

团 体 标 准

T/SZAS 75—2023

微孔板封口膜性能验证

Performance verification of microplate sealing film

2023 - 12 - 20 发布

2023 - 12 - 30 实施

深圳市标准化协会 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 封口膜分类 1

5 要求 2

6 验证方法 3

7 验证规则 4

参考文献 5

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。

请注意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。

本文件由深圳华大医学检验实验室提出。

本文件由深圳市标准化协会归口。

本文件起草单位：深圳华大医学检验实验室、深圳华大基因股份有限公司、武汉华大医学检验所有有限公司、华大基因健康科技(香港)有限公司、广州科容生物科技有限公司、杭州博日科技股份有限公司、上海科进生物技术有限公司、广东积健生物科技有限公司、苏州康容生物科技有限公司、3M中国有限公司、浙江贝兰伯生物技术有限公司、无锡国盛生物工程股份有限公司、浙江博毓生物科技有限公司、幅纳薄膜材料(上海)有限公司、苏州赛普生物科技股份有限公司、深圳逗点生物技术有限公司、惠州帝恩科技有限公司、浙江硕华生命科学研究股份有限公司、深圳华大基因科技有限公司。

本文件主要起草人：乔明、魏鹏飞、吴亚、阳晶晶、吴平、侯磊、唐美芳、姜丹、施小威、杜建辉、曹思降、朱青华、程富春、丁晨彦、张才敏、戴良、张忠伟、张萍萍、张胜有、余维哲、陈高明、胡良才、蒋峥嵘、葛建敬、刘杨杨。

微孔板封口膜性能验证

1 范围

本文件规定了微孔板封口膜的性能要求和验证方法。

本文件适用于微孔板封口膜制造商和使用微孔板封口膜进行相关检测的各类检测机构。

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 2828.1—2012 计数抽样检验程序 第一部分：按接收质量限（AQL）检索的逐批检验计划

GB 16383—2014 医疗卫生用品辐射灭菌消毒质量控制标准

GB/T 19495.4—2018 转基因产品检测 实时荧光定性聚合酶链式反应（PCR）检测方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

核糖核酸酶 ribonucleases; RNase

水解核糖核酸（RNA）中磷酸二酯键，生成寡核苷酸或单核苷酸的核酸酶。

[来源：GB/T 34223—2017，3.1]

3.2

脱氧核糖核酸酶 deoxyribonuclease; DNase

水解脱氧核糖核酸（DNA）中磷酸二酯键，生成寡核苷酸或单核苷酸的核酸酶。

[来源：GB/T 34223—2017，3.2]

3.3

聚合酶链反应 polymerase chain reaction; PCR

一种对特定DNA或RNA片段在体外进行扩增的方法，由变性-退火-延伸三个基本反应步骤构成。

3.4

实时荧光定量聚合酶链式反应 real-time quantitative PCR; QPCR

基于PCR（聚合酶链式反应）技术原理，模拟DNA或RNA的复制过程，在模板、引物、聚合酶等存在的条件下，特异扩增已知序列，并根据PCR过程中荧光染料释放的荧光强度的变化对扩增产物进行定量分析。

3.5

Ct 值 cycle threshold

每个管内荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数。

4 封口膜分类

4.1 按产品材质分类

按产品材质分类可分为铝制封口膜和塑料封口膜。

4.2 按产品颜色分类

按产品颜色可分为无色透明、银色、白色和黑色。

4.3 按产品是否可穿刺分类

按产品是否可穿刺分类可分为可穿刺和非穿刺。

4.4 按产品厚度分类

按产品厚度分类主要可分为38 μm 、65 μm 、100 μm 、120 μm 、160 μm 及其他尺寸规格产品。

4.5 按产品形式分类

按产品形式分类可分为卷膜和片膜。

5 要求

5.1 外观

产品应无杂质、碰伤、刮痕、气泡、凹点和卷曲。

5.2 外形尺寸

封口膜的表面尺寸应满足覆盖微孔板全部样品孔的要求。

5.3 适配性

封口膜适配于对应规格微孔板以及微孔板热封仪。

5.4 适用性

封口膜应满足单孔密封率100%；可撕微孔板封口膜，需撕膜方便，撕膜后无拉丝、无残留。

5.5 密封性

微孔板封膜后振荡和离心，微孔板封口膜无松动掉落情况，无破损，微孔板内液体无串孔，液体损失率应在1%以下。

5.6 热耐受力

微孔板封膜后，完成一个40循环的PCR反应，微孔板封口膜应无松动掉落情况，无破损，液体损失率应在1%以下。

5.7 冷耐受力

微孔板封膜后，-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷冻24 h，微孔板封口膜应无松动掉落情况、无破损，液体损失率应在1%以下。

5.8 无菌状态

无菌型微孔板封口膜要求无菌。

5.9 DNA 酶

封口膜会接触样本，应不含DNA酶。采用DNase检测试剂盒，根据说明书，样本检测值应低于2倍阴性质控品荧光值的均值，检测结果为阴性。

5.10 RNA 酶

封口膜会接触样本，应不含RNA酶。采用RNase检测试剂盒，根据说明书，样本检测值应低于2倍阴性质控品荧光值的均值，检测结果为阴性。

5.11 外源核酸

封口膜要求无外源核酸污染，去离子水经通用引物PCR反应后，DNA浓度小于0.5 $\text{ng}/\mu\text{L}$ ，扩增产物经琼脂糖凝胶电泳后，在紫外照射仪下无条带。

5.12 抑制剂

封口膜会接触样本，要求抑制剂无检出，标准品QPCR反应后，QPCR扩增曲线呈“S”型，Ct值与标准品界定值相差应不大于0.5。

6 验证方法

6.1 外观检测

在540 lx光照度的白光或日光下，以30 cm~45 cm目力距离进行检测。结合通用量具进行检测。

6.2 尺寸检测

将封口膜平整固定于硬质背景板上，使用分度值为0.02 mm的游标卡尺检测尺寸。

6.3 适配性检测

将铝制热封膜平整覆盖在微孔板上，利用微孔板热封膜机设定150 °C~180 °C，时间2 s~5 s完成实验室微孔板封膜操作，密封完整。

将塑料封口膜平整覆盖在微孔板上，手工封膜刮膜后，密封完整。

6.4 适用性检测

完成20块微孔板的封膜和撕膜。撕膜时记录撕膜难易程度，统计单孔密封率、拉丝和残留情况，结果应符合5.4的要求。

6.5 密封性检测

微孔板的奇数列各孔加入100 μL去离子水，偶数列各孔中加入100 μL 1%的溴酚蓝稀释液，微孔板板封膜，2000 rpm震荡5 min，1000 g离心5 min，目测观察微孔板封口膜是否有变形、破损，微孔板内液体是否串孔，称量震荡离心前后微孔板的重量，计算液体损失量，结果应符合5.5的要求。

6.6 热耐受力检测

微孔板各孔加100 μL去离子水，封膜，置于PCR扩增仪内进行扩增。

PCR反应条件为：98 °C预变性5 min，98 °C变性30 s，55 °C退火30 s，72 °C延伸30 s，扩增40个循环，72 °C终延伸10 min，降温到4 °C，结束反应。

目测观察微孔板封口膜是否有变形、破损，称量扩增前后微孔板的重量，计算液体损失量，结果应符合5.6的要求。

6.7 冷耐受力检测

微孔板各孔加100 μL去离子水，封膜，-20 °C冰箱冷冻24 h后，目测观察微孔板封口膜是否有变形、破损，称量冻存前后微孔板的重量，计算液体损失量，结果应符合5.7的要求。

6.8 无菌检测

微孔板封口膜应保证无微生物污染，微生物检测方法按照GB 16383—2014 附录A进行，结果应符合5.8的要求。

6.9 DNA 酶检测

封口膜DNA酶检测采用DNase检测试剂盒，使用无DNA酶、无RNA酶的一次性手工吸头，将封口膜放入无DNA酶、无RNA酶的容器中，封口膜封口面朝上，使用手工移液器吸取100 μL去离子水，在膜表面反复吹打3次以上，收集作为待测样本。按试剂盒操作说明书添加荧光试剂，通过酶标仪37 °C反应30 min后在530/590 nm波段进行荧光测定，检测结果按说明书标准进行判定，结果应符合5.9的要求。

6.10 RNA 酶检测

封口膜RNA酶检测采用RNase检测试剂盒，使用无DNA酶、无RNA酶的一次性手工吸头，将封口膜放入无DNA酶、无RNA酶的容器中，封口膜封口面朝上，使用手工移液器吸取100 μL去离子水，在膜表面反

复吹打3次以上，收集作为待测样本。按试剂盒操作说明书添加荧光试剂，通过酶标仪37℃反应30 min后在485/528 nm nm波段进行荧光测定，检测结果按说明书标准进行判定，结果应符合5.10的要求。

6.11 外源核酸检测

封口膜外源核酸检测，使用无外源核酸的一次性手工吸头，将封口膜放入无外源核酸的容器中，封口膜封口面朝上，使用手工移液器吸取100 μL去离子水，在膜表面反复吹打3次以上，收集作为待测样本。采用通用引物进行PCR反应，扩增产物在琼脂糖凝胶电泳完成后，电泳条带在紫外照射仪中进行透射。检测方法按照GB/T 19495.4—2018第6章进行，结果应符合5.11的要求。

6.12 抑制剂检测

封口膜抑制剂检测采用探针法荧光定量检测标准品，通过QPCR检测试剂盒，使用标准品DNA定量检测。通过相关QPCR仪软件，完成扩增曲线及Ct值分析判定，结果应符合5.12的要求。

7 验证规则

7.1 检验规则

检验规则应遵循以下几点：

- a) 新产品投产前或准备用于实验之前，应对本文件中所有项目进行检验；
- b) 产品长期停产后恢复生产时，应对本文件中所有项目进行检验；
- c) 原料、工艺、配方、模具的变更可能会影响产品性能时，应对可能受影响的项目增加检验次数；
- d) 新批次在出厂和使用前应选择本文件中相关项目进行检验。

7.2 取样判定规则

取样判定规则应遵循以下几点：

- a) 产品按批次进行检验，同一批原料一次生产的同规格产品为一批次；
- b) 抽样样本如有一项指标测试不合格，即可判定整体指标测试不合格；
- c) 抽样方案及判定标准按GB/T 2828.1—2012规定的方法执行。定义检验水平为S-4，接收质量限为AQL 2.5。

参 考 文 献

- [1] GB/T 34223—2017 核糖核酸酶和脱氧核糖核酸酶纯度检测方法
-