



杭州新景生物试剂开发有限公司
地址：浙江省杭州市西湖科技经济园金蓬街366号1幢东4F
邮编：310030 电话：0571-87381295 传真：0571-87381297

2×SYBR Green PCR Mix 质检报告单

请检编号	20201123	请检日期	20201123	请 检 人	李春																																																																																																														
生产日期	2020.11.20	抽检比例	1/1000	产品序号	7106100																																																																																																														
产品批号	20201123	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 256 支，随机抽取一支送检。																																																																																																																		
检验结果	Amplification Plot Legend: A B C D E F G H <table><thead><tr><th>Well</th><th>Omit</th><th>Flag</th><th>Sample Name</th><th>Target Name</th><th>Task</th><th>Dyes</th><th>Cr</th><th>Cr Mean</th><th>Cr SD</th><th>Quantity</th></tr></thead><tbody><tr><td colspan="11">UNKNOWN</td></tr><tr><td>A4</td><td>☐</td><td>1</td><td></td><td>N</td><td>UNKNOWN</td><td>SYBR-None</td><td>31.200</td><td>26.266</td><td>4.318</td><td></td></tr><tr><td>B4</td><td>☐</td><td>1</td><td></td><td>N</td><td>UNKNOWN</td><td>SYBR-None</td><td>28.071</td><td>26.266</td><td>4.318</td><td></td></tr><tr><td>C4</td><td>☐</td><td>1</td><td></td><td>N</td><td>UNKNOWN</td><td>SYBR-None</td><td>24.573</td><td>26.266</td><td>4.318</td><td></td></tr><tr><td>D4</td><td>☐</td><td>1</td><td></td><td>N</td><td>UNKNOWN</td><td>SYBR-None</td><td>21.220</td><td>26.266</td><td>4.318</td><td></td></tr><tr><td>E4</td><td>☐</td><td>1</td><td></td><td>O</td><td>UNKNOWN</td><td>SYBR-None</td><td>31.006</td><td>26.248</td><td>4.145</td><td></td></tr><tr><td>F4</td><td>☐</td><td>1</td><td></td><td>O</td><td>UNKNOWN</td><td>SYBR-None</td><td>27.958</td><td>26.248</td><td>4.145</td><td></td></tr><tr><td>G4</td><td>☐</td><td>1</td><td></td><td>O</td><td>UNKNOWN</td><td>SYBR-None</td><td>24.607</td><td>26.248</td><td>4.145</td><td></td></tr><tr><td>H4</td><td>☐</td><td>1</td><td></td><td>O</td><td>UNKNOWN</td><td>SYBR-None</td><td>21.423</td><td>26.248</td><td>4.145</td><td></td></tr></tbody></table>					Well	Omit	Flag	Sample Name	Target Name	Task	Dyes	Cr	Cr Mean	Cr SD	Quantity	UNKNOWN											A4	☐	1		N	UNKNOWN	SYBR-None	31.200	26.266	4.318		B4	☐	1		N	UNKNOWN	SYBR-None	28.071	26.266	4.318		C4	☐	1		N	UNKNOWN	SYBR-None	24.573	26.266	4.318		D4	☐	1		N	UNKNOWN	SYBR-None	21.220	26.266	4.318		E4	☐	1		O	UNKNOWN	SYBR-None	31.006	26.248	4.145		F4	☐	1		O	UNKNOWN	SYBR-None	27.958	26.248	4.145		G4	☐	1		O	UNKNOWN	SYBR-None	24.607	26.248	4.145		H4	☐	1		O	UNKNOWN	SYBR-None	21.423	26.248	4.145	
Well	Omit	Flag	Sample Name	Target Name	Task	Dyes	Cr	Cr Mean	Cr SD	Quantity																																																																																																									
UNKNOWN																																																																																																																			
A4	☐	1		N	UNKNOWN	SYBR-None	31.200	26.266	4.318																																																																																																										
B4	☐	1		N	UNKNOWN	SYBR-None	28.071	26.266	4.318																																																																																																										
C4	☐	1		N	UNKNOWN	SYBR-None	24.573	26.266	4.318																																																																																																										
D4	☐	1		N	UNKNOWN	SYBR-None	21.220	26.266	4.318																																																																																																										
E4	☐	1		O	UNKNOWN	SYBR-None	31.006	26.248	4.145																																																																																																										
F4	☐	1		O	UNKNOWN	SYBR-None	27.958	26.248	4.145																																																																																																										
G4	☐	1		O	UNKNOWN	SYBR-None	24.607	26.248	4.145																																																																																																										
H4	☐	1		O	UNKNOWN	SYBR-None	21.423	26.248	4.145																																																																																																										
审核意见	质检员: 王青青 审核人: 张文彬 质检专用章																																																																																																																		

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。