

# 全自动液滴数字 PCR 系统 (Neptune32) 性能验证报告

设备名称	全自动液滴数字 PCR 系统 (Neptune32)
设备编号	D23050601
用户单位	
设备厂家	北京栎海生物科技有限公司
验证结果	合格
验证日期	2023. 9. 28
实验人员	刘畅

# 目 录

一、实验目的 .....	3
二、实验分析及结论 .....	3
三、实验设计 .....	4
四、实验设计及试剂耗材 .....	4
五、实验方法 .....	4
六、实验结果 .....	5
1、高、中、低灵敏度 HER2 参考品样本重复性 (L1、L2、L3、L4) 实验结果 .....	5
2、HER2 参考品中浓度 (L3) 重复性实验结果 .....	错误! 未定义书签。
3、HER2 参考品梯度稀释线性 (P1、P2、P3、P4、P5) 实验结果 .....	错误! 未定义书签。

## 一、实验目的

全自动液滴数字 PCR 系统 (Neptune32) 安装后, 通过测试 HER2 参考品评估仪器 5 个荧光通道的线性、重复性 CV, 对仪器的主要性能进行综合评估。

## 二、分析及结论

根据实验测试 HER2 参考品的梯度稀释实验, 根据实验结果进行统计:

### 2.1 高、中、低灵敏度 HER2 参考品样本重复性 (L1、L2、L3、L4) 实验

#### 2.1.1 实验结果:

样本编号	CV (ROX)	CV (VIC)	CV (FAM)	R <sup>2</sup> (425)	R <sup>2</sup> (CY5)
L1	1.36%	4.46%	1.42%	1.70%	1.51%
L2	1.90%	2.75%	1.46%	1.90%	1.81%
L3	3.29%	3.02%	2.96%	2.88%	3.30%
L4	2.58%	5.42%	2.42%	2.23%	2.38%

2.1.2 结果分析: 高、中、低灵敏度参考品样本重复性 CV ≤ 10%, 表明定量检测结果批间一致性较好

### 2.2 HER2 参考品中浓度 (L3) 重复性实验

#### 2.2.1 实验结果:

重复	ROX (cps/μl)	VIC (cps/μl)	FAM (cps/μl)	425 (cps/μl)	CY5 (cps/μl)
第一次测试平均值	412.301	129.241	409.853	412.945	414.656
第二次测试平均值	397.004	129.546	395.796	399.137	398.959
CV	4.42%	3.38%	3.98%	4.14%	4.38%

2.2.2 结果分析: HER2 参考品中浓度 (L3) 进行两次批间测试定量, 八次批内测试定量, 重复性 CV ≤ 10%, 表明定量检测结果批间一致性较好

### 2.3 HER2 参考品梯度稀释线性 (P1、P2、P3、P4、P5) 实验

#### 2.3.1 实验结果:

R <sup>2</sup> (ROX)	R <sup>2</sup> (VIC)	R <sup>2</sup> (FAM)	R <sup>2</sup> (425)	R <sup>2</sup> (CY5)
0.9978	0.9916	0.9976	0.9979	0.9977

2.3.2 HER2 参考品梯度稀释线性 (P1、P2、P3、P4、P5) 实验线性结果  $R^2 \geq 0.99$ ，表明该全自动液滴数字 PCR 系统 (Neptune32) 系统基础性能稳定，精密度良好

### 三、实验设计

3.1 高、中、低灵敏度 HER2 参考品样本重复性 (L1、L2、L3、L4) 实验：

将该 HER2 参考品使用无核酶水进行 2 倍梯度稀释 (原始模板、2 倍稀释、4 倍稀释、8 倍稀释) 共计 4 个梯度分别标记为：L1、L2、L3、L4，每个稀释倍数的模板分别加入配制好的反应体系中，震荡混匀，短时离心，每个稀释倍数进行 4 个数字 PCR 定量重复检测，分别统计各个荧光通道定量浓度，计算重复性 CV；

3.2 HER2 参考品中浓度 (L3) 重复性实验：

将该 HER2 参考品使用无核酶水进行 4 倍梯度稀释标记为：L3，模板分别加入配制好的反应体系中，震荡混匀，短时离心，进行 2 次批间数字 PCR 定量重复检测，每个批间进行 8 次重复测试，分别统计各个荧光通道定量浓度，计算重复性 CV；

3.3 HER2 参考品梯度稀释线性 (P1、P2、P3、P4、P5) 实验：

将该 HER2 参考品使用无核酶水进行 5 倍梯度稀释 (原始模板、5 倍稀释、25 倍稀释、125 倍稀释、625 倍稀释) 共计 5 个梯度分别标记为：P1、P2、P3、P4、P5，每个稀释倍数的模板分别加入配制好的反应体系中，震荡混匀，短时离心，每个稀释倍数进行 3 个数字 PCR 定量重复检测，分别统计各个荧光通道定量浓度，计算线性；

### 四、主要实验仪器及试剂耗材

仪器	全自动液滴数字 PCR 系统 (Neptune32)、涡旋震荡仪、掌上离心机
耗材与试剂	数字 PCR 微滴式芯片、HER2 检测试剂，HER2 参考品，无核酶水

### 五、实验方法

5.1 反应体系配置：

成分	添加量/份
PCR 反应 Mix 液	3 $\mu$ l
HEX 染料	0.2 $\mu$ l
引物探针 Mix 液	1.5 $\mu$ l

ddH <sub>2</sub> O	8.3 μl
DNA 样本	2 μl
合计	15 μl

5.2 扩增程序：95℃ 10min，98℃15s，60℃1min，40 个循环

## 六、实验结果

6.1 高、中、低灵敏度 HER2 参考品样本重复性 (L1、L2、L3、L4) 实验结果

样本	重 复	ROX (cps/μl)	VIC (cps/μl)	FAM (cps/μl)	425 (cps/μl)	CY5 (cps/μl)
L1	1	1275.591	423.151	1260.770	1266.340	1268.730
	2	1276.645	429.594	1256.055	1274.580	1290.816
	3	1284.365	405.599	1281.484	1290.136	1285.807
	4	1245.283	388.789	1238.076	1238.842	1248.355
	CV	1.36%	4.46%	1.42%	1.70%	1.51%
L2	1	823.340	262.869	817.827	827.941	830.836
	2	839.453	277.151	827.355	840.396	841.473
	3	823.437	266.716	819.879	833.076	829.112
	4	801.461	260.543	799.248	804.196	806.021
	CV	1.90%	2.75%	1.46%	1.90%	1.81%
L3	1	383.567	124.478	381.774	385.248	385.136
	2	410.984	130.975	407.219	409.433	412.092
	3	389.492	126.035	390.416	392.032	392.379
	4	384.204	121.949	383.656	385.738	384.094
	CV	3.29%	3.02%	2.96%	2.88%	3.30%
L4	1	178.901	57.29	178.285	182.289	179.516
	2	170.093	52.446	170.093	174.461	171.185
	3	176.439	57.891	176.143	179.988	176.636
	4	170.093	52.446	170.093	174.461	171.185
	CV	2.58%	5.42%	2.42%	2.23%	2.38%

## 6.2 HER2 参考品中浓度(L3)重复性实验结果

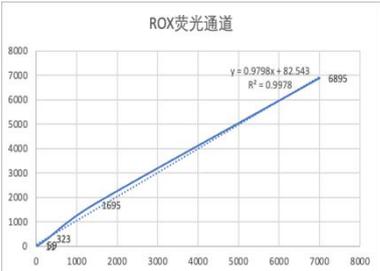
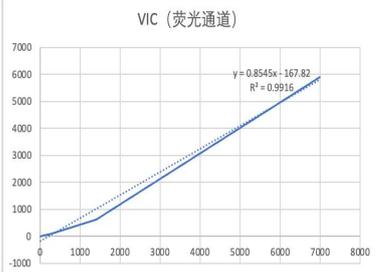
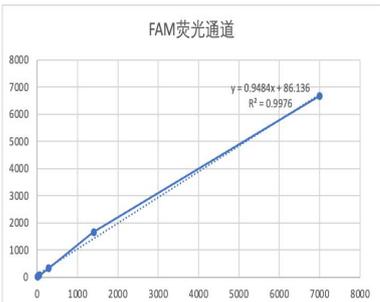
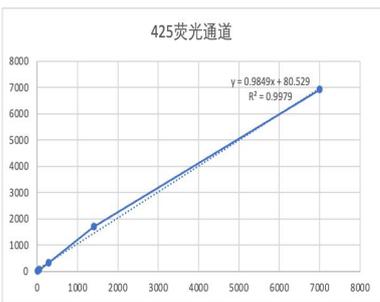
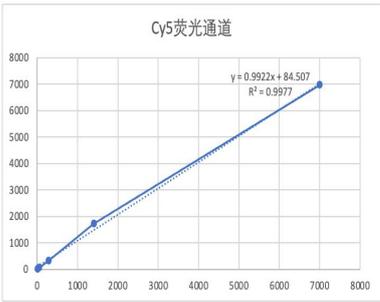
样本	重 复	ROX (cps/μl)	VIC (cps/μl)	FAM (cps/μl)	425 (cps/μl)	CY5 (cps/μl)
L3 第一次测 试	1	414.973	128.73	413.214	414.643	416.182
	2	415.318	129.885	412.612	415.882	422.433
	3	406.852	123.748	406.963	410.071	409.738
	4	461.712	141.641	453.698	459.901	462.1
	5	390.824	127.114	391.148	392.448	392.448
	6	400.695	126.073	399.019	401.925	402.484
	7	393.749	128.897	391.293	395.424	395.871
	8	414.288	127.838	410.877	413.264	415.994
L3 第二次测 试	1	396.555	127.211	395.01	401.529	397.107
	2	398.463	127.395	396.23	397.011	400.474
	3	396.855	131.457	397.654	400.394	399.937
	4	392.142	124.516	393.158	393.496	395.189
	5	402.859	134.368	398.551	402.519	404.675
	6	390.374	131.496	387.91	391.27	390.598
	7	406.112	129.568	404.159	407.952	407.722
	8	392.672	130.359	393.694	398.924	395.967
第一次测试平均 值		412.301	129.241	409.853	412.945	414.656
第二次测试平均 值		397.004	129.546	395.796	399.137	398.959
CV		4.42%	3.38%	3.98%	4.14%	4.38%

### 6.3 HER2 参考品梯度稀释线性(P1、P2、P3、P4、P5)实验结果

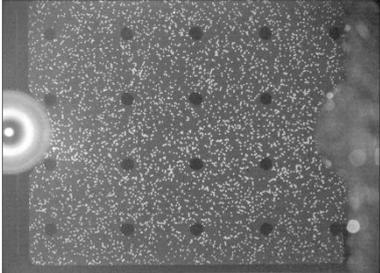
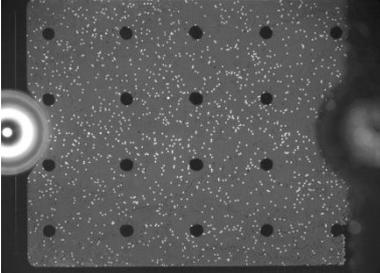
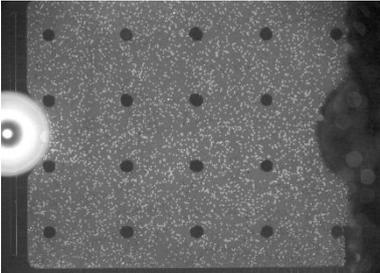
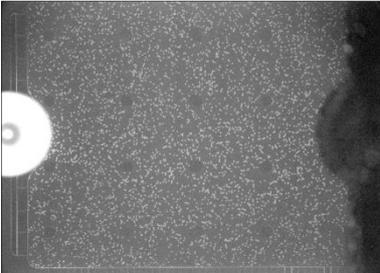
#### 6.3.1 检测结果

样本	重 复	ROX (cps/μl)	VIC (cps/μl)	FAM (cps/μl)	425 (cps/μl)	CY5 (cps/μl)
原始浓度		7000	6000	7000	7000	7000
原始浓 度(P1)	1	7079.878	5859.438	6846.91	7146.033	7157.218
	2	6584.433	5943.998	6425.099	6711.27	6768.701
	3	7022.093	5875.361	6762.88	6930.69	7020.34
稀释 5 倍(P2)	1	1687.849	609.201	1629.543	1685.574	1703.814
	2	1696.383	625.789	1671.381	1697.965	1722.796
	3	1700.376	622.794	1669.509	1704.085	1747.738
稀释 25 倍(P3)	1	325.958	100.694	325.527	327.465	326.604
	2	324.842	101.887	320.436	325.613	326.716
	3	316.901	101.496	315.949	317.748	316.796
稀释 125 倍 (P4)	1	57.808	18.361	57.519	58.291	57.519
	2	58.024	17.861	57.638	61.402	58.699
	3	62.618	18.331	62.228	63.301	62.715
稀释 625 倍 (P5)	1	11.417	4.079	11.696	8.535	11.696
	2	10.537	3.167	10.91	7.549	10.91
	3	11.693	3.542	12.077	6.896	12.557
R <sup>2</sup>		0.9978	0.9916	0.9976	0.9979	0.9977

### 6.3.2 线性分析

荧光通道	线性回归图
ROX	 <p>ROX 荧光通道</p> <p><math>y = 0.9798x + 82.543</math> <math>R^2 = 0.9978</math></p> <p>6895</p> <p>1695</p> <p>323</p>
VIC	 <p>VIC (荧光通道)</p> <p><math>y = 0.8545x - 167.82</math> <math>R^2 = 0.9916</math></p>
FAM	 <p>FAM 荧光通道</p> <p><math>y = 0.9484x + 86.136</math> <math>R^2 = 0.9976</math></p>
425	 <p>425 荧光通道</p> <p><math>y = 0.9849x + 80.529</math> <math>R^2 = 0.9979</math></p>
CY5	 <p>CY5 荧光通道</p> <p><math>y = 0.9922x + 84.507</math> <math>R^2 = 0.9977</math></p>

附：

荧光通道	原始图片
ROX	
VIC	
FAM	
425	
CY5	