

2×SYBR Green PCR Mix 质检报告单

请检编号	20200620	请检日期	20200618	请检人	李春																																																																		
生产日期	20200618	抽检比例	1/1000	产品序号	7106100																																																																		
产品批号	20200620	产品名称	2×SYBR Green PCR Mix																																																																				
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	√	√	√	√																																																																			
RT-PCR 检测	√	√	√	√																																																																			
备注	本批次共生产 100 盒，随机抽取一盒送检。																																																																						
检验结果	<div style="text-align: center;"> </div> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th>Well</th> <th>Sample Name</th> <th>Detector</th> <th>Task</th> <th>Ct</th> <th>StdDev Ct</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>D3</td><td>test</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>21.02</td><td>3.998</td></tr> <tr><td>D4</td><td>test</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>24.01</td><td>3.998</td></tr> <tr><td>D5</td><td>test</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>27.08</td><td>3.998</td></tr> <tr><td>D6</td><td>test</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>30.32</td><td>3.998</td></tr> <tr><td>D7</td><td>test</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>Undet.</td><td>3.998</td></tr> <tr><td>E3</td><td>c</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>21.10</td><td>4.060</td></tr> <tr><td>E4</td><td>c</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>23.88</td><td>4.060</td></tr> <tr><td>E5</td><td>c</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>27.30</td><td>4.060</td></tr> <tr><td>E6</td><td>c</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>30.43</td><td>4.060</td></tr> <tr><td>E7</td><td>c</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>Undet.</td><td>4.060</td></tr> </tbody> </table>					Well	Sample Name	Detector	Task	Ct	StdDev Ct	D3	test	SYBR	Unknown	21.02	3.998	D4	test	SYBR	Unknown	24.01	3.998	D5	test	SYBR	Unknown	27.08	3.998	D6	test	SYBR	Unknown	30.32	3.998	D7	test	SYBR	Unknown	Undet.	3.998	E3	c	SYBR	Unknown	21.10	4.060	E4	c	SYBR	Unknown	23.88	4.060	E5	c	SYBR	Unknown	27.30	4.060	E6	c	SYBR	Unknown	30.43	4.060	E7	c	SYBR	Unknown	Undet.	4.060
Well	Sample Name	Detector	Task	Ct	StdDev Ct																																																																		
D3	test	SYBR	Unknown	21.02	3.998																																																																		
D4	test	SYBR	Unknown	24.01	3.998																																																																		
D5	test	SYBR	Unknown	27.08	3.998																																																																		
D6	test	SYBR	Unknown	30.32	3.998																																																																		
D7	test	SYBR	Unknown	Undet.	3.998																																																																		
E3	c	SYBR	Unknown	21.10	4.060																																																																		
E4	c	SYBR	Unknown	23.88	4.060																																																																		
E5	c	SYBR	Unknown	27.30	4.060																																																																		
E6	c	SYBR	Unknown	30.43	4.060																																																																		
E7	c	SYBR	Unknown	Undet.	4.060																																																																		
审核意见	质检员: 审核人:																																																																						

2×SYBR Green PCR Mix 检测方法

一、目的

通过 2×SYBR Green PCR Mix 对不同浓度梯度的 DNA 进行荧光定量 PCR 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 2×SYBR Green PCR Mix、对照其他批次的 2×SYBR Green PCR Mix、猪 DNA、猪源扩增引物（F：CGACAAAGCAACCCTCACAC/R：TGCGAGGGCGGTAATGAT）、八联排管。
2. 仪器：移液器、台式离心机、荧光定量 PCR 仪（ABI PRISM® 7000 Sequence Detection System）。

三、RT-PCR 操作步骤

1. 取 5 μl 猪 DNA（约 40 ng/μl），加入 45 μl ddH₂O 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，我们取原始浓度的 10⁻¹、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴ 作模板。（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×SYBR Green PCR Mix（simgen）各试剂及引物置于冰上，按说明书配制猪源检测荧光定量 PCR 反应体系。依次在荧光定量 PCR 反应体系混合液中平行加入 5 μl 不同浓度梯度的猪源 DNA 模板、ddH₂O（阴性对照），充分混匀后盖上管盖。然后放置于 ABI PRISM®7000 荧光 PCR 仪中进行荧光定量 PCR。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 5 s

60°C 34 s

Dissociation stage(Reps: 1)

95°C 15 s

60°C 20 s

95°C 15 s

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. 用送检 2×SYBR Green PCR Mix 进行的 RT-PCR 扩增曲线正常，相邻浓度梯度 Ct 值相差 3.3 左右，阴性对照无扩增。
3. 送检 2×SYBR Green PCR Mix 与对照 2×SYBR Green PCR Mix 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。