

## 环境 DNA 提取试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

|                                                                                  |                                                                                                   |         |              |         |         |
|----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|--------------|---------|---------|
| 请检编号                                                                             | 20250443                                                                                          | 请检日期    | 2025.04.16   | 请检人     | 黄芳      |
| 生产日期                                                                             | 2025.04.16                                                                                        | 抽检比例    | 1/1000       | 产品序号    | 4107050 |
| 产品批号                                                                             | 20250443                                                                                          | 产品名称    | 环境 DNA 提取试剂盒 |         |         |
| 填写说明：<br>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<br>要求（指标）                                                                     | 检验 1                                                                                              | 检验 2    | 对照 1         | 对照 2    |         |
| DNA OD <sub>260</sub>                                                            | 1.776                                                                                             | 1.916   | 1.892        | 1.807   |         |
| DNA OD <sub>280</sub>                                                            | 0.976                                                                                             | 1.054   | 1.037        | 0.991   |         |
| DNA OD <sub>230</sub>                                                            | 0.952                                                                                             | 1.033   | 1.251        | 1.106   |         |
| OD <sub>260</sub> /OD <sub>230</sub>                                             | 1.87                                                                                              | 1.85    | 1.51         | 1.63    |         |
| OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>                                             | 1.82                                                                                              | 1.82    | 1.83         | 1.82    |         |
| DNA 浓度<br>(ng/μl)                                                                | 88.8057                                                                                           | 95.8161 | 94.5988      | 90.3338 |         |
| 试剂盒外观<br>与组成                                                                     | √                                                                                                 | √       | √            | √       |         |
| PCR 检测                                                                           | √                                                                                                 | √       | √            | √       |         |
| 电泳检测                                                                             | √                                                                                                 | √       | √            | √       |         |
| 备注                                                                               | 1. 本批次随机抽取一盒送检。<br>2. 基因组 DNA 用 100 μl Buffer TE 洗脱。                                              |         |              |         |         |
| 检验结果                                                                             |  合格<br>质检员：何晨玉 |         |              |         |         |
| 审核意见                                                                             | <br>审核人：计亚鹏  |         |              |         |         |

## 环境 DNA 提取试剂盒质检方法

### 一、目的

通过土壤 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：送检环境 DNA 提取试剂盒、对照其他批次的试剂盒、1.5 ml 离心管若干。
2. 仪器：电子分析天平、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、旋涡振荡器。

### 三、基因组 DNA 纯化操作步骤

按每管 500 mg 的重量称取 4 管土壤（同一个样本），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 管土壤中的 DNA。最终 DNA 用 100  $\mu$ l Buffer TE 洗脱。

### 四、纯化的基因组 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  $\mu$ l 洗脱的基因组 DNA 检测，记录各个波长的吸光度。

### 五、PCR 检测操作步骤

1. 取一个 0.6 ml 离心管，加入 140  $\mu$ l 的 2 $\times$ Taq Plus PCR Master Mix，再加入 14  $\mu$ l 细菌 16s 引物（正向、反向引物各 7  $\mu$ l），最后加入 91  $\mu$ l 超纯水，混合均匀。
2. 按每管 35  $\mu$ l 的体积将步骤 1 的混合物分装到 6 个 PCR 管中，再分别加入 5  $\mu$ l 超纯水（阴性对照）、5  $\mu$ l 检测试剂盒纯化的基因组 DNA（两管）、5  $\mu$ l 对照试剂盒纯化的基因组 DNA（两管）、5  $\mu$ l 土壤 DNA（阳性对照）。
3. 扩增条件：94 $^{\circ}$ C, 5 min, {94 $^{\circ}$ C, 45sec; 55 $^{\circ}$ C, 45sec; 72 $^{\circ}$ C, 1min30sec} $\times$ 30cycles, 72 $^{\circ}$ C, 10min。
4. 按内容六进行电泳检测。

### 六、电泳检测操作步骤（连同 PCR 扩增产物）

在 1% 琼脂糖凝胶上，按下表依次加入基因组 DNA/PCR 产物，电泳结束后在紫外灯下观察并记录分析结果。

|                           | 检验<br>1   | 检验<br>2   | 对照<br>1   | 对照<br>2   | 检验 1<br>(PCR) | 检验 2<br>(PCR) | 对照 1<br>(PCR) | 对照 2<br>(PCR) | 阴性<br>对照  | 阳性<br>对照  |
|---------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------|-----------|
| DNA/PCR 产物                | 5 $\mu$ l | 5 $\mu$ l | 5 $\mu$ l | 5 $\mu$ l | 5 $\mu$ l     | 5 $\mu$ l     | 5 $\mu$ l     | 5 $\mu$ l     | 5 $\mu$ l | 5 $\mu$ l |
| 6 $\times$ Loading Buffer | 1 $\mu$ l | 1 $\mu$ l | 1 $\mu$ l | 1 $\mu$ l | --            | --            | --            | --            | --        | --        |

### 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 1.9 $\pm$ 0.10 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 $\geq$ 1.5。
4. 用送检试剂盒纯化得到的 DNA 作为模板的 PCR 产物条带清晰可见，阴性对照无扩增产物。
5. 送检试剂盒纯化得到的 DNA 电泳检测，无肉眼可见的 RNA 污染，主条带清晰。
6. 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 $\pm$ 10%。

以上任何一项不符合要求即判断为不合格产品。