

2×Probe qPCR Mix 质检报告单

请检编号	20220128	请检日期	2022.01.21	请检人	李春
生产日期	2022.01.21	抽检比例	1/1000	产品序号	7206500
产品批号	20220128	产品名称	2×Probe qPCR Mix		
样品	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2	
要求 (指标)					
试剂盒外观与组成	√	√	√	√	
qPCR 检测	√	√	√	√	
备注	本批次共生产 15 包，随机抽取一包送检。				
检验结果	<div style="text-align: center;"> <p>Amplification Plot</p> </div> <p style="text-align: right; font-size: 24px; font-weight: bold;">合格</p> <p style="text-align: right;">质检员：计亚鹏</p>				
审核意见	<p>审核人：李春</p>				

2×Probe qPCR Mix 检测方法

一、 目的

通过2×Probe qPCR Mix 对不同浓度梯度的 DNA 进行荧光 PCR 测试，判断送检的产品是否符合质量要求。

二、 材料、试剂及仪器

1. 材料：送检 2×Probe qPCR Mix、对照其他批次的 2×Probe qPCR Mix、猪 DNA、猪源扩增引物（F: CGACAAAGCAACCCTCACAC/R:TGCGAGGGCGGTAATGAT）及探针、八联排管。
2. 仪器：移液器、台式离心机、荧光定量 PCR 仪（ABI PRISM® 7500 Sequence Detection System）。

三、 RT-PCR 操作步骤

1. 取 5 μl 猪 DNA（10 ng/μl），加入 45 μl Buffer TE 混合均匀，稀释 10 倍，然后再以相同的方法继续稀释成 10² 倍、10³ 倍、10⁴ 倍，取稀释 10 倍、10² 倍、10³ 倍、10⁴ 倍的液体作为模板。（冻融过的低浓度模板会增大 Ct 值，所以每次检验都必须从初始浓度重新稀释）
2. 将送检和对照 2×Probe qPCR Mix 各试剂及引物探针置于冰上，按说明书配制猪源检测荧光 PCR 反应体系并分装至八连管中。依次在反应混合液中平行加入 5 μl 不同浓度梯度的猪源 DNA 模板，盖上管盖，短暂离心。然后放置于 ABI PRISM®7500 荧光 PCR 仪中进行荧光 PCR 反应。实验参数如下：

Stage 1: 预变性(Reps: 1)

95°C 1 min

Stage 2: PCR 反应(Reps: 40)

95°C 10 s

60°C 30 s

扩增完成后，观察并记录各曲线的 CT 值。

四、 质量要求与判断方法:

1. 试剂盒外观必须无破损、污渍；试剂盒组成必须与说明书对应一致；试剂盒标签内容必须与送检单相符。
2. 用送检 2×Probe qPCR Mix 进行的 qPCR 扩增曲线正常，相邻浓度梯度 CT 值相差 3.3 左右。
3. 送检 2×Probe qPCR Mix 与对照 2×Probe qPCR Mix 的各个浓度模板的 CT 值差异必须小于 1。

以上任何一项不符合要求即判断为不合格产品。