

### 病毒核酸纯化试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

请检编号	20240201	请检日期	2024.02.02	请检人	黄芳
生产日期	2024.02.02	抽检比例	1/1000	产品序号	4002250
产品批号	20240201	产品名称	病毒核酸纯化试剂盒（250次制备）		
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。					
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. 本批次生产 60 盒，随机抽取一盒送检。 2. RNA 用 50 μl Buffer TE 洗脱。				
检验结果	合格  质检员：蔡思琦				
审核意见	 审核人：梅慧雅				

## 病毒核酸纯化试剂盒检验方法

### 一、实验目的

通过病毒核酸纯化实验，检测新一批的产品是否合格。

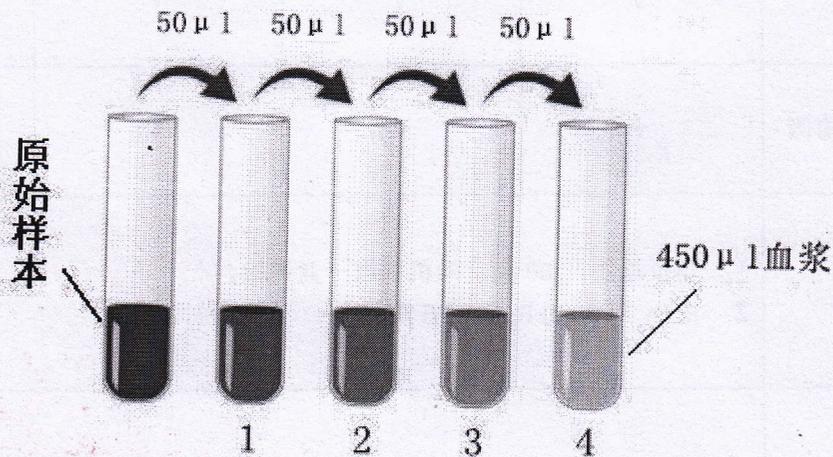
### 二、材料、试剂及仪器

1. 材料：送检病毒核酸纯化试剂盒、对照病毒核酸纯化试剂盒、鸡源 DNA 和 1.5 ml 离心管若干。
2. 鸡特异性引物与探针。
3. 仪器：台式微量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）、水浴锅与漩涡振荡器、荧光定量 PCR 仪、移液器。

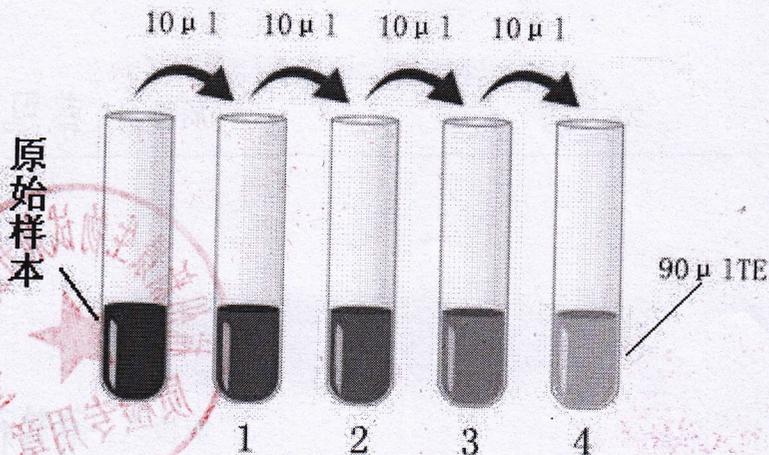
### 三、操作步骤

#### 1. 鸡源 DNA 梯度稀释步骤：

- (1) 取 10 ng/ $\mu$ l 的鸡 DNA 作为原始样本，取 50  $\mu$ l 原始样本，加入 450  $\mu$ l 血浆混合均匀，将其稀释 10 倍，然后再以相同的方法继续稀释 100 倍、1000 倍、10000 倍，如下图所示。



- (2) 以同样的方式，取 10  $\mu$ l 原始样本，加入 90  $\mu$ l TE 混合均匀，获得相同浓度梯度的 TE 稀释样本。



#### 2. 病毒核酸纯化步骤：

取每管 200  $\mu$ l 血浆稀释样本(1、2、3、4 四个浓度梯度各一管)，按照病毒核酸纯化试剂盒说明书的操作步骤，分别用送检试剂盒和对照试剂盒各提取 4 管血浆样本中的游离 DNA，最终得到的 DNA 用 50  $\mu$ l Buffer TE 洗脱。(提取时按照浓度从低到高的操作顺序)

### 3. 荧光 PCR 检测步骤：

- (1) 按照鸡源性 DNA 荧光 PCR 检测试剂盒 (Cat. No.7805050) 说明书配制好反应体系，按每管 35 $\mu$ l 的量分装至 8 联排管中，依次加入 5  $\mu$ l 检测试剂盒提取的 DNA 模板(四管)、5  $\mu$ l 对照试剂盒提取的 DNA 模板(四管)、5  $\mu$ l TE 稀释的 DNA 模板(四管)和 5  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O (阴性对照) 盖上管盖，然后放置于 ABI PRISM®7500 荧光 PCR 仪中进行荧光定量 PCR，打开软件，设置好参数。实验条件如下：

Stage 1: 预变性(Reps: 1)

95°C 1min

Stage 2: PCR 反应(Reps: 40)

95°C 15s

60°C 35s

- (2) 扩增完成后，观察标准曲线并记录各曲线的 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. 送检试剂盒纯化得到的 DNA 作为模板的荧光 PCR 扩增曲线正常，且相邻梯度样本之间相差 3.3 个 CT 值左右，阴性对照无扩增。
3. 同等梯度血浆样本稀释纯化后的 DNA 样本与 TE 稀释的 DNA 样本之间相差 1.5~2 个 CT 值。
4. 送检试剂盒与对照试剂盒相同浓度样本的 CT 值之差 $\leq$ 0.1。

以上任何一项不符合要求即判断为不合格产品。