

### 石蜡组织 DNA 试剂盒质检报告单

请检编号	20210745	请检日期	2020.07.16	请检人	李春
生产日期	2021.07.15	抽检比例	1/1000	产品序号	4400048
产品批号	20210745	产品名称	石蜡组织 DNA 试剂盒 (48 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	
DNA OD <sub>260</sub>	5.985	7.052	6.239	5.953	
DNA OD <sub>280</sub>	3.118	3.671	3.236	3.084	
DNA OD <sub>230</sub>	2.841	3.306	2.898	2.802	
OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>	1.92	1.92	1.93	1.93	
OD <sub>260</sub> /OD <sub>230</sub>	2.11	2.13	2.15	2.12	
DNA 浓度 (ng/μl)	299.2267	352.5924	311.9469	297.6292	
试剂盒外观 与组成	√	√	√	√	
PCR 检测	√	√	√	√	
电泳检测	√	√	√	√	
备注	1. 本批次共生产 101 盒，随机抽取一盒送检。 2. 石蜡组织 DNA 用 100 μl Buffer TE 洗脱。				
检验结果	合格 质检员：李春				
审核意见	审核人：张之彬 				

## 石蜡组织 DNA 试剂盒检验方法

### 一、目的

通过石蜡组织 DNA 的分离纯化，以及对获得的 DNA 的各项指标的测试，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：送检石蜡组织 DNA 试剂盒、对照其他批次的试剂盒、1.5ml 离心管若干、人石蜡组织、2×SYBR Green PCR Mix、Human-β-actin 引物（F：TGACGTGGACATCCGCAAAG/R：CTGGAAGGTGGACAGCGAGG）。
2. 仪器：微量紫外分光光度计、电泳仪、电泳槽、移液器、台式离心机、水浴锅、荧光定量 PCR 仪。

### 三、石蜡组织 DNA 纯化操作步骤

用洁净的手术刀片从人石蜡组织上刮取碎屑，分装到两个 1.5 ml 离心管中，每管约 30 mg 左右，分别用 1 ml 二甲苯处理后，再各加入 700 μl 无水乙醇悬浮，合并为一管，混匀后按每管 300 μl 的量分到 4 个 1.5 ml 离心管中，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 2 管石蜡组织 DNA。最后的 DNA 用 100 μl Buffer TE 洗脱。

### 四、纯化的石蜡组织 DNA 的纯度检测步骤

在微量紫外分光光度计上用 Buffer TE 调零，取 2 μl 洗脱的石蜡组织 DNA 检测，记录各个波长的吸光度。

### 五、电泳检测操作步骤

在 1%琼脂糖凝胶上，按下表依次加入石蜡组织 DNA，电泳结束后在紫外灯下观察并记录分析结果。

	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2
DNA/PCR 产物	5 μl	5 μl	5 μl	5 μl
6×Loading Buffer	1 μl	1 μl	1 μl	1 μl

### 六、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 μl ddH<sub>2</sub>O、5.6 μl 50×Rox、140 μl 的 2×SYBR Green PCR Mix，再加入 14 μl Human-β-actin 引物（正向、反向引物各 7 μl），混合均匀。
2. 按每管 35 μl 的体积将步骤 1 的混合物分装到八联管中，再分别加入 5 μl ddH<sub>2</sub>O（阴性对照）、5 μl 检测试剂盒纯化的石蜡组织 DNA(两管)、5 μl 对照试剂盒纯化的石蜡组织 DNA(两管)、5 μl 人全血 DNA（阳性对照）。
3. 扩增条件：95°C,1min, {95°C,5sec; 60°C,32sec}×40cycles, 95°C,15sec, 60°C,20sec, 95°C,15sec。
4. 观察并记录分析扩增曲线和溶解曲线。

### 七、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 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 数值必须在 1.8±0.15 范围内。
3. 送检试剂盒纯化得到的 DNA OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> 数值必须≥1.5。
4. 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≤1。
5. 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。
6. 送检试剂盒和对照试剂盒纯化得到的 DNA 电泳检测无肉眼可见的差异。
7. 送检试剂盒与对照试剂盒测得的各项指标的差异必须小于±10%。

以上任何一项不符合要求即判断为不合格产品。