[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
G01F 25/00 (2006.01)
G01F 19/00 (2006.01)

[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710067192.8

[43] 公开日 2007 年 8 月 8 日

[11] 公开号 CN 101013046A

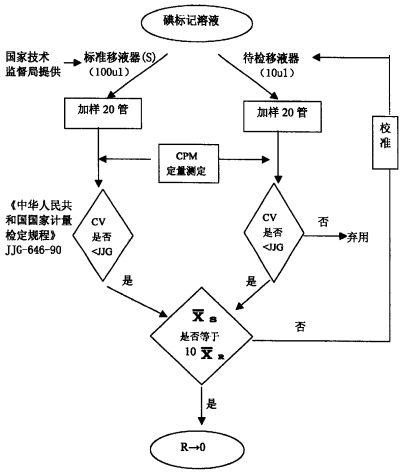
[22] 申请日 2007.2.6
[21] 申请号 200710067192.8
[71] 申请人 王志刚
地址 314000 浙江省嘉兴市环城北路 1518 号
[72] 发明人 王志刚 曹浩强
[74] 专利代理机构 杭州求是专利事务所有限公司
代理人 林怀禹
权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 1 页

[54] 发明名称

移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法

[57] 摘要

本发明公开了一种移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，包括如下步骤：1. 标准移液器吸液：将标准移液器的滴头浸入放射性同位素标记溶液内，滴头完全吸满；2. 标准移液器放液：将标准移液器移至试管底部并排空其内的溶液；3. 重复上述过程，利用标准移液器共加样若干管；4. 平行试验：用待检移液器吸取同一放射性同位素标记溶液，重复上述 1－3 步骤，用待检移液器也在相同数量的试管内加样；5. 结果测定：将上述已加样的试管同时放到 γ 计数仪上单孔测定 CPM 值，通过测得的 CPM 值来判断反应体系的放射性同位素颗粒数量，对标准移液器和待检移液器进行容量比对与校准。 本发明方法具有灵敏度高、重复性好、操作简便等优点。



1、移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，其特征在于，它包括如下工作步骤：1、标准移液器吸液：将标准移液器的滴头浸入放射性同位素标记溶液内，滴头完全吸满；2、标准移液器放液：将标准移液器移至试管底部并排空其内的放射性同位素标记溶液；3、重复上述过程，利用标准移液器共加样若干管；4、平行试验：用待检移液器吸取同一放射性同位素标记溶液，重复上述1-3步骤，用待检移液器也在相同数量的试管内加样；5、结果测定：将上述已加样的试管同时放到γ计数仪上单孔测定CPM值，通过测得的CPM值来判断反应体系的放射性同位素颗粒数量，对标准移液器和待检移液器进行容量比对与校准。

2、如权利要求1所述的移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，其特征在于，利用标准移液器和待检移液器各在20个试管内加样。

3、如权利要求1或2所述的移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，其特征在于，在吸液前，先将标准移液器和待检移液器及吸液嘴与放射性同位素标记溶液在室温平衡30分钟。

4、如权利要求1或2所述的移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，其特征在于，在吸液前，先将放射性同位素标记溶液用蒸馏水稀释，最终将浓度控制在CPM值为20000—50000 / 100μl之间，使溶液充分混均。

5、如权利要求1或2所述的移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，其特征在于，在吸液前先进行预吸液，即选择洁净、合适的吸液嘴安置在标准移液器套筒上，压紧吸液嘴使之与套筒之间无空气间隙，预吸入放射性同位素标记溶液并排回原容器中，吸液、排液重复多次。

6、如权利要求1或2所述的移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，其特征在于，吸液时，将标准移液器和待检移液器的滴头浸入放射性同位素标记溶液液面下2—3mm处,然后缓慢平稳地放松按钮，待1—2秒钟滴头完全吸满后，滴头离开液面，贴壁停留2—3秒，淌走多余的液体。

7、如权利要求1或2所述的移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，其特征在于，放液时，将标准移液器和待检移液器移至已编号试管底部，保持垂直状态，轻轻压下按钮至第一停点位置，等待1—2秒钟，移动滴头贴内壁，完全揿下按钮，以排尽滴头内的放射性同位素标记溶液，然后将滴头沿内壁向上移开。

8、如权利要求1或2所述的移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，其特征在于，测定得到CPM值后计算出两移液器的CPM均值，利用公式CV = SD/ CPM均值 ×100%和R=[待检移液器均值×容量校准系数 - 标准移液器均值]/ 标准移液器均值 × 100%相对误差分别计算出CV值（表示移液器的精密度---反映随机误差）及相对误差R（表示待检移液器的准确度---反映系统误差）；对CV值超过标准规定误差范围的移液器弃用；如待检移液器的CV值符合规定但其CPM均值×容量校准系数与标准移液器的CPM均值不相等时，调节移液器顶部旋钮，调整其容量大小；再次重复1-5及上述步骤，直至待检移液器CPM均值×容量校准系数与标准移液器的CPM均值相等，即R趋向于0为止。

9、如权利要求1或2所述的移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，其特征在于，所述放射性同位素为^{125}I。

移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法

技术领域

本发明涉及到一种对移液器容量的精确度进行比对与校准的方法，具体地说是一种采用 ^{125}碘（^{125}I）分子标记法对移液器尤其是 0.5～20μl 微量移液器容量的精确度进行比对与校准的鉴定方法。

背景技术

移液器是采用空气排代原理的量出式加样器，广泛应用于医药卫生、环境检测、食品安全、精细化工等技术领域，是各科研所、实验室定量分析的常用工具。移液器容量的精确度，直接关系到实验结果的可靠性。目前，国内外移液器容量精确度的校准方法有两种：①重量分析法。《中华人民共和国国家计量检定规程》JJG 646-90 规定，用蒸馏水称重法作为移液器容量精确度检定的标准方法，但该操作繁琐，实验受到气温、湿度、气压等影响，同时检测灵敏度较低，仅为 0.1mg ，实验误差较大，且 3 次称重结果很难判别误差引起的原因，此法适用于容量为 20μl 以上移液器的校准。②分光光度测定法。如重铬酸钾法、曙红法等，此方法应用“朗拜-比耳”比色原理，缺陷是对高浓度、低浓度溶液存在线性偏差，检测灵敏度为 10^{-3}—10^{-4}g/L。另外，对容量小于 20ul 的微量移液器，国内外至今尚未提出或建立起有效的比对与校准方法，而小容量移液器正是分子生物学、基因工程、蛋白质工程实验的主要加样工具。

发明内容

本发明所要解决的技术问题在于提出一种灵敏度高、重复性好、操作简便的移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法。

为解决上述技术问题，本发明移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法包括如下工作步骤：1、标准移液器吸液：将标准移液器的滴头浸入放射性同位素标记溶液内，滴头完全吸满；2、标准移液器放液：将标准移液器移至试管底部并排空其内的放射性同位素标记溶液；3、重复上述过程，利用标准移液器共加样若干管；4、平行试验：用待检移液器吸取同一放射性同位素标记溶液，重复上述 1-3 步骤，用待检移液器也在相同数量的试管内加样；5、结果测定：将上述已加样的试管同时放到γ计数仪上单孔测定 CPM 值，通过测得的 CPM 值来判断反应体系的放射性同位素颗粒数量，对标准移液器和待检移液器进行容量比对与校准。

上述移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，利用标准移液器和待检移液器各在 20 个试管内加样。

上述移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，在吸液前，先将标准移液器和待检移液器及吸液嘴与放射性同位素标记溶液在室温平衡 30 分钟。

上述移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，在吸液前，

先将放射性同位素标记溶液用蒸馏水稀释，最终将浓度控制在 CPM 值为 20000—50000 / 100μl 之间，使溶液充分混均。

上述移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，在吸液前先进行预吸液，即选择洁净、合适的吸液嘴安置在标准移液器套筒上，压紧吸液嘴使之与套筒之间无空气间隙，预吸入放射性同位素标记溶液并排回原容器中，吸液、排液重复多次。

上述移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，吸液时，将标准移液器和待检移液器的滴头浸入放射性同位素标记溶液液面下 2—3mm 处，然后缓慢平稳地放松按钮，待 1—2 秒钟滴头完全吸满后，滴头离开液面，贴壁停留 2—3 秒，淌走多余的液体。

上述移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，放液时，将标准移液器和待检移液器移至已编号试管底部，保持垂直状态，轻轻压下按钮至第一停点位置，等待 1—2 秒钟，移动滴头贴内壁，完全撤下按钮，以排尽滴头内的放射性同位素标记溶液，然后将滴头沿内壁向上移开。

上述移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，测定得到 CPM 值后计算出两移液器的 CPM 均值，利用公式 CV = SD/ CPM 均值 ×100%和 R=[待检移液器均值 × 容量校准系数 - 标准移液器均值]/ 标准移液器均值 ×100%相对误差分别计算出 CV 值（表示移液器的精密度---反映随机误差）及相对误差 R（表示待检移液器的准确度---反映系统误差）；对 CV 值超过标准规定误差范围的移液器弃用；如待检移液器的 CV 值符合规定但其 CPM 均值 × 容量校准系数与标准移液器的 CPM 均值不相等时，调节移液器顶部旋钮，调整其容量大小；再次重复 1-5 及上述步骤，直至待检移液器 CPM 均值 × 容量校准系数与标准移液器的 CPM 均值相等，即 R 趋向于 0 为止。

上述移液器容量精确度的放射性同位素标记法比对与校准方法，所述放射性同位素为 ^{125}I。

本发明由于采用了上述方法，它通过标准移液器与待检移液器对同一放射性同位素（^{125}I）标记溶液吸样，并在 γ 计数仪上测定 CPM 值。由于在同一 ^{125}I 标记浓度下，颗粒数的多少反映容量的大小，从而可对两移液器的容量进行比对，并计算出相对误差。测定结果的 CV 值应在《定量、可调移液器计量检定规程》JJG 646-90 规定的允许误差范围之内。对 CV 值超过 JJG 646-90 规定误差范围的移液器应弃用；如 CV 符合规定，且待检移液器的 CPM 均值 × 容量校准系数后与标准移液器的 CPM 均值相等，则表示两者容量相同。如果待检移液器的 CV 符合规定，但与标准移液器的 CPM 均值不相等时，表示两者容量不相同。这时，就需要对待检移液器的容量进行校准：用专用扳手调节移液器顶部旋钮，顺时针旋转，容量调大；逆时针旋转，容量调小，随后再进行 20 次标记溶液加样测定，直至待检移液器 CPM 均值 × 容量校准系数后与标准移液器之间的 CPM 均值相等为止。它利用放射性同位素标记技术的高灵敏性与稳定性特点，以 125 碘（^{125}I）为示踪材料，以放射性 γ 计数仪为检测设备，以每分钟脉冲数计数（Counts per minute，CPM）为观察指标，以《中华人民共和国国家计量检定规程》JJG 646-90 为判断标准，建立与评价放射性同位素法比对与校准移液器容量的方法

学。该法不受气温、气压及人为因素影响，且检测灵敏度 10-6—10-9g/L，在纳克/升水平的回收率接近 100%，125I 比活性值 1.74×104Ci/g，γ 射线能量 35.5kev，半衰期 59.7 天，达到超微量定量分析的技术水平。利用本发明方法，可以更好地执行关于医疗机构间医学检验、医学影像检查互认的有关规定，既是各实验室内部质量控制的具体要求，又为推进医疗机构间医学检验、检查结果“一单通”提供了技术保障。

附图说明

图 1 是本发明比对与校准方法的流程图。

具体实施方式：

下面以 10μl 待检移液器与 100μl 标准移液器的比对与校准方法为例进行具体说明。该方法包括如下工作步骤：

1、确定标准移液器：选用 1 支已经国家计量部门检定的 100μl 移液器作为本次实验的标准加样器。

2、^{125}I 标记溶液配制：将 ^{125}I 标记物用蒸馏水溶解稀释，并将最终将浓度控制在 CPM 值为 20000—50000 / 100μl 之间，溶液充分混均。这样，CPM 值的线性关系比较好，同时也可减少由于自然界中放射本底产生的误差（误差可小于 0.5%）。

3、温度平衡：将标准移液器、待检移液器和 ^{125}I 标记溶液在室温平衡 30 分钟。这样，可使吸液嘴的热胀冷缩度一致，同时溶液中溶质和溶剂能充分混合均匀，保证检测的一致性。

4、容量设定：转动待检移液器顶部调节旋钮，将待检移液器的容量调节到 10μl 刻度。

5、预吸液：选择洁净、合适的吸液嘴安置在标准移液器套筒上，稍加扭转压紧吸液嘴使之与套筒之间无空气间隙。垂直握持移液器，预吸入 ^{125}I 标记溶液并排回原容器中，吸液、排液共重复 5 次，整个操作动作柔和，避免按钮急速弹回。由于水第一次吸附到吸液嘴上时会有粘附，通过 5 次预吸后就能使吸液嘴保持湿润度，保证以后吸液和放液的吸附性保持一致。

6、吸液：垂直握持标准移液器，把按钮压至第一停点，滴头浸入 ^{125}I 标记溶液液面下 2—3mm 处，然后缓慢平稳地放松按钮，等 1—2 秒钟滴头完全吸满后，滴头离开液面，贴壁停留 2—3 秒，淌走多余的液体。

7、放液：将移液器移至已编号试管底部，保持垂直状态，轻轻压下按钮至第一停点位置，等待 1—2 秒钟，移动滴头再贴内壁，完全掀下按钮，以排尽滴头内的 ^{125}I 标记溶液，然后将滴头沿试管内壁向上移开，用标准移液器共加样 20 管。

8、平行试验：用待检移液器吸取同一 ^{125}I 标记溶液，重复上述 4-7 步骤，用待检移液器也加样 20 管。

9、结果测定：将上述已加样40管的试管放到γ计数仪上单孔测定CPM值，通过CPM值来判断反应体系的^{125}I颗粒数量。在同一浓度条件下，颗粒数的多少反映出了容量的大小，从而可对两移液器的容量进行相互比较。

10、计算方法：通过上述标准移液器与待检移液器各20次加样，测CPM值，计算出各移液器的CPM均值、CV及相对误差R。计算公式为：CV＝SD/ 均值 × 100%;相对误差(R)=[待检移液器均值×容量校准系数 － 标准移液器均值]/ 标准移液器均值 × 100%。

11、容量比对：CV值应在《定量、可调移液器计量检定规程》JJG 646-90规定的允许误差范围之内。对CV值超过JJG 646-90规定误差范围的移液器应弃用；如CV在JJG 646-90规定范围，且待检移液器CPM均值×10与标准移液器CPM均值相等，即R=0时，则表示两者容量相同。

12、容量校准：当待检移液器CV在JJG 646-90规定范围，但两者CPM均值不相等时，表示两者容量不一致；这时，就需要对待检移液器的容量进行校准：用专用扳手调节移液器顶部旋钮，顺时针旋转，容量调大；逆时针旋转，容量调小；随后再次重复5-12步骤，直至待检移液器CPM均值（$\bar{X}_R$）×10与标准移液器CPM均值（$\bar{X}_S$）相等，即R趋向于0为止。

本发明方法中所用的标记溶液，可以采用其它放射性同位素标记溶液，如32磷（32P）、51铬（51Cr）、60钴（60Co）、131碘（131I）、99mTc等。另外，移液器的加样试管数可以不是20根，如10根、25根等等，加样20根的准确性会更高一些。

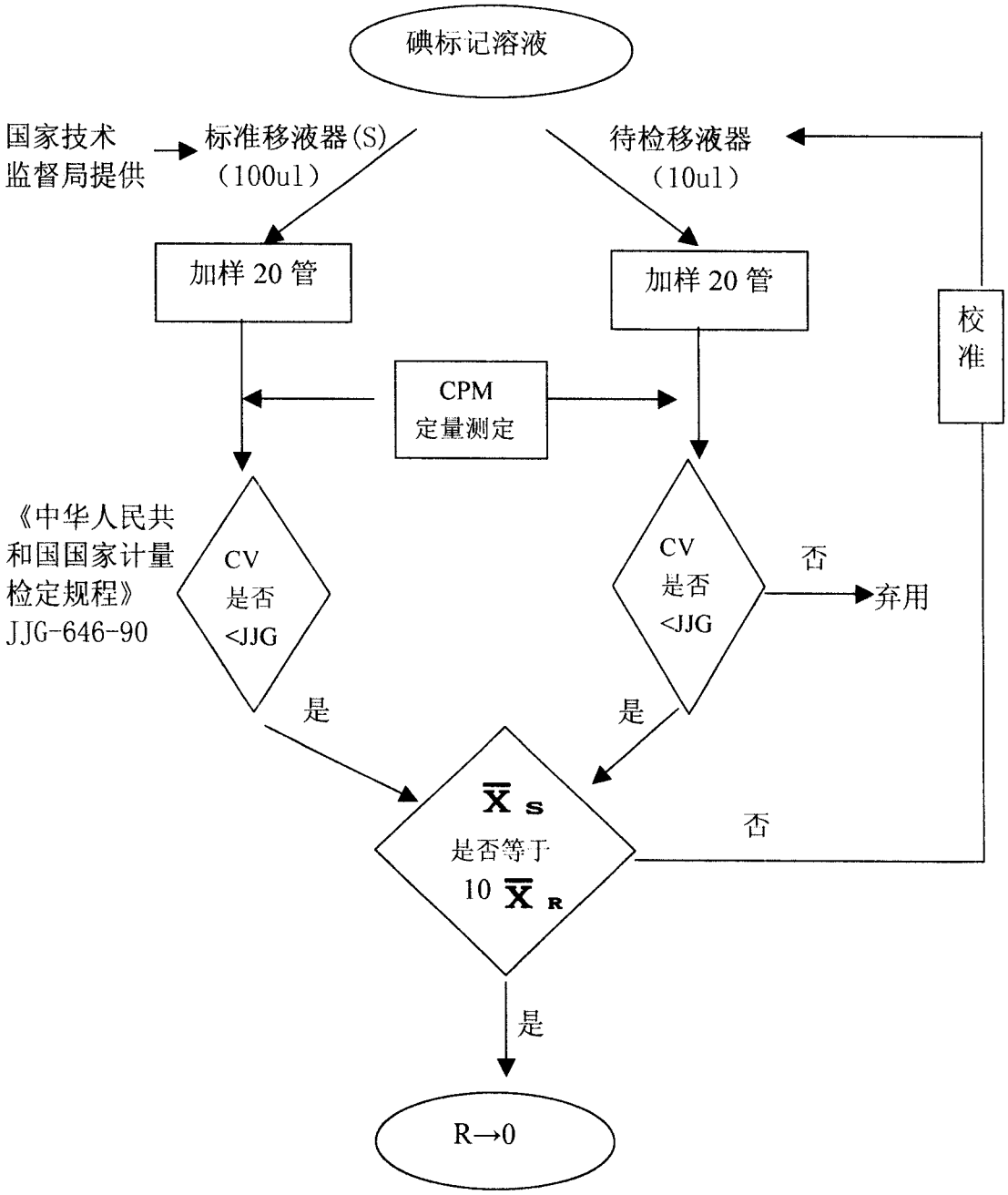

碘标记溶液
国家技术
监督局提供
标准移液器(S)
(100ul)
待检移液器
(10ul)
加样 20 管
加样 20 管
校准
CPM
定量测定
《中华人民共和国国家计量检定规程》JJG-646-90
CV
是否
<JJG
CV
是否
<JJG
否
弃用
是
是
$\bar{X}_S$
是否等于
10 $\bar{X}_R$
否
是
R→0

图 1