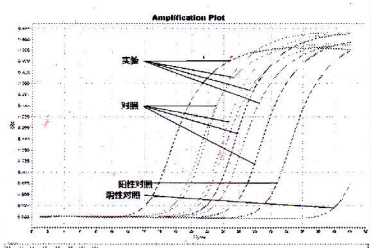


血浆游离核酸纯化试剂盒检测报告单

XJ-QR-016

请检编号	20230406	请检日期	2023.04.10	请检人	李春					
生产日期	2023.04.10	抽检比例	1/1000	产品序号	3113050					
产品批号	20230406	产品名称	血浆游离核酸纯化试剂盒（50次）							
说明： 产品符合要求，打“√”，不符合要求打“×”，如果不符合要求，在备注中注明不符合项的详细内容。										
编号 要求（指标）	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
试剂盒外观 与组成	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
荧光PCR检测	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
备注	1. 本批次共生产 20 盒，随机抽取一盒送检。 2. 血浆游离核酸用 50 μl Buffer TE 洗脱。									
检验结果	 质检员：合格 蔡恩奇									
审核意见										

血浆游离核酸纯化试剂盒检验方法

一、实验目的

通过血浆游离核酸的分离纯化，以及对获得的核酸的各项指标的测试，判断送检的产品是否符合质量要求。

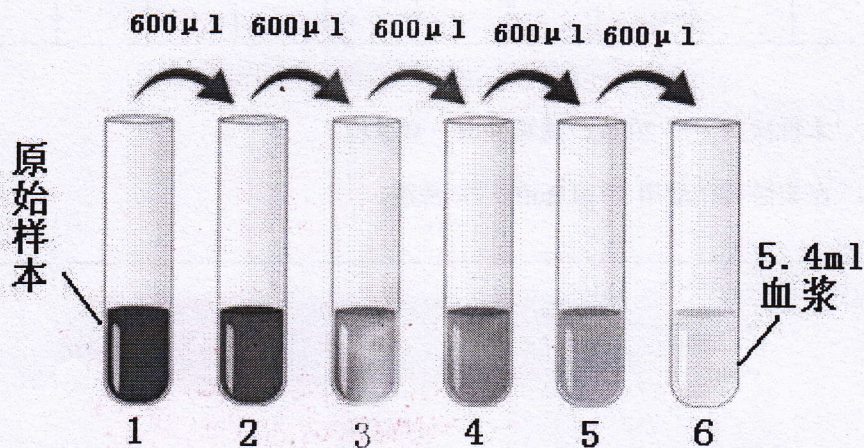
二、材料、试剂及器具

1. 材料：送检血浆游离核酸纯化试剂盒、50 ml 和 1.5 ml 离心管若干。
2. 器具：台式小量离心机（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、移液器以及负压装置。

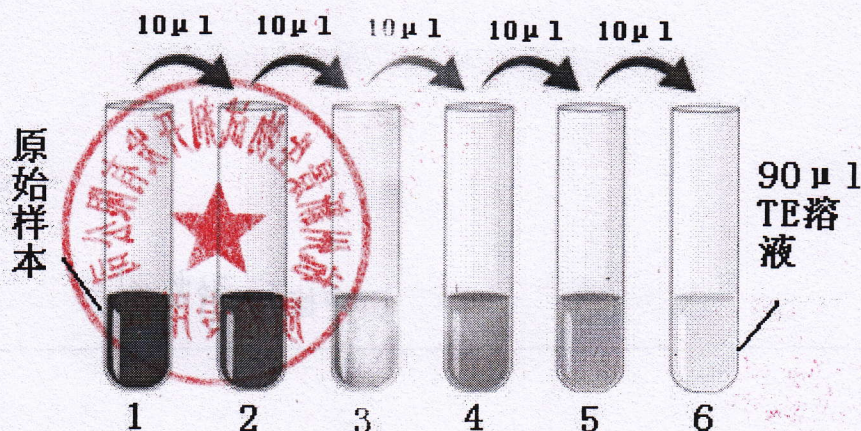
三、操作步骤

1. 血浆游离核酸梯度稀释步骤

取猪的线粒体 DNA 的荧光 PCR 产物稀释 10000 倍作为原始样本，取 0.6 ml 原始样本，加入 5.4 ml 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、100000 倍，如下图所示。



以同样的方式，将血浆换成 Buffer TE，取 10 μl 原始样本，加入 90 μl TE 混合均匀，获得相同浓度梯度的 TE 稀释样本。



2. 血浆游离核酸纯化步骤：

取每管 5 ml 血浆游离核酸样本(3、4、5、6 四个浓度梯度)，按照血浆游离核酸纯化试剂盒说明书的操作步骤，用送检试剂盒抽提 4 管血浆样本中的游离核酸，最终得到的核酸用 50 μ l Buffer TE 洗脱。

四、荧光 PCR 检测步骤

1. 将 2 $\times$ SYBR Green PCR Mix(simgen)各试剂及引物置于冰上，按 2 $\times$ SYBR Green PCR Mix(simgen)说明书配置荧光定量 PCR 反应体系。
2. 依次在荧光定量 PCR 反应体系中加入 5 μ l 纯化后的游离核酸模板和 TE 稀释的游离核酸模板、ddH₂O (阴性对照)，盖上管盖。然后放置于 ABI PRISM®7000 荧光 PCR 仪中进行荧光定量 PCR。
3. 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

Dissociation stage(Reps: 1)

95°C 15s

60°C 20s

95°C 15s

4. 扩增完成后，观察标准曲线并记录各曲线的 CT 值。

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. 用送检的血浆游离核酸纯化试剂盒纯化得到的核酸作为模板的荧光 PCR 扩增曲线正常，且相邻梯度样本之间相差 3.3 个 CT 值，阴性对照无扩增。
3. 同等梯度血浆样本稀释纯化后得到的核酸与阳性对照即 TE 稀释的核酸样本之间相差 5~6.6 个 CT 值。

以上任何一项不符合要求即判断为不合格产品。