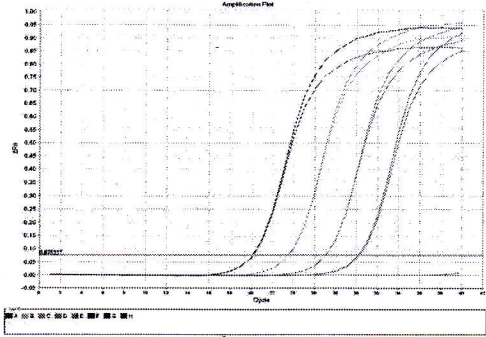



### 2×SYBR Green PCR Mix 质检报告单

请检编号	20220104	请检日期	2022.01.06	请检人	李春
生产日期	2022.01.06	抽检比例	1/1000	产品序号	7106100
产品批号	20220104	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 219 盒，随机抽取一盒送检。				
检验结果	 <p style="text-align: center; font-size: 2em; font-weight: bold;">合格</p> <p style="text-align: right;">质检员：计亚刚</p>				
审核意见	 <p style="text-align: center;">审核人：李春</p>				

## 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® 7500 Sequence Detection System）。

### 三、 RT-PCR 操作步骤

- 1、取 10 μl 猪 DNA（约 40 ng/μl），加入 90 μl ddH<sub>2</sub>O 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<sup>-1</sup>、10<sup>-2</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup> 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、ddH<sub>2</sub>O（阴性对照），充分混匀后盖上管盖。然后放置于 ABI PRISM®7500 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 30 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。