, \text{等等但不限于此。}$$

步骤 (c3)，将方差函数处理得到每个第一预设分子数对应的权重。

具体地，终端将方差函数的倒数作为每个第一预设分子数对应的权重。或者，终端将方差函数乘以一个常数等但不限于此。

步骤 (c4)，根据求和项及对应的权重得到包含权重的拟合函数。

具体地，终端根据求和项及对应的权重得到包含权重以及多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数。例如 $SSE(f) = \sum [f - y]^2$ 中的求和项 $[f - y]^2$ ，即在每个求和项 $[f - y]^2$ 前乘以对应的权重。

上述绝对定量方法中，根据期望值函数和第二预设分子数对应的分区数量确定求和项，在得到方差函数后得到对应权重，将权重赋予求和项，能减少拟合函数和第二预设分子数对应的分区数量之间的误差，从而提高绝对定量的准确性。

在一个实施例中，该绝对定量方法，还包括：针对同一份检测对象，检测预设次数，得到预设次数个分子总数变量的取值；确定预设次数个取值的平均值；将平均值作为同一份检测对象的分子总数。

其中，同一份检测对象是指同一份检测样本。例如同一份在 PCR 检测终端中检测的样品，或者同一份在终端中模拟的空间点过程。预设次数可以为 1 次、2 次、...、100 次等不限于此。

具体地，由于分子进行无规则运动，所以在每次检测过程中，第二预设分子数对应的分区数量有一些变化。终端针对同一份检测对象，检测预设次数，每次都得到分子总数变量的取值。终端确定预设次数个取值的平均值，将该平均值作为同一份检测对象的分子总数。

本实施例中，当某一预设次数对应的分子总数变量的取值与其他分子总数变量的取值之间的数值差距大于预设值时，终端可剔除该预设次数对应的分子总数变量的取值。

上述绝对定量方法中，通过对同一份检测对象检测预设次数，得到预设次数个分子总数变量的取值，确定平均值，将平均值作为同一份检测对象的分子总数，能减少分子运动导致的随机误差，提高绝对定量的准确性。

在一个实施例中，一种绝对定量方法，包括以下步骤：

步骤 (d1)，将分子散落在阵列中。

步骤 (d2)，获取阵列中的每个分区中所含的分子数。

步骤 (d3)，根据每个分区中所含的分子数统计多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量。

步骤 (d4)，获取多个第一预设分子数。

步骤 (d5)，根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数。

步骤 (d6)，根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到分子总数变量的取值。

步骤 (d7)，针对同一份检测对象，检测预设次数，得到预设次数个分子总数变量的取值。

步骤 (d8)，确定预设次数个取值的平均值。

步骤(d9), 将平均值作为同一份检测对象的分子总数。

上述绝对定量方法中, 通过获取多个预设分子数, 并根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含第一预设分子数和分子总数变量的函数, 根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到分子总数变量的取值, 能得到多个第一预设分子数和分子总数之间的关系, 且能得到较多的分子数对应的信息, 例如分区数量等, 避免因仅用 0 和 1 计算分子数而导致的随机误差, 使绝对定量结果更加准确。

在一个实施例中, 一种绝对定量方法, 包括以下步骤:

步骤(e1), 将分子散落在每个预设面积参数或每个预设体积参数对应的阵列中。

步骤(e2), 获取每个阵列中的分区中所含的分子数。

步骤(e3), 根据每个阵列中的分区中所含的分子数统计每个阵列中的多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量。

步骤(e4), 获取多个第一预设分子数。

步骤(e5), 获取多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值。

步骤(e6), 根据多个第一预设分子数和多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值, 得到每个预设面积参数的值或每个体积参数的值的每个第一预设分子数对应的包含分子总数变量的期望值函数。

步骤(e7), 根据期望值函数和每个第二预设分子数对应的分区数量确定求和项;

步骤(e8), 根据多个预设分子数得到每个第一预设分子数对应的方差函数;

步骤(e9), 将方差函数处理得到每个第一预设分子数对应的权重;

步骤(e10), 根据求和项及对应的权重得到包含权重的拟合函数。

步骤(e11), 根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数处理得到多个预设面积参数或多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值。

步骤(e12), 针对同一份检测对象, 检测预设次数, 得到预设次数个分子总数变量的取值。

步骤(e13), 确定预设次数个取值的平均值。

步骤(e14), 将平均值作为同一份检测对象的分子总数。

上述绝对定量方法中, 通过获取多个预设面积参数的值或者多个预设体积参数的值, 处理得到包含第一预设分子数和分子总数变量的函数, 得到多个预设面积参数的值或者多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值, 能得到不同面积或不同体积下的分子总数变量的取值, 减少因面积或体积变化而引起的绝对定量误差, 并且无论是分子总数多少, 即无论分子的浓度多少, 都能对分子总数进行定量, 提高了绝对定量的动态范围、绝对定量的分辨率以及绝对定量的准确性。

在一个实施例中, 一种绝对定量方法, 包括以下步骤:

步骤(f1), 将分子散落在每个预设面积参数或每个预设体积参数对应的阵列中。

步骤(f2), 获取每个阵列中的分区中所含的分子数。

步骤(f3), 根据每个阵列中的分区中所含的分子数统计每个阵列中的多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量。

步骤(f4), 获取多个第一预设分子数。

步骤(f5), 获取多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值。

步骤(f6), 根据多个第一预设分子数和多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值, 以及同一预设面积参数的值或同一预设体积参数的值对应的每个第二预设分子数对应的分区数量, 处理得到每个预设面积参数的值或每个预设体积参数的值对应的包含第一预设分子数和分子总数变量的函数。

步骤(f7), 根据每个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的包含分子总数变量的函数处理得到多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的分子总数变量的取值。

步骤(f8), 针对同一份检测对象, 检测预设次数, 得到预设次数个分子总数变量的取值。

步骤(f9), 确定预设次数个取值的平均值。

步骤(f10), 将平均值作为同一份检测对象的分子总数。

上述绝对定量方法中，通过获取多个预设面积参数的值或者多个预设体积参数的值，处理得到包含第一预设分子数和分子总数变量的函数，得到多个预设面积参数的值或者多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值，能得到不同面积或不同体积下的分子总数变量的取值，减少因面积或体积变化而引起的绝对定量误差，并且无论是分子总数多少，即无论分子的浓度多少，都能对分子总数进行定量，提高了绝对定量的动态范围、绝对定量的分辨率以及绝对定量的准确性。

应该理解的是，虽然图 3-4 的流程图中的各个步骤按照箭头的指示依次显示，但是这些步骤并不是必然按照箭头指示的顺序依次执行。除非本文中有明确的说明，这些步骤的执行并没有严格的顺序限制，这些步骤可以以其它的顺序执行。而且，图 3-4 中的至少一部分步骤可以包括多个子步骤或者多个阶段，这些子步骤或者阶段并不必然是在同一时刻执行完成，而是可以在不同的时刻执行，这些子步骤或者阶段的执行顺序也不必然是依次进行，而是可以与其它步骤或者其它步骤的子步骤或者阶段的至少一部分轮流或者交替地执行。

在一个实施例中，如图 15 所示，提供了一种绝对定量装置，包括：获取模块 1502、函数求取模块 1504 和分子总数确定模块 1506，其中：

获取模块 1502，用于获取多个第一预设分子数。

函数求取模块 1504，用于根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数。

分子总数确定模块 1506，用于根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到分子总数变量的取值。

上述绝对定量装置中，通过获取多个预设分子数，并根据多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含第一预设分子数和分子总数变量的函数，根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到分子总数变量的取值，能得到多个第一预设分子数和分子总数之间的关系，且能得到较多的分子数对应的信息，例如分区数量等，避免因仅用 0 和 1 计算分子数而导致的随机误差，使绝对定量结果更加准确。

在一个实施例中，获取模块 1502 用于获取多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值。函数求取模块 1504 用于根据多个第一预设分子数和多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值，得到每个预设面积参数的值或每个体积参数的值的每个第一预设分子数对应的包含分子总数变量的期望值函数；根据期望值函数和每个预设面积参数或每个预设体积参数的每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到包含多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数。分子总数确定模块 1506 用于根据包含多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数处理得到多个预设面积参数或多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值。

上述绝对定量装置中，通过获取多个预设面积参数的值或者多个预设体积参数的值，并得到期望值函数，从而得到拟合函数，处理得到分子总数变量的取值，能得到不同面积或体积下的每个预设分子数对应的期望值函数，减少不同面积或体积对应的期望值函数和每个第二预设分子数对应的分区数量之间的误差，并减少因面积或体积变化而引起的绝对定量误差，且无论是分子总数多少，即无论分子的浓度多少，都能对分子总数进行定量，提高了绝对定量的动态范围、绝对定量的分辨率以及绝对定量的准确性。

在一个实施例中，获取模块 1502 用于获取多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值。函数求取模块 1504 用于根据多个第一预设分子数和多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值，以及同一预设面积参数的值或同一预设体积参数的值对应的每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到每个预设面积参数的值或每个预设体积参数的值对应的包含第一预设分子数和分子总数变量的函数。分子总数确定模块 1506 用于根据每个预设面积参数的值或每个预设体积参数的值对应的包含分子总数变量的函数处理得到多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的分子总数变量的取值。

上述绝对定量装置中，通过获取多个预设面积参数的值或者多个预设体积参数的值，处理得到包

含第一预设分子数和分子总数变量的函数，得到多个预设面积参数的值或者多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值，能得到不同面积或不同体积下的分子总数变量的取值，减少因面积或体积变化而引起的绝对定量误差，并且无论是分子总数多少，即无论分子的浓度多少，都能对分子总数进行定量，提高了绝对定量的动态范围、绝对定量的分辨率以及绝对定量的准确性。

5 在一个实施例中，该绝对定量装置还包括统计模块。获取模块 1502 用于将分子散落在每个预设面积参数或每个预设体积参数对应的阵列中；获取每个阵列中的分区中所含的分子数。统计模块用于根据每个阵列中的分区中所含的分子数统计每个阵列中的多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量。

10 上述绝对定量装置中，通过将分子散落在每个预设面积参数对应的阵列中，并获取每个阵列中的分区中所含的分子数，统计每个阵列中预设分子数对应的分区数量，能得到不同面积或不同体积下的每个预设分子数对应的分区数量，并和每个预设分子数对应的期望值函数得到残差平方和，减少因面积或体积变化而引起的绝对定量误差，提高绝对定量的准确性。

15 在一个实施例中，该绝对定量装置还包括统计模块。获取模块 1502 用于将分子散落在阵列中；获取阵列中的每个分区中所含的分子数。统计模块用于根据每个分区中所含的分子数统计多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量。

上述绝对定量装置中，将分子散落在阵列中，获取每个分区所含的分子数，并统计多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量，能得到分子数的多种分子信息，而不局限于有无分子数，从而提高绝对定量的准确性。

20 在一个实施例中，函数求取模块 1504 还用于根据期望值函数和每个第二预设分子数对应的分区数量确定求和项；根据求和项及对应的权重得到包含权重以及多个第一预设分子数和分子总数变量的拟合函数，其中，权重与分子总数变量的不确定度呈负相关。

上述绝对定量装置中，通过根据期望值函数和每个第二预设分子数对应的分区数量确定求和项，再根据求和项和对应的权重得到拟合函数，能减少随机误差对分子总数变量的值带来的影响，提高绝对定量的准确性。

25 在一个实施例中，函数求取模块 1504 还用于根据拟合函数得到拟合优度；获取加权矩阵和平均分子数对应的雅可比矩阵，其中，平均分子数变量是根据分子总数变量和分区总数之比得到的；根据雅可比矩阵和加权矩阵得到估计方差；根据拟合优度和估计方差得到平均分子数变量对应的不确定度。

30 上述绝对定量装置中，根据拟合函数得到拟合优度，获取加权矩阵和雅可比矩阵，并得到估计方差，从而确定平均分子数变量的不确定度，根据不确定度确定权重，能根据拟合优度和不确定度等评判拟合结果的可靠性，为拟合函数增加权重，能减少随机误差对分子总数变量的取值带来的影响，提高绝对定量的准确性。

35 在一个实施例中，函数求取模块 1504 还用于根据期望值函数和每个第二预设分子数对应的分区数量确定求和项；根据多个预设分子数得到每个第一预设分子数对应的方差函数；将方差函数处理得到每个第一预设分子数对应的权重；根据求和项及对应的权重得到包含权重的拟合函数。

上述绝对定量装置中，根据期望值函数和第二预设分子数对应的分区数量确定求和项，在得到方差函数后得到对应权重，将权重赋予求和项，能减少拟合函数和第二预设分子数对应的分区数量之间的误差，从而提高绝对定量的准确性。

40 在一个实施例中，该绝对定量装置还包括重复检测模块。该重复检测模块用于针对同一份检测对象，检测预设次数，得到预设次数个分子总数变量的取值；确定预设次数个取值的平均值；将平均值作为同一份检测对象的分子总数。

上述绝对定量装置中，通过对同一份检测对象检测预设次数，得到预设次数个分子总数变量的取值，确定平均值，将平均值作为同一份检测对象的分子总数，能减少分子运动导致的随机误差，提高绝对定量的准确性。

45 关于绝对定量装置的具体限定可以参见上文中对于绝对定量装置的限定，在此不再赘述。上述绝对定量装置中的各个模块可全部或部分通过软件、硬件及其组合来实现。上述各模块可以硬件形式内

嵌于或独立于计算机设备中的处理器中，也可以以软件形式存储于计算机设备中的存储器中，以便于处理器调用执行以上各个模块对应的步骤。

在一个实施例中，提供了一种计算机设备，该计算机设备可以是终端，其内部结构图可以如图 16 所示。该计算机设备包括通过系统总线连接的处理器、存储器、网络接口、显示屏和输入装置。其中，该计算机设备的处理器用于提供计算和控制能力。该计算机设备的存储器包括非易失性存储介质、内
5 存储器。该非易失性存储介质存储有步骤系统和计算机程序。该内存储器为非易失性存储介质中的步骤系统和计算机程序的运行提供环境。该计算机设备的网络接口用于与外部的终端通过网络连接通信。该计算机程序被处理器执行时以实现一种绝对定量方法。该计算机设备的显示屏可以是液晶显示屏或者电子墨水显示屏，该计算机设备的输入装置可以是显示屏上覆盖的触摸层，也可以是计算机设备外壳上设置的按键、轨迹球或触控板，还可以是外接的键盘、触控板或鼠标等。

本领域技术人员可以理解，图 16 中示出的结构，仅仅是与本申请方案相关的部分结构的框图，并不构成对本申请方案所应用于其上的计算机设备的限定，具体的计算机设备可以包括比图中所示更多或更少的部件，或者组合某些部件，或者具有不同的部件布置。

在一个实施例中，提供了一种计算机设备，包括存储器和处理器，存储器中存储有计算机程序，
15 该处理器执行计算机程序时实现上述各个方法实施例中的步骤。

在一个实施例中，提供了一种计算机可读存储介质，其上存储有计算机程序，计算机程序被处理器执行时实现上述各个方法实施例中的步骤。

本领域普通技术人员可以理解实现上述实施例方法中的全部或部分流程，是可以通过计算机程序来指令相关的硬件来完成，所述的计算机程序可存储于一非易失性计算机可读存储介质中，该计算机程序在执行时，可包括如上述各方法的实施例的流程。其中，本申请所提供的各实施例中所使用的对存储器、存储、数据库或其它介质的任何引用，均可包括非易失性和/或易失性存储器。非易失性存储器可包括只读存储器(ROM)、可编程 ROM(PROM)、电可编程 ROM(EPROM)、电可擦除可编程 ROM(EEPROM)或闪存。易失性存储器可包括随机存取存储器(RAM)或者外部高速缓冲存储器。作为说明而非局限，RAM 以多种形式可得，诸如静态 RAM(SRAM)、动态 RAM(DRAM)、同步 DRAM(SDRAM)、双数据率 SDRAM(DDRSDRAM)、增强型 SDRAM(ESDRAM)、同步链路(Synchlink)、DRAM(SLDRAM)、存储器总线(Rambus)、直接 RAM(RDRAM)、直接存储器总线动态 RAM(DRDRAM)、以及存储器总线动态 RAM(RDRAM)等。
20
25

以上实施例的各技术特征可以进行任意的组合，为使描述简洁，未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述，然而，只要这些技术特征的组合不存在矛盾，都应当认为是本说明书记载的范围。

以上所述实施例仅表达了本申请的几种实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解
30 为对发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本申请构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本申请的保护范围。因此，本申请专利的保护范围应以所附权利要求为准。

权利要求书

1、一种绝对定量方法，所述方法包括：

获取多个第一预设分子数；

根据所述多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理，得到包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数；及

5 根据所述包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理，得到所述分子总数变量的取值。

2、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述根据所述多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数，包括：

10 获取多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值；

根据所述多个第一预设分子数，和多个所述预设面积参数的值或多个预设体积参数的值，得到每个预设面积参数的值或每个体积参数的值的每个第一预设分子数对应的包含分子总数变量的期望值函数；

15 根据所述期望值函数，和所述每个预设面积参数或每个预设体积参数的所述每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到包含所述多个第一预设分子数和所述分子总数变量的拟合函数；

所述根据所述包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到所述分子总数变量的取值，包括：

根据所述包含所述多个第一预设分子数和所述分子总数变量的拟合函数处理，得到所述多个预设面积参数或多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值。

20 3、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述根据所述多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数，包括：

获取多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值；

25 根据所述多个第一预设分子数，和所述多个预设面积参数的值或所述多个预设体积参数的值，以及同一预设面积参数的值或同一预设体积参数的值对应的每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到每个预设面积参数的值或每个预设体积参数的值对应的包含所述第一预设分子数和所述分子总数变量的函数；

所述根据所述包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到所述分子总数变量的取值，包括：

30 根据所述每个预设面积参数的值或所述每个预设体积参数的值对应的包含分子总数变量的函数处理，得到所述多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的分子总数变量的取值。

4、根据权利要求2所述的方法，其特征在于，在所述获取多个第一预设分子数之前，还包括：

将分子散落在每个预设面积参数或每个预设体积参数对应的阵列中；

获取每个阵列中的分区中所含的分子数；

35 根据所述每个阵列中的分区中所含的分子数统计每个阵列中的多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量。

5、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，在所述获取多个第一预设分子数之前，还包括：

将分子散落在阵列中；

获取所述阵列中的每个分区中所含的分子数；

40 根据所述每个分区中所含的分子数统计多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量。

6、根据权利要求2所述的方法，其特征在于，所述根据所述期望值函数和所述每个预设面积参数或每个预设体积参数的所述每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到包含所述多个第一预设分子数和所述分子总数变量的拟合函数，包括：

根据所述期望值函数和所述每个第二预设分子数对应的分区数量确定求和项；

根据所述求和项及对应的权重，得到包含所述权重以及多个第一预设分子数和所述分子总数变量的拟合函数，其中，所述权重与分子总数变量的不确定度呈负相关。

7、根据权利要求6所述的方法，其特征在于，所述方法还包括：

5 根据所述拟合函数得到拟合优度；

获取加权矩阵和平均分子数变量对应的雅可比矩阵，其中，所述平均分子数变量是根据所述分子总数变量和分区总数之比得到的；

根据所述雅可比矩阵和所述加权矩阵得到估计方差；

根据所述拟合优度和所述估计方差得到所述平均分子数变量对应的不确定度；

10 根据所述平均分子数变量对应的不确定度确定所述求和项对应的权重。

8、根据权利要求2所述的方法，其特征在于，所述根据所述期望值函数和所述每个预设面积参数或每个预设体积参数的所述每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到包含所述多个第一预设分子数和所述分子总数变量的拟合函数，还包括：

根据所述期望值函数和所述每个第二预设分子数对应的分区数量确定求和项；

15 根据所述多个预设分子数得到每个第一预设分子数对应的方差函数；

将所述方差函数处理得到每个第一预设分子数对应的权重；

根据所述求和项及对应的权重得到包含所述权重的拟合函数。

9、根据权利要求1至8任意一项所述的方法，其特征在于，所述方法还包括：

针对同一份检测对象，检测预设次数，得到所述预设次数个分子总数变量的取值；

20 确定所述预设次数个取值的平均值；

将所述平均值作为所述同一份检测对象的分子总数。

10、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述根据所述多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数，包括：

25 根据所述多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量，进行拟合或者插值处理得到包含分子总数变量的函数。

11、根据权利要求1所述的方法，其特征在于，所述包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数用于表征多个第一预设分子数与每个第一预设分子数对应的分区数量的函数关系。

12、一种绝对定量装置，其特征在于，包括：

30 获取模块，用于获取多个第一预设分子数；

函数求取模块，用于根据所述多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数；

分子总数确定模块，用于根据所述包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到所述分子总数变量的取值。

35 13、一种计算机设备，包括存储器和处理器，所述存储器存储有计算机程序，其特征在于，所述处理器执行如下步骤：

获取多个第一预设分子数；

根据所述多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数；

40 根据所述包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到所述分子总数变量的取值。

14、根据权利要求13所述的计算机设备，其特征在于，所述处理器执行根据所述多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数，还执行以下步骤：

45 获取多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值；

根据所述多个第一预设分子数和多个所述预设面积参数的值或多个预设体积参数的值，得到每个预设面积参数的值或每个预设体积参数的值的每个第一预设分子数对应的包含分子总数变量的期望值函数；

根据所述期望值函数和所述每个预设面积参数或每个预设体积参数的所述每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到包含所述多个第一预设分子数和所述分子总数变量的拟合函数；

所述处理器执行所述根据所述包含多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到所述分子总数变量的取值，还执行以下步骤：

根据所述包含所述多个第一预设分子数和所述分子总数变量的拟合函数处理得到所述多个预设面积参数或多个预设体积参数对应的分子总数变量的取值。

15、根据权利要求 13 所述的计算机设备，其特征在于，所述处理器执行所述根据所述多个第一预设分子数和多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量处理得到包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数，还执行以下步骤：

获取多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值；

根据所述多个第一预设分子数和所述多个预设面积参数的值或所述多个预设体积参数的值，以及同一预设面积参数的值或同一预设体积参数的值对应的每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到每个预设面积参数的值或每个预设体积参数的值对应的包含所述第一预设分子数和所述分子总数变量的函数；

所述处理器执行根据所述包含所述多个第一预设分子数和分子总数变量的函数处理得到所述分子总数变量的取值，还执行以下步骤：

根据所述每个预设面积参数的值或所述每个预设体积参数的值对应的包含分子总数变量的函数处理得到所述多个预设面积参数的值或多个预设体积参数的值对应的分子总数变量的取值。

16、根据权利要求 14 所述的计算机设备，其特征在于，所述处理器执行获取多个第一预设分子数之前，还执行以下步骤：

将分子散落在每个预设面积参数或每个预设体积参数对应的阵列中；

获取每个阵列中的分区中所含的分子数；

根据所述每个阵列中的分区中所含的分子数统计每个阵列中的多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量。

17、根据权利要求 13 所述的计算机设备，其特征在于，所述处理器执行获取多个第一预设分子数之前，还执行以下步骤：

将分子散落在阵列中；

获取所述阵列中的每个分区中所含的分子数；

根据所述每个分区中所含的分子数统计多个第二预设分子数中每个第二预设分子数对应的分区数量。

18、根据权利要求 14 所述的计算机设备，其特征在于，所述处理器执行所述根据所述期望值函数和所述每个预设面积参数或每个预设体积参数的所述每个第二预设分子数对应的分区数量，处理得到包含所述多个第一预设分子数和所述分子总数变量的拟合函数，还执行以下步骤：

根据所述期望值函数和所述每个第二预设分子数对应的分区数量确定求和项；

根据所述求和项及对应的权重得到包含所述权重以及多个第一预设分子数和所述分子总数变量的拟合函数，其中，所述权重与分子总数变量的不确定度呈负相关。

19、根据权利要求 13-18 所述的计算机设备，其特征在于，所述处理器还执行以下步骤：

针对同一份检测对象，检测预设次数，得到所述预设次数个分子总数变量的取值；

确定所述预设次数个取值的平均值；

将所述平均值作为所述同一份检测对象的分子总数。

20、一种计算机可读存储介质，其上存储有计算机程序，其特征在于，所述计算机程序被处理器执行时实现权利要求 1 至 11 中任一项所述的方法的步骤。

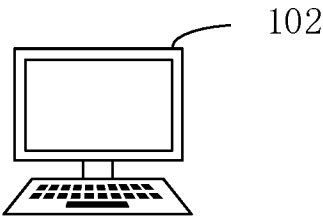


图 1

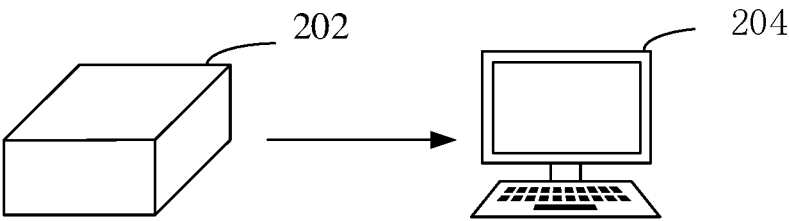


图 2

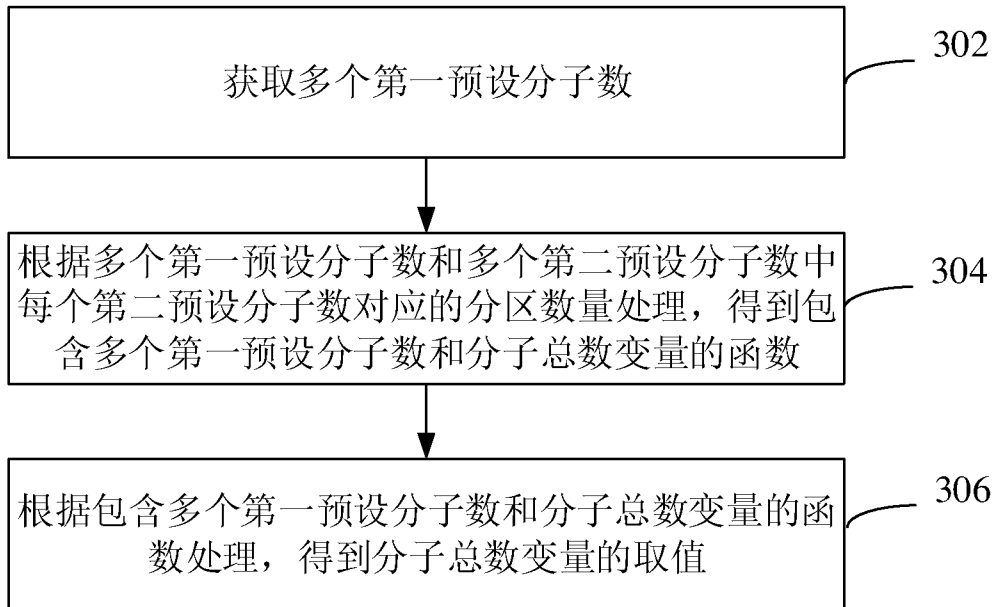


图 3

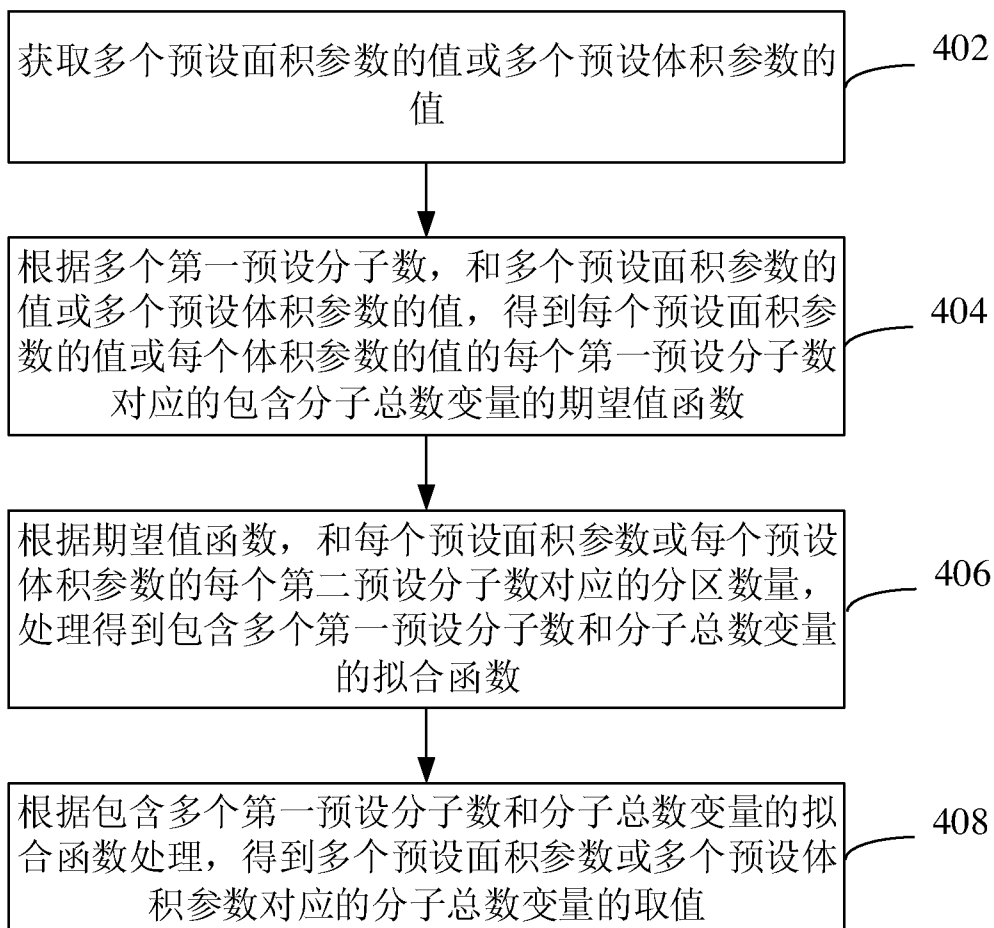


图 4

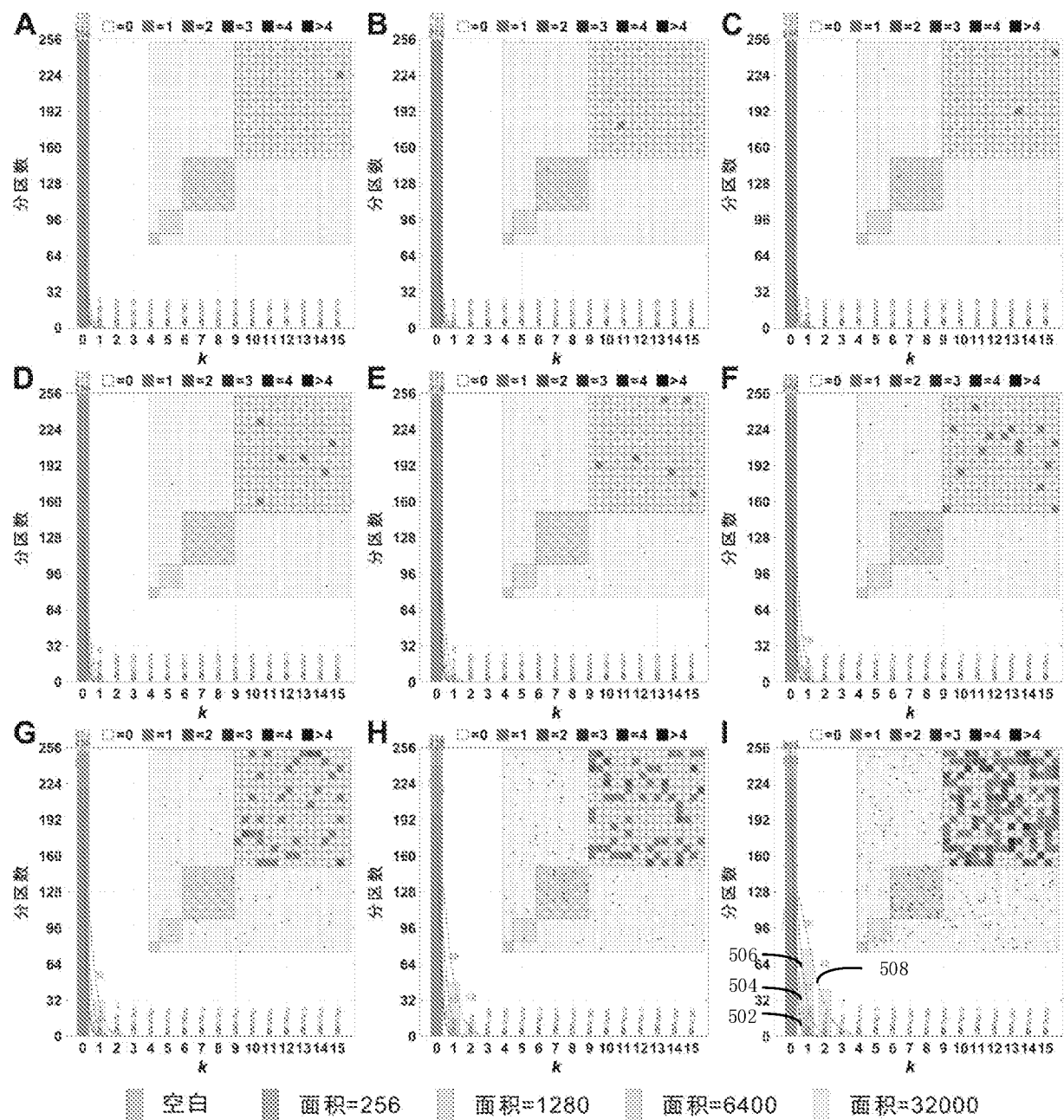


图 5

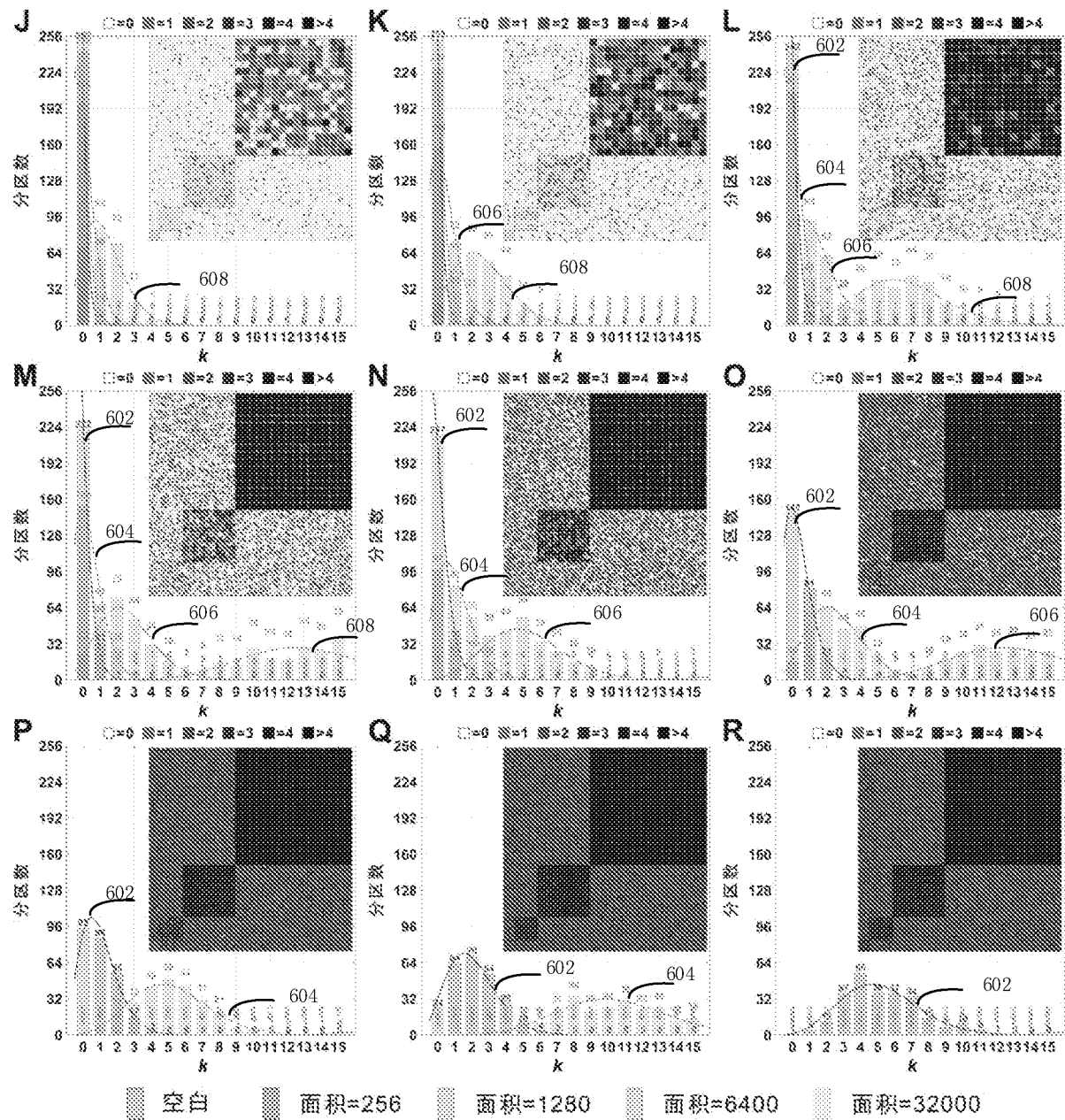


图 6

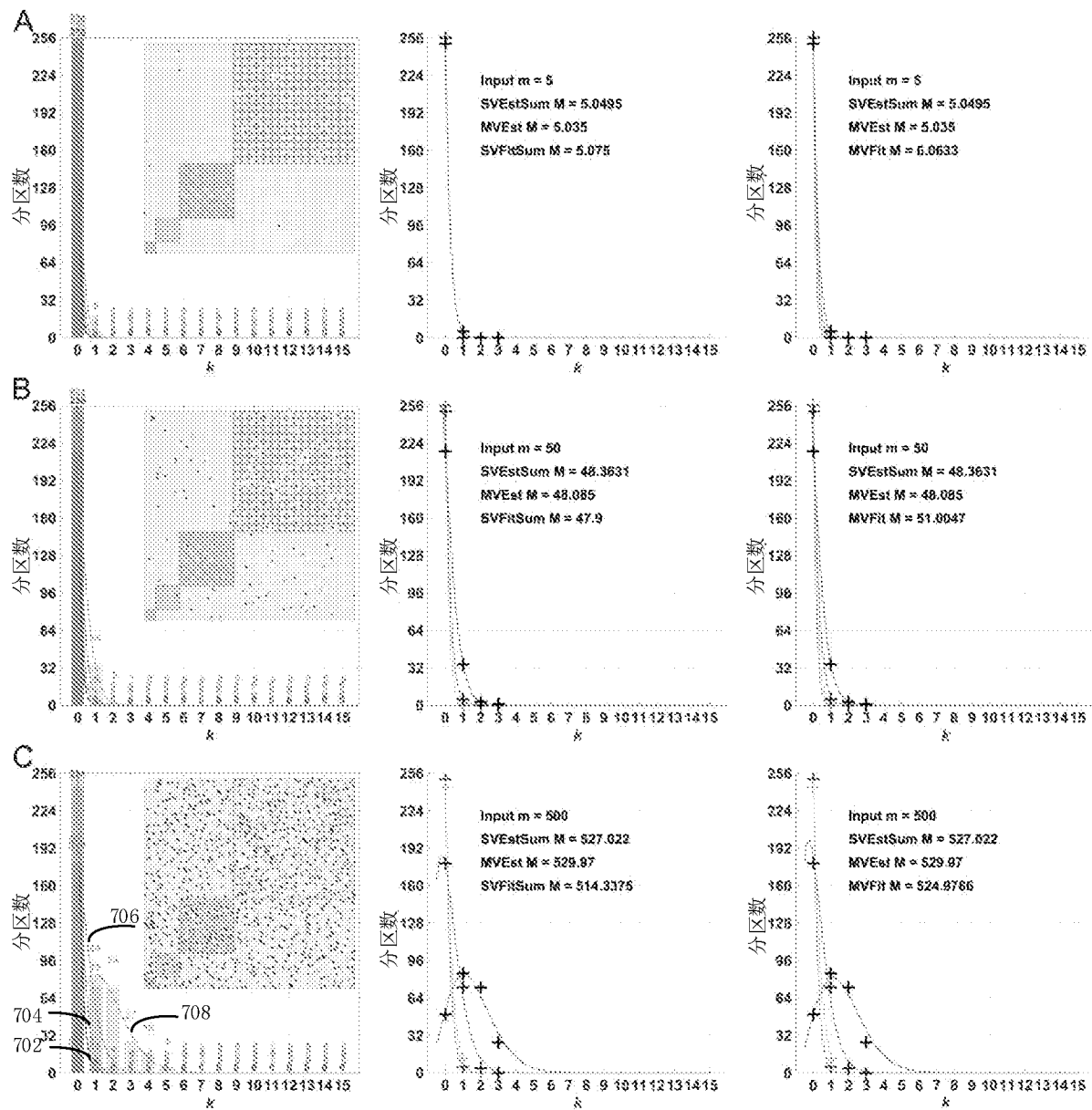


图 7

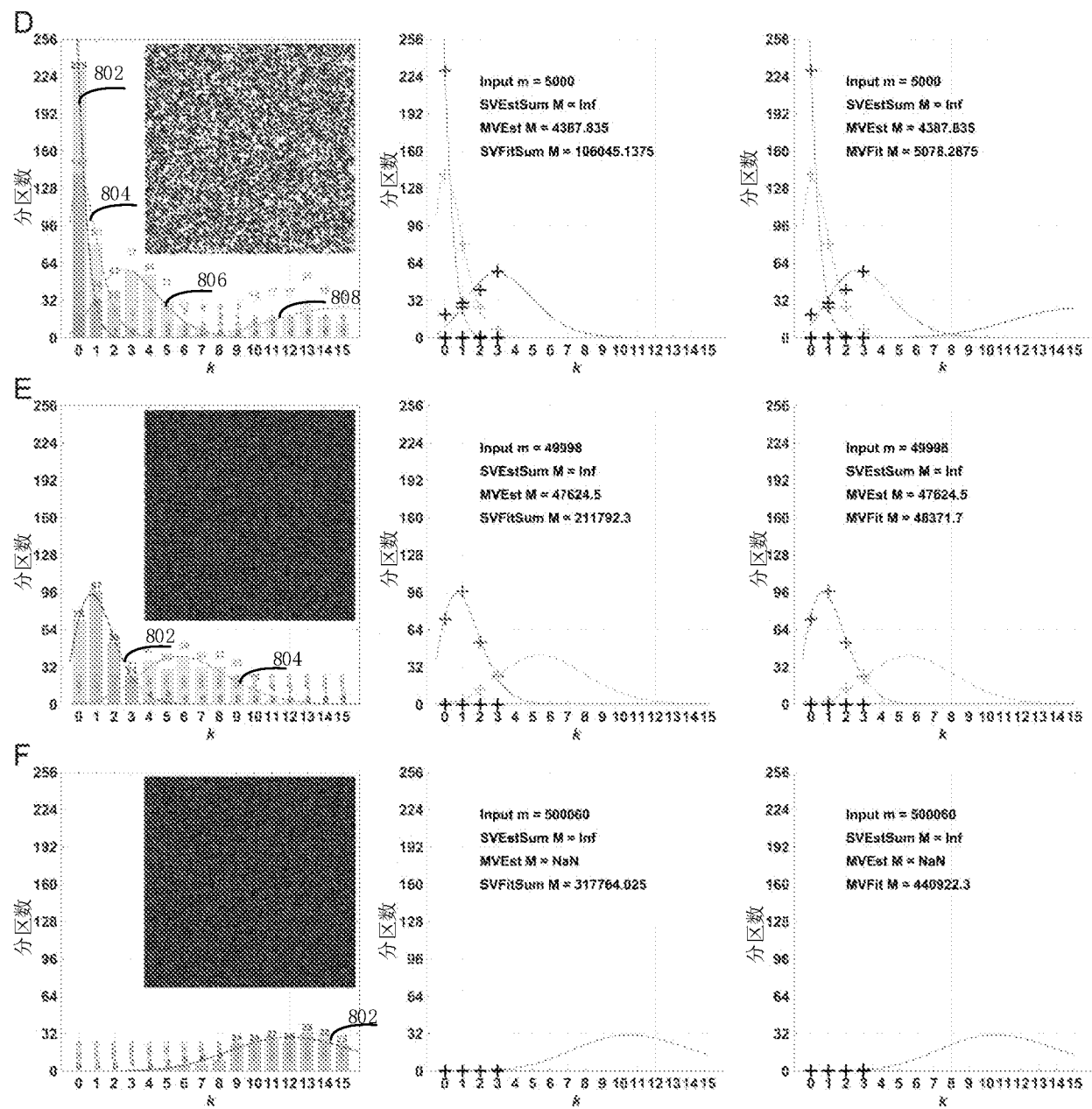


图 8

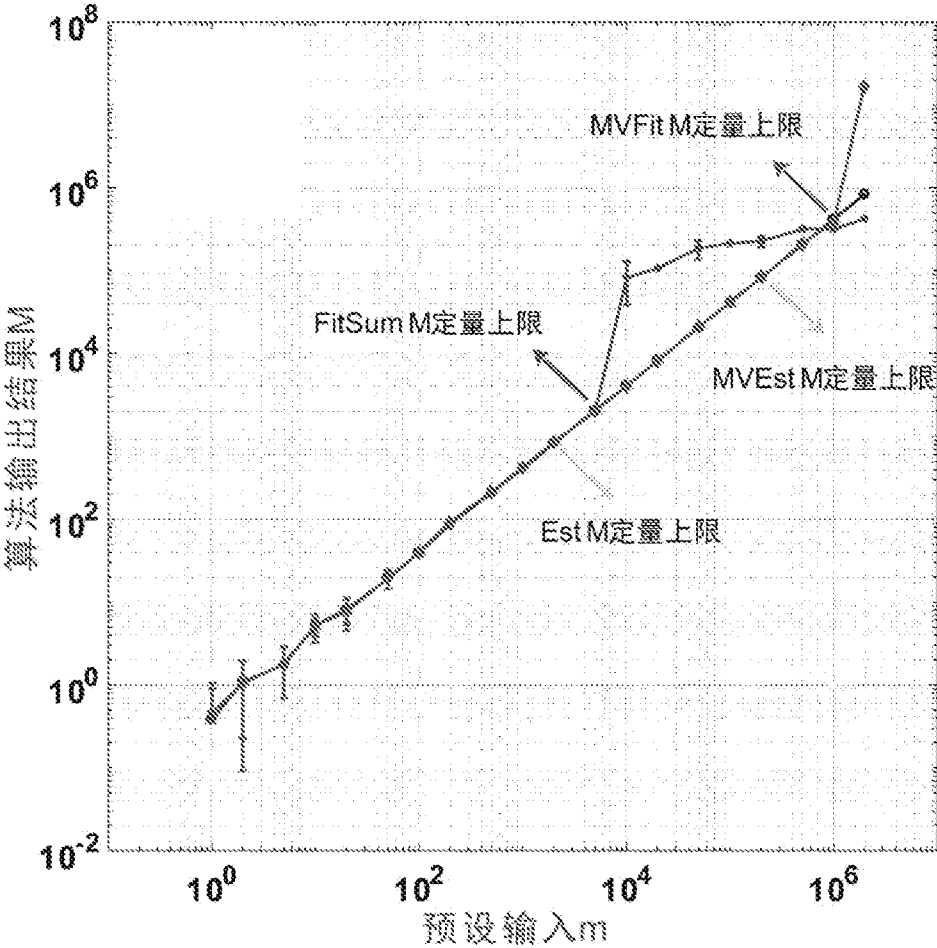


图 9

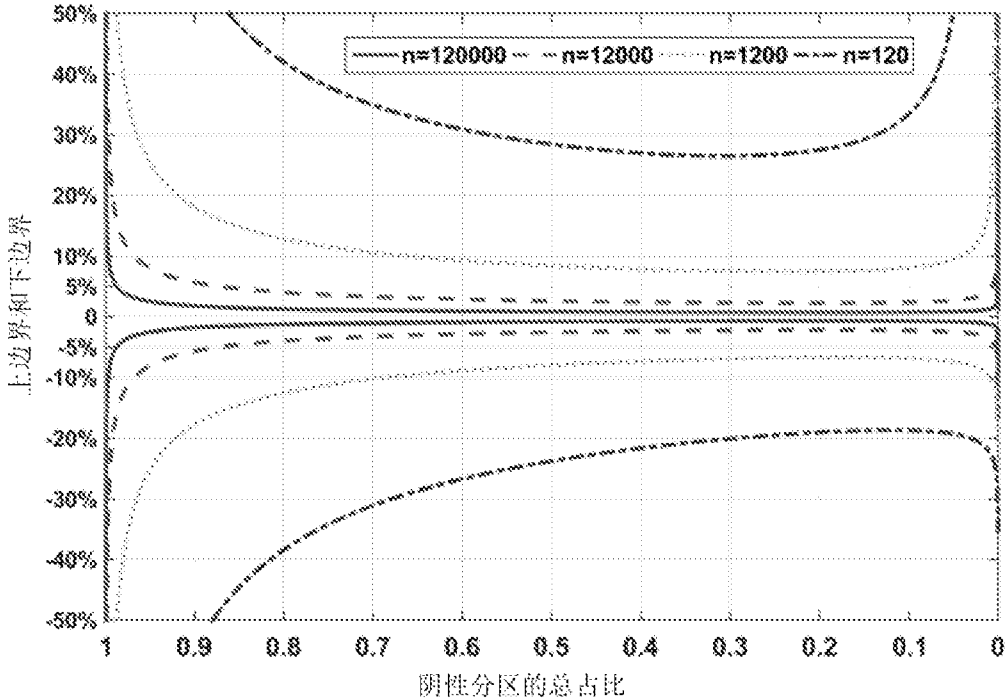


图 10

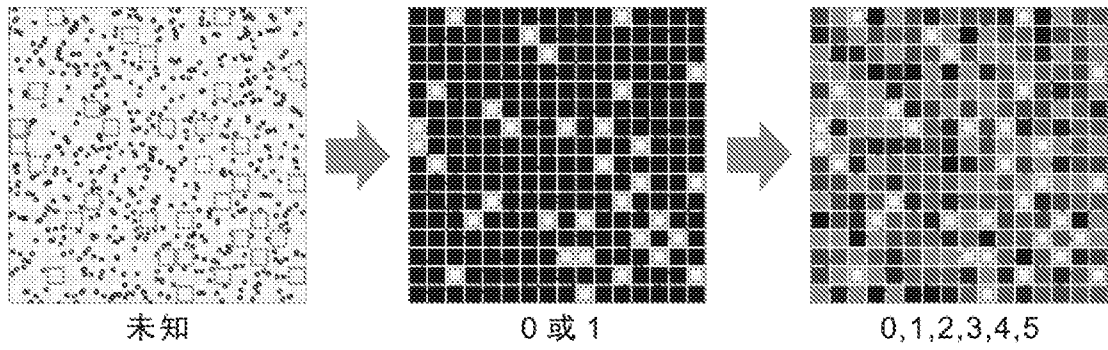


图 11

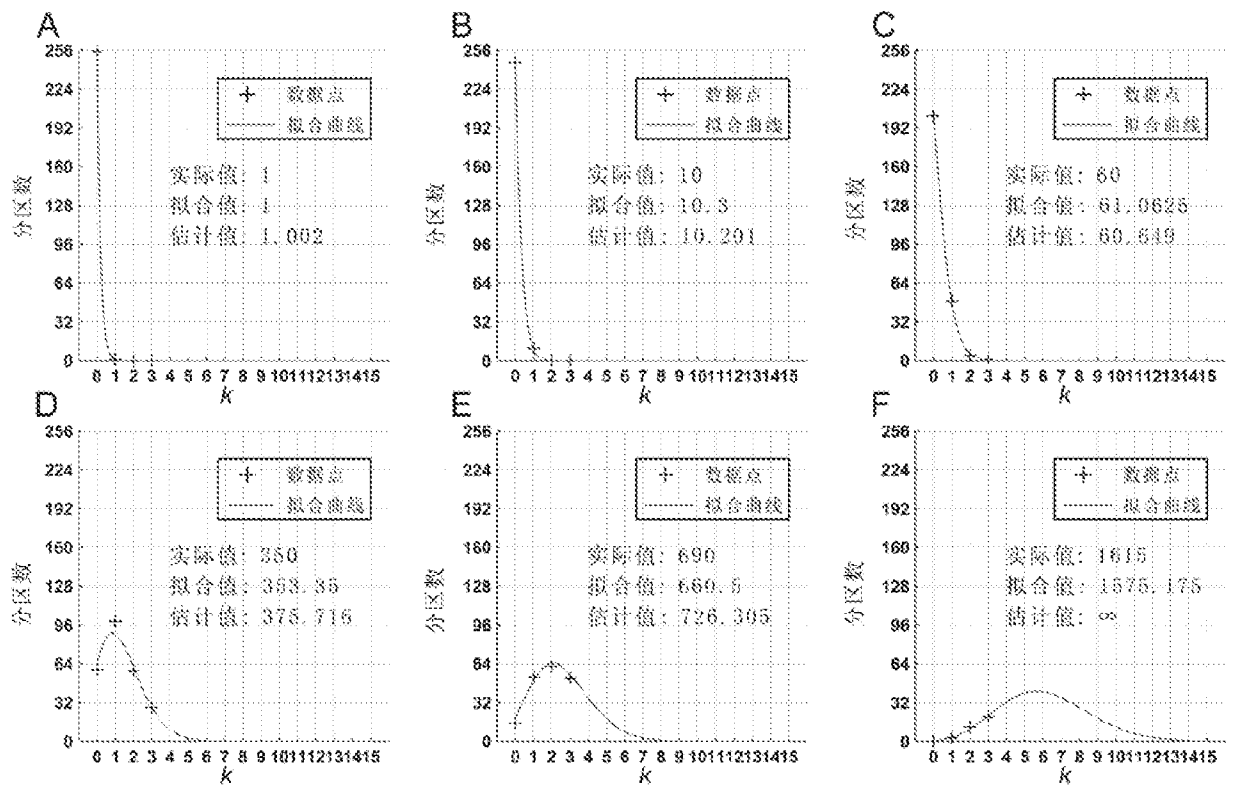


图 12

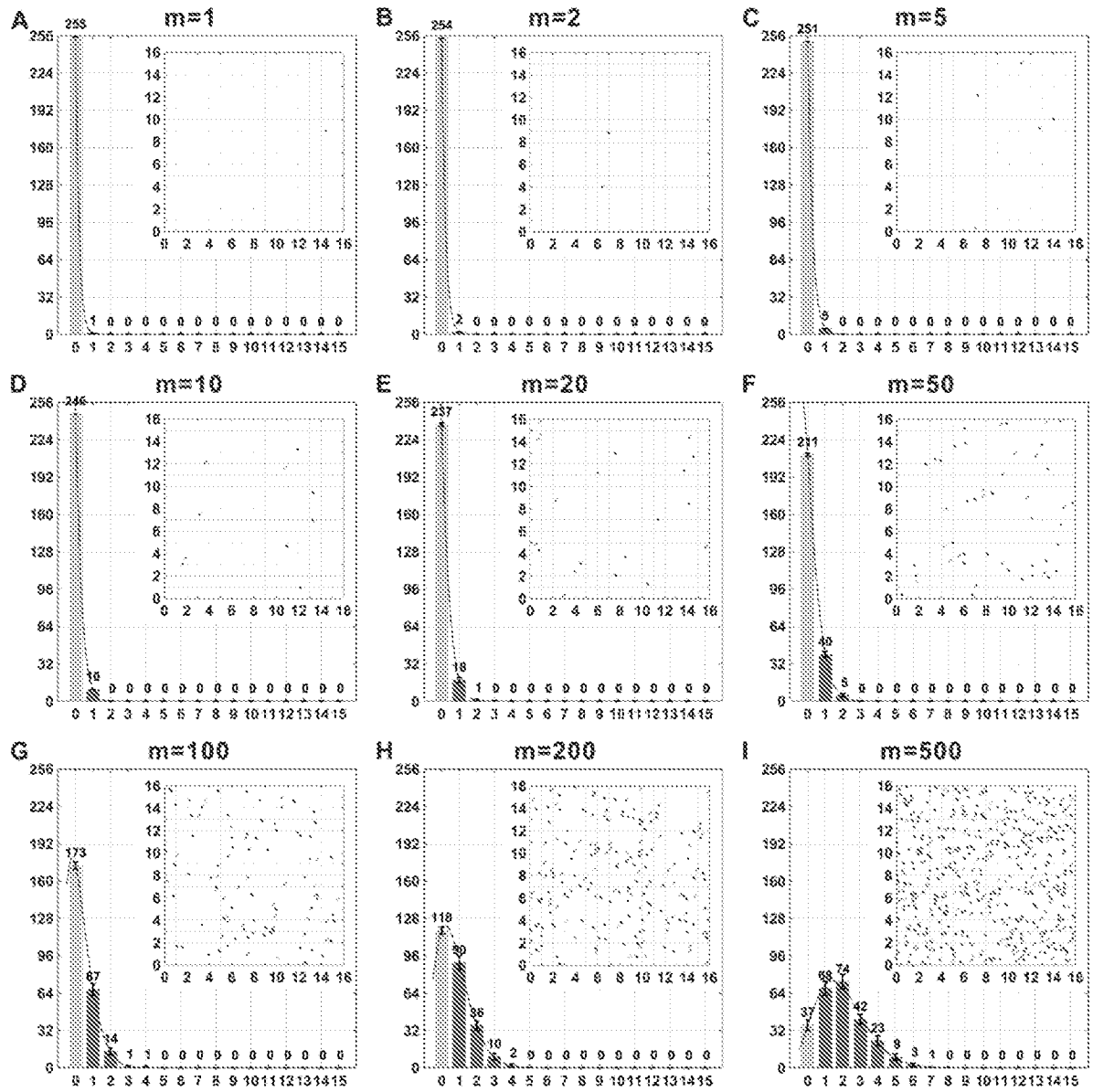


图 13

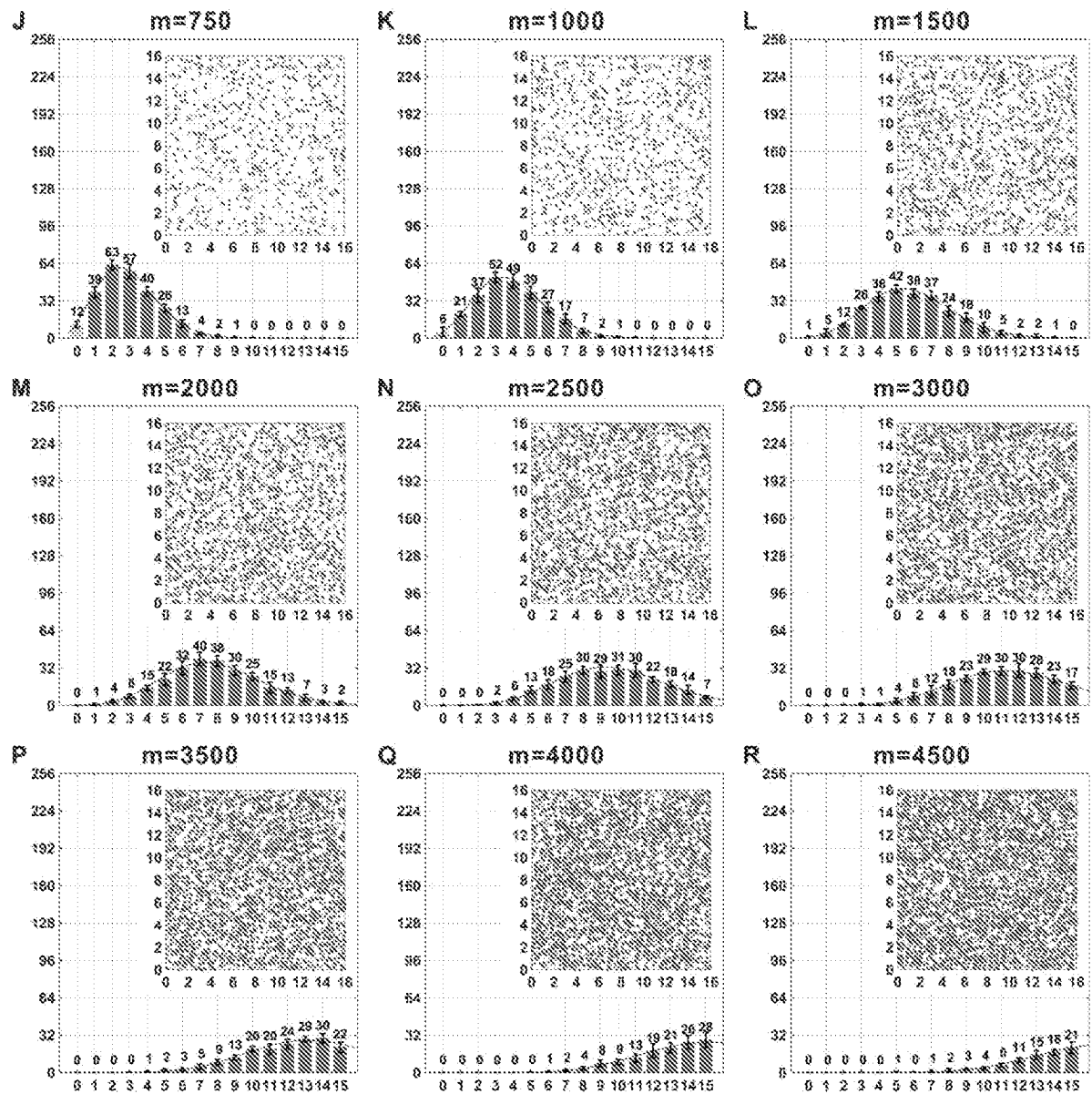


图 14

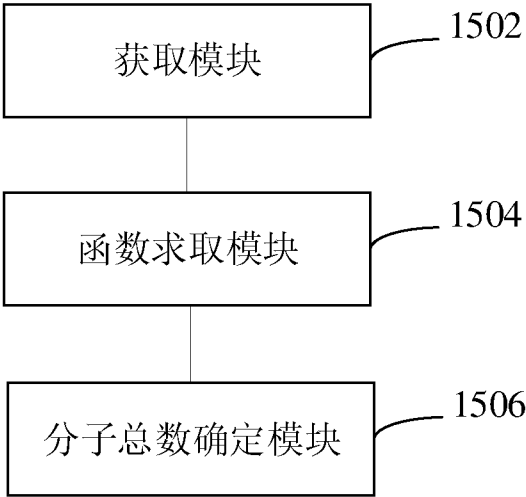


图 15

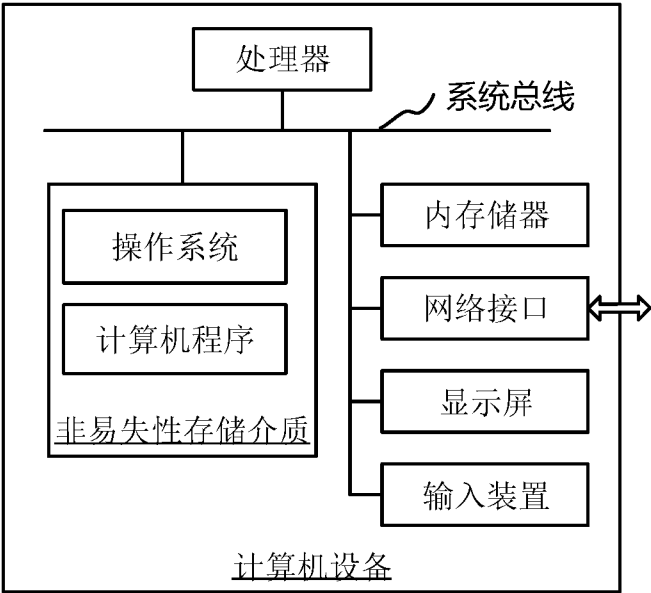


图 16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/081772

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q 1/6851(2018.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT, WPI, EPODOC, CNKI: 定量, 绝对定量, 数字多聚酶链式反应, 插值, 内插, 泊松, 分子, 数量, 总数, 拷贝, absolute, quantification, digital, PCR, interpolation, Poisson, molecule, number, copy

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BELJING CYCLOUD BIOTECHNOLOGY CO., LTD. "crystal数字PCR如何实现的核酸绝对定量? (How to Achieve Nucleic Acid Absolute Quantification by Crystal Number?)" http://www.bio-equip.com/showarticle.asp?ID=453092435 , 11 December 2017 (2017-12-11), pp. 1-3	1-20
A	CN 107574231 A (CREDO BIOMEDICAL PTE LTD.) 12 January 2018 (2018-01-12) entire document	1-20
A	CN 109187950 A (SHANGHAI I-READER BIOLOGICAL TECHNOLOGY CO., LTD.) 11 January 2019 (2019-01-11) entire document	1-20
A	WO 2018094091 A1 (COMBINATI INCORPORATED) 24 May 2018 (2018-05-24) entire document	1-20
A	WANG, Ping et al. "Absolute Quantification of Lung Cancer Related MicroRNA by Droplet Digital PCR" <i>Biosensors and Bioelectronics</i> , 31 December 2015 (2015-12-31), pp. 836-842	1-20



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

04 December 2019

Date of mailing of the international search report

20 December 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/081772

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	107574231	A	12 January 2018	JP	2018000188	A	11 January 2018
				US	2018011967	A1	11 January 2018
				JP	6442538	B2	19 December 2018
				EP	3266880	A1	10 January 2018
CN	109187950	A	11 January 2019	None			
WO	2018094091	A1	24 May 2018	CN	110177621	A	27 August 2019
				CA	3042724	A1	24 May 2018
				US	2019264260	A1	29 August 2019
				KR	20190084267	A	16 July 2019
				AU	2017363076	A1	20 June 2019
				EP	3541519	A1	25 September 2019

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/081772

A. 主题的分类 C12Q 1/6851(2018.01) i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类																				
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C12Q 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNPAT, WPI, EPDOC, CNKI: 定量, 绝对定量, 数字多聚酶链式反应, 插值, 内插, 泊松, 分子, 数量, 总数, 拷贝, absolute, quantification, digital, PCR, interpolation, Poisson, molecule, number, copy																				
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>北京深蓝云生物科技有限公司. "crystal数字PCR如何实现的核酸绝对定量?" http://www.bio-equip.com/showarticle.asp?ID=453092435, 2017年 12月 11日 (2017 - 12 - 11), 1-3页</td> <td>1-20</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 107574231 A (克雷多生物医学私人有限公司) 2018年 1月 12日 (2018 - 01 - 12) 全文</td> <td>1-20</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 109187950 A (上海艾瑞德生物科技有限公司) 2019年 1月 11日 (2019 - 01 - 11) 全文</td> <td>1-20</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2018094091 A1 (COMBINATI INCORPORATED) 2018年 5月 24日 (2018 - 05 - 24) 全文</td> <td>1-20</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WANG, Ping 等. "Absolute quantification of lung cancer related microRNA by droplet digital PCR" Biosensors and Bioelectronics, 2015年 12月 31日 (2015 - 12 - 31), 836-842页</td> <td>1-20</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	北京深蓝云生物科技有限公司. "crystal数字PCR如何实现的核酸绝对定量?" http://www.bio-equip.com/showarticle.asp?ID=453092435, 2017年 12月 11日 (2017 - 12 - 11), 1-3页	1-20	A	CN 107574231 A (克雷多生物医学私人有限公司) 2018年 1月 12日 (2018 - 01 - 12) 全文	1-20	A	CN 109187950 A (上海艾瑞德生物科技有限公司) 2019年 1月 11日 (2019 - 01 - 11) 全文	1-20	A	WO 2018094091 A1 (COMBINATI INCORPORATED) 2018年 5月 24日 (2018 - 05 - 24) 全文	1-20	A	WANG, Ping 等. "Absolute quantification of lung cancer related microRNA by droplet digital PCR" Biosensors and Bioelectronics, 2015年 12月 31日 (2015 - 12 - 31), 836-842页	1-20
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
X	北京深蓝云生物科技有限公司. "crystal数字PCR如何实现的核酸绝对定量?" http://www.bio-equip.com/showarticle.asp?ID=453092435, 2017年 12月 11日 (2017 - 12 - 11), 1-3页	1-20																		
A	CN 107574231 A (克雷多生物医学私人有限公司) 2018年 1月 12日 (2018 - 01 - 12) 全文	1-20																		
A	CN 109187950 A (上海艾瑞德生物科技有限公司) 2019年 1月 11日 (2019 - 01 - 11) 全文	1-20																		
A	WO 2018094091 A1 (COMBINATI INCORPORATED) 2018年 5月 24日 (2018 - 05 - 24) 全文	1-20																		
A	WANG, Ping 等. "Absolute quantification of lung cancer related microRNA by droplet digital PCR" Biosensors and Bioelectronics, 2015年 12月 31日 (2015 - 12 - 31), 836-842页	1-20																		
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																				
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "D" 申请人在国际申请中引证的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件																				
国际检索实际完成的日期 2019年 12月 4日		国际检索报告邮寄日期 2019年 12月 20日																		
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		授权官员 胡丽丽 电话号码 86-(10)-53961386																		

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/081772

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	107574231	A	2018年 1月 12日	JP	2018000188	A	2018年 1月 11日
				US	2018011967	A1	2018年 1月 11日
				JP	6442538	B2	2018年 12月 19日
				EP	3266880	A1	2018年 1月 10日
CN	109187950	A	2019年 1月 11日	无			
WO	2018094091	A1	2018年 5月 24日	CN	110177621	A	2019年 8月 27日
				CA	3042724	A1	2018年 5月 24日
				US	2019264260	A1	2019年 8月 29日
				KR	20190084267	A	2019年 7月 16日
				AU	2017363076	A1	2019年 6月 20日
				EP	3541519	A1	2019年 9月 25日