

个体化医学检测  
微阵列基因芯片技术规范

## 前言

微阵列基因芯片是基于 DNA 分子杂交技术原理研制，通过探针结合碱基互补序列的单链核酸，从而确定其相应序列来识别基因或其产物。能够同时快速检测多个基因及其多个位点，在多态性分析、突变分析、基因表达谱测定及杂交测序等多领域具有广泛应用价值。

临床诊断技术使用的微阵列基因芯片，可快速鉴定病原体、检测遗传突变及基因表达，更早更方便的检测肿瘤基因标志，检测药物反应和代谢相关基因多态性来指导临床个体化治疗。

本规范旨在对个体化医学检测中采用微阵列基因芯片检测核酸序列以及基因表达进行一般性技术指导，不包括行政审批要求。

本规范由全国生物芯片标准化技术委员会（SAC/TC 421）提出。

本规范起草单位：全国生物芯片标准化技术委员会、清华大学医学院、生物芯片北京国家工程研究中心、北京博奥医学检验所。

本规范起草人：项光新、李元源、王辉、邓涛、孙义民、张治位、张川、邢婉丽、程京。

## 目录

1.适用范围 .....	1
2.声明/警告 .....	1
3.术语和定义 .....	1
4.样本处理 .....	2
4.1 样本类型 .....	2
4.2 样本采集、运输与保存 .....	3
4.3 样本质量保证 .....	3
4.4 样本信息保存 .....	3
5.检测各步骤分述 .....	4
5.1 核酸分离 .....	4
5.2 核酸定量（如适用） .....	4
5.3 核酸扩增和标记 .....	4
5.4 芯片杂交 .....	5
5.5 信号采集和数据分析 .....	5
6.结果报告 .....	5
7.质量控制 .....	5
8.注意事项 .....	6
9.参考文献 .....	6

## 1.适用范围

本规范适用于医疗机构开展微阵列基因芯片个性化医学检测服务。

检测服务需遵循国家卫生主管部门或各行业协会发布的疾病诊疗指南或国家卫生计生委医政医管局个性化医学检测技术专家委员会发布的个性化医学检测指南。

## 2.声明/警告

本规范所称微阵列基因芯片诊断技术是指从医疗机构获得的临床样本中，提取核酸（DNA 或 RNA），进行必要的扩增和标记，标记后的靶标与基因芯片进行分子杂交，通过基因芯片扫描仪器获得基因芯片杂交的图像与数据，经计算机程序分析，并给出检测报告的全过程。

## 3.术语和定义

（1）聚合酶链反应 polymerase chain reaction（PCR）

聚合酶链反应或多聚酶链反应是一种对特定的 DNA 或 RNA 片段在体外进行快速扩增的方法。

（2）杂交 hybridization

具有一定同源序列的两条核酸单链（DNA 或 RNA）可以通过氢键的方式，按碱基互补配对原则相结合。

（3）突变 mutation

是细胞中 DNA 核苷酸序列发生了稳定的可遗传的改变。

（4）点重复 spot replicates

每种探针在芯片上每个阵列中的重复次数。

（5）探针 probe

能够与靶标特异性结合的分子，多数情况下探针固定在基片上。

#### (6) 质控探针 quality control probe

用来监控芯片表面化学修饰、样品制备和反应过程等环节的质量的探针。该探针只与反应体系中外加的带有可检测的标记物的靶标发生特异性结合，故可用于监控探针和基片的结合质量及探针和靶标结合质量等整个反应过程的质量。

#### (7) 表面化学修饰质控探针 surface modification control probe

微阵列基因芯片上用来质控基片的表面化学修饰质量的探针。

#### (8) 内标探针 internal control probe

微阵列基因芯片上用来质控检测过程中核酸提取、扩增反应、芯片杂交反应等过程是否正常的探针。

#### (9) 阳性质控探针 positive control probe

设置在微阵列基因芯片上的质控探针，无论被检测样品的结果如何，均能产生可以被识别的信号。

#### (10) 阴性质控探针 negative control probe

设置在微阵列基因芯片上的质控探针，无论被检测样品的结果如何，均不会产生可被识别的信号。

## 4. 样本处理

### 4.1 样本类型

样本类型可以是全血、滤纸干血斑、新鲜组织、穿刺组织、冰冻组织、石蜡包埋组织、脑脊液、骨髓、羊水、毛囊、精液、粪便、尿液、脱落细胞、培养细胞、其他体液（如痰液）等。

## 4.2 样本采集、运输与保存

样本采集、运输与保存须遵循《全国临床检验操作规程(第四版)》和《个体化医学检测质量保证指南》，其中新生儿滤纸干血斑采集须符合《新生儿遗传疾病筛查血片采集技术规范》。样本采集种类和采集量，如使用经 CFDA 批准的商品试剂，须按照所使用的商品微阵列基因芯片检测试剂盒说明书规定。

样本一经采集，则应尽可能快的送至检测实验室。对于提取 DNA 的样本，可以在室温（18~25℃）下运送，尽量在 8 h 之内到达。如条件允许，样本应采用冰壶加冰或泡沫箱加冰密封进行运输。如为 RNA，短时间内的运送如 10 min 左右，可室温下运送，如为较长时间，则应在加冰条件下运送，建议在 4 h 送至实验室。如条件允许，应使用液氮或者保存在特殊试剂中运输。

对于检测靶标为 DNA 的样本，在 2~8℃ 可保存 3 天。对于检测靶标为 RNA 的样本，一旦采集送到实验室后，则应在-20℃ 以下冻存。如为血循环中的 RNA，最好不要使用血清样本，而应使用 EDTA 抗凝尽快分离后的血浆样本。临床体液样本长期（超过两周）保存应在-70℃ 下。

## 4.3 样本质量保证

（1）严格按照样本采集规范进行采集，正确运输，保存样本；对采集、运输与保存过程不符规范的样本，予以拒绝接收。对各种样本类型应按检测要求建立采集的标准操作程序（SOP）。

（2）正确进行样本处理，严格按照核酸提取试剂盒说明书操作。

（3）有专用的样本核酸提取操作室，并配备相应的专用仪器设备。

（4）设定专人保管制度，详细记录样本信息，保证样本信息不丢失、错位。

## 4.4 样本信息保存

被检测样本要求唯一编号，实验前仔细核对和检查。实验室须具备样本保存的基本条件，须配备数据保存及保证数据安全的软、硬件设施，相关数据保存不少于 5 年。

## 5.检测各步骤分述

### 5.1 核酸分离

采用微阵列基因芯片说明书规定的方法或指定的商品化试剂盒。提取 RNA 时，须迅速灭活 RNA 酶防止对 RNA 的降解，须严格遵循已经证明行之有效的提取方法和操作规范，比如须佩戴一次性手套口罩、使用 RNase-free 的试剂耗材等。

### 5.2 核酸定量（如适用）

使用紫外分光光度计法或荧光染料法。在检测核酸浓度时须注意：一是检测核酸浓度的分光光度计（或者染料法使用的酶标仪）须建立标准操作程序，并注意维护；二是每次检测前，须同时检测已知浓度的对照样本，确保浓度测定准确。

确认特定检测芯片的最低检测限和检测范围，所提取核酸浓度和质量须能满足微阵列基因芯片的检测需要，必要时纯化、稀释或浓缩。举例来说，遗传性耳聋基因检测芯片可以设定最低检测限为 100 ng/μL 人基因组 DNA，检测范围为 100 ng/μL 至 300 ng/μL 人基因组 DNA，核酸纯度 OD<sub>260/280</sub>=1.7-2.0，那么需要从临床血液样本中提取核酸，并用分光光度计测定浓度，进行必要的纯化、稀释或浓缩以满足要求；若芯片设定最低检测限为 2 ng/μL 人基因组 DNA，检测范围为 2 ng/μL 至 50 ng/μL 人基因组 DNA，核酸纯度 OD<sub>260/280</sub>=1.7-2.0，那么可以从临床血液、血斑等说明书中标识的样本中提取核酸，必要时用分光光度计测定浓度，以及进行纯化、稀释或浓缩以满足要求。再举例，检测结核分枝杆菌的微阵列芯片，对从临床痰液中提取核酸，若说明书中已经规定了详细步骤，并指出不必采用分光光度计检测，那么可以省略核酸定量。

### 5.3 核酸扩增和标记

扩增反应（如 PCR、体外转录等）须遵循《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》，防止污染。

荧光标记为常用的样品标记方式，也可以对核酸样品进行纳米金或磁珠等标

记。DNA 样品可在核酸扩增同时进行标记。当进行 RNA 表达谱分析时，首先在体外把 RNA 反转录成 cDNA，然后进行体外扩增和荧光标记。必要时对产物进行纯化。

## 5.4 芯片杂交

按相应检测项目的操作说明将标记的扩增产物与杂交缓冲液混合，加到微阵列基因芯片上，放置于合适的温度下杂交。杂交完成后，将芯片进行洗涤干燥。

## 5.5 信号采集和数据分析

使用基因芯片荧光扫描仪检测微阵列基因芯片时，必须定期对扫描仪进行校准，通常为每周一次。设置合适的扫描参数，由软件自动分析得到信号值。需要采用专用算法程序得到检测结果的，须由专业人员按照规定流程进行分析。

对于分析软件判定为检测失败或者检测位点信号丢失的样本，须进行重新检测。重新检测的过程同初次检测一样，包括核酸提取、扩增、标记，芯片杂交以及后续的图像扫描及数据分析。

## 6.结果报告

被检测样本检测报告须由专业结果报告系统按照统一的标准格式自动打印出报告，并给出具体检测结果。检测报告必须说明检测方法的局限性和适用范围。

检测报告须由专业人员（具备相应资质的医师）向被检测者进行解读。

## 7.质量控制

（1）微阵列基因芯片须符合中国国家标准化管理委员会发布的《DNA 微阵列芯片通用技术条件》（GB/T 28639-2012）所规定的性能要求。在每个阵列中应设置表面化学修饰质控探针、阳性质控探针、阴性质控探针、内标质控探针以及空白对照。

(2) 微阵列基因芯片须经过分析性能验证, 包括检测灵敏度、阳性符合率、阴性符合率、批内重复性。用灵敏度参考品对抽检的微阵列基因芯片进行检测, 灵敏度测定结果应符合相应产品标准的要求。用阳性参考品对抽检的微阵列基因芯片进行检测, 测定阳性符合率应符合相应产品标准的要求。用阴性参考品对抽检的微阵列基因芯片进行检测, 测定阴性符合率应符合相应产品标准的要求。用重复性参考品对同一批生产的至少 2 张芯片的 10 个子阵列平行检测, 各次测定结果应正确一致。

(3) 检测相关仪器须获得 CFDA 医疗器械注册证书。仪器需定期维护和校验。

(4) 临床基因芯片检测实验室须按照《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》开展室内质量控制, 并参加室间质量评价或进行有效的实验室间比对。

(5) 须建立基因芯片诊断技术相关器材登记制度, 保证基因芯片、基因提取标记和分子杂交试剂的来源可追溯。不得违规重复使用一次性器材和试剂。

(6) 检测人员上岗前须获得临床基因扩增检验实验室技术人员培训证书, 同时相关操作须符合《实验室生物安全通用要求》(GB19489-2008)。

## 8. 注意事项

(1) 建立健全微阵列基因芯片检测及相关数据的保密制度, 对临床微阵列基因芯片检测获得的基因诊断数据, 应保证仅用于被检者本人的诊断和基于提高诊断水平所进行的医学科学研究。未经被检测者允许不得随意公开, 传播被检测者检测结果。

(2) 涉及遗传基因信息的临床检测项目, 被检者须签署知情同意书。

## 9. 参考文献

[1] GB/T 27990-2011, 生物芯片基本术语。

- [2] GB/T 28639-2012, DNA 微阵列芯片通用技术条件。
- [3] GB 19489-2008, 实验室生物安全通用要求。
- [4] 卫生部办公厅。基因芯片诊断技术管理规范(试行)。 2010
- [5] 卫生部办公厅。医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法。2010
- [6] 卫生部办公厅。新生儿疾病筛查技术规范（2010 年版）。2010
- [7] 卫生部医政司。全国临床检验操作规程(第三版)。南京：东南大学出版社，2006
- [9] 卫计委医政医管局。个体化医学检测质量保证指南。待批准。
- [10] Clinical and laboratory standards institute (CLSI). Diagnostic nucleic acid microarrays, approved guideline. CLSI document MM12-A (ISBN 1-56238-608-5). 2006
- [11] Clinical and laboratory standards institute (CLSI). Collection, transport, preparation, and storage of specimens for molecular methods; approved guideline. CLSI document MM13-A (ISBN 1-56238-591-7). 2005
- [12] 邢婉丽，程京。生物芯片技术教程。北京：清华大学出版社，2004