


## 微量 DNA 提取试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

请检编号	20240139	请检日期	2024.01.30	请检人	黄芳
生产日期	2024.01.29	抽检比例	1/1000	产品序号	3102250
产品批号	20240139	产品名称	微量 DNA 提取试剂盒 (250 次制备)		
<p>填写说明：                  内容须用数字填写；如果无法用数据填写，则打“√”表示产品符合要求，打“×”表示产品不符合要求，如果不符合要求，在备注中注明不符合项的详细内容。</p>					
样品 要求 (指标)	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2	
试剂盒外观 与组成	√	√	√	√	
荧光 PCR 检测	√	√	√	√	
备注	1. 本批次共生产 7 盒，随机抽取一盒送检。 2. DNA 用 25 μl Buffer TE 洗脱。				
检验结果	合格 质检员：蔡思奇				
审核意见					

## 微量 DNA 提取试剂盒质检方法

### 一、目的

通过血液 DNA 的分离纯化，以及对获得的 DNA 的 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：送检微量 DNA 提取试剂盒、对照其他批次的试剂盒、1.5 ml 离心管若干、抗凝全血、2×SYBR Green PCR Mix、猪引物。
2. 仪器：超微量分光光度计、移液器、台式离心机、水浴锅、荧光定量 PCR 仪。

### 三、微量 DNA 提取操作步骤

每管吸取 10  $\mu$ l 猪血，加入 190  $\mu$ l Buffer AT 和 20  $\mu$ l 蛋白酶 K，按照说明书中的操作步骤，用送检试剂盒和对照试剂盒同步平行各自抽提 3 管血液中的微量 DNA。最终 DNA 用 25  $\mu$ l Buffer TE 洗脱。

### 四、荧光定量 PCR 检测操作步骤

1. 取一个 0.6 ml 离心管，加入 85.4  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O、5.6  $\mu$ l 50×Rox、140  $\mu$ l 的 2×SYBR Green PCR Mix，再加入 14  $\mu$ l 猪引物（正向、反向引物各 7  $\mu$ l），混合均匀。
2. 按每管 35  $\mu$ l 的体积将步骤 1 的混合物分装到八联管中，再分别加入 5  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O（阴性对照）、5  $\mu$ l 检测试剂盒纯化的血液 DNA（两管）、5  $\mu$ l 对照试剂盒纯化的血液 DNA（两管）、5  $\mu$ l 猪血 DNA（阳性对照）。
3. 扩增条件：95°C, 1 min, {95°C, 10 sec; 60°C, 30 sec}×40 cycles, 95°C, 15 sec, 60°C, 20 sec, 95°C, 15 sec。
4. 观察并记录分析扩增曲线和溶解曲线。

### 五、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. 用送检试剂盒和对照试剂盒纯化得到的 DNA 作为模板的荧光定量 PCR 扩增曲线 CT 值之差  $\leq 1$ 。
3. 用送检试剂盒和对照试剂盒纯化得到的 DNA 作为模板的荧光定量 PCR 溶解曲线与阳性对照的溶解曲线有相同的特征峰，阴性对照的溶解曲线没有特征峰或有不同的特征峰。

以上任何一项不符合要求即判断为不合格产品。