

用于 RT-PCR 方法检测新冠病毒试剂盒生产的 质控品使用手册

Cat.No.PC012 (质控品 A, 1×10^6 copies/ml, 1 ml)

Cat.No.PC013 (质控品 B, 1×10^5 copies/ μ l, 50 μ l)

Cat.No.PC014 (质控品 C, 1×10^5 copies/ μ l, 50 μ l)

广州复能基因有限公司

广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城
掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 F 区 8 楼
邮编: 510663
电话: 4006-020-200
邮箱: sales@igenebio.com
网址: www.genecopoeia.com
www.igenebio.com

质控品使用手册

- I. 产品介绍
- II. 产品组分
- III. “模拟病毒”质控品的参考使用流程
- IV. RNA 质控品的参考使用流程
- V. cDNA 质控品的参考使用流程
- VI. “模拟病毒”质控品的检测案例
- VII. RNA 质控品的检测案例
- VIII. cDNA 质控品的检测案例

I. 产品介绍

“质控品”是指用于核酸测试剂盒的原料及试剂盒生产过程中质量分析和质量控制的生物物质，是生产优质检测试剂盒的关键。在试剂盒生产流程中进行严格分析，可以很快的发现问题，优化反应体系，以提高试剂生产的质和量。

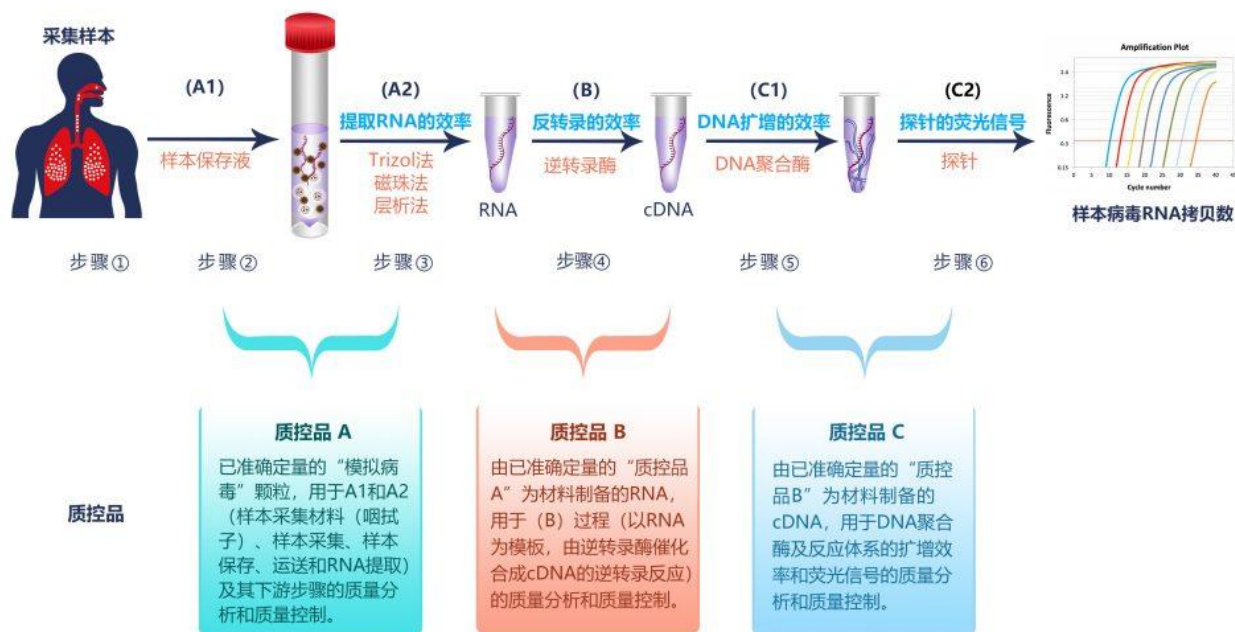
RT-PCR 检测样本的包含三个环节，分别是 RNA 提取，RT 反应和 PCR 反应。

质控品 A：即模拟病毒质控品，精准定量的模拟病毒颗粒（A1）或者精准定量的模拟病毒+人源细胞（A2），可用于样本采集材料、样本采集、保存、转运和 RNA 提取及其后续实验操作等过程的质量分析和质量控制；

质控品 B：即 RNA 质控品，由精准定量的质控品 A 所提取的 RNA（B1）或者精准定量的质控品 A 所提取的 RNA+人 RNA（B2），通过精准定量后得到的质控品，可用于 RT-PCR 中的 RT 反应质量分析和质量控制；

质控品 C：即 DNA 质控品，由精准定量的质控品 B 通过反转录反应制备的 cDNA，可用于 PCR 反应体系中扩增效率及荧光信号的质量分析和质量控制。

质控品的使用环节



II. 产品组分

货号	产品名称	组分货号	组分	规格	存储
PC012	质控品 A	PC012	模拟病毒质控品	1×10 ⁶ copies/ml, 1 ml	-80℃
PC013	质控品 B	PC013-01	RNA 质控品	1×10 ⁵ copies/μl, 50 μl	-80℃
		PC013-02	稀释液(1x)	1 ml	-20℃
PC014	质控品 C	PC014-01	cDNA 质控品	1×10 ⁵ copies/μl, 50 μl	-20℃
		PC013-02	稀释液(1x)	1 ml	-20℃

III. “模拟病毒”质控品的参考使用流程

1. 样本处理和核酸提取

建议取 200μl 液态样本进行核酸提取。可使用 RNAzol® RT RNA Isolation Reagent (Genecopoeia, Cat.QP020)，具体操作步骤请按照说明书分离提取总 RNA 指引进行。

2. RT-qPCR 反应

取出 BlazeTaq™ Probe One-Step RT-qPCR kit (Genecopoeia, Cat.QP076) 试剂盒室温解冻，短暂离心使管中试剂集中于底部，然后迅速置于冰上保存。根据定量 PCR 仪器需求，选择是否使用 ROX Reference Dye。按照下表内容，在冰上准备 RT-qPCR 反应液。

试剂	体积	终浓度
Probe One Step RT-qPCR Mix (5×)	4 μL	1×
BlazeTaq™ RTase Mix (50×)	0.4 μL	1×
PCR forward primer (10 μM)	0.4 μL	0.2 μM
PCR reverse primer (10 μM)	0.4 μL	0.2 μM
Probe (10 μM)	0.2 μL	0.1 μM
RNA 模板	5 μL	
ROX Reference Dye (30 μM), <i>optional</i>	0.4 -0.1 μL	600 nM~150 nM
ddH ₂ O	to 20μL	

按照反应体系说明将各组分加入 PCR 反应管或平板中，短暂离心确保预混反应液填充满 PCR 反应管或平板底部。

3. 设置 RT-qPCR 程序

根据下表设置 RT-qPCR 程序进行反应

循环数	步骤	温度	时间	检测与否
1	逆转录	50°C	10 min	否
1	预变性	95°C	30 sec	否
40	变性	95°C	10 sec	否
	延伸	60°C	30 sec	是

4. 根据实验需要进行结果判定。

IV. RNA 质控品的参考使用流程

1. 根据实验需要选择质控品 B 稀释备用。

2. qPCR 试剂准备和结果判定

请参考【III. “模拟病毒”质控品的参考使用流程】中第 2、3、4 步骤进行。

V. cDNA 质控品的参考使用流程

1. 根据实验需要选择质控品 C 稀释备用。

2. qPCR 试剂准备

取出 BlazeTaq™ Probe qPCR Master Mix(with ROX)(Genecopoeia, Cat.QP036)试剂盒室温解冻，短暂离心使管中试剂集中于底部，然后迅速置于冰上保存。根据定量 PCR 仪器需求，选择是否使用 ROX Reference Dye。按照下表内容，在冰上准备 qPCR 反应液。

试剂	体积	终浓度
BlazeTaq™ Probe qPCR Mix (5×)	4 μL	1×
PCR forward primer (2 μM)	2 μL	0.2 μM
PCR reverse primer (2 μM)	2 μL	0.2 μM
cDNA 模板	2 μL	
Probe (10 μM)	0.2 μL	0.1 μM
ROX Reference Dye (30 μM), <i>optional</i>	0.4-0.1 μL	600 nM~150 nM
ddH ₂ O	to 20 μL	

轻柔混匀 qPCR 预混液并短暂离心，按照反应体系说明将预混液加入 PCR 反应管或者反应板中，短暂离心确保预混反应液充满 PCR 反应管底部。

3. 设置 qPCR 程序

根据下表设置两步法 qPCR 程序进行 qPCR 反应

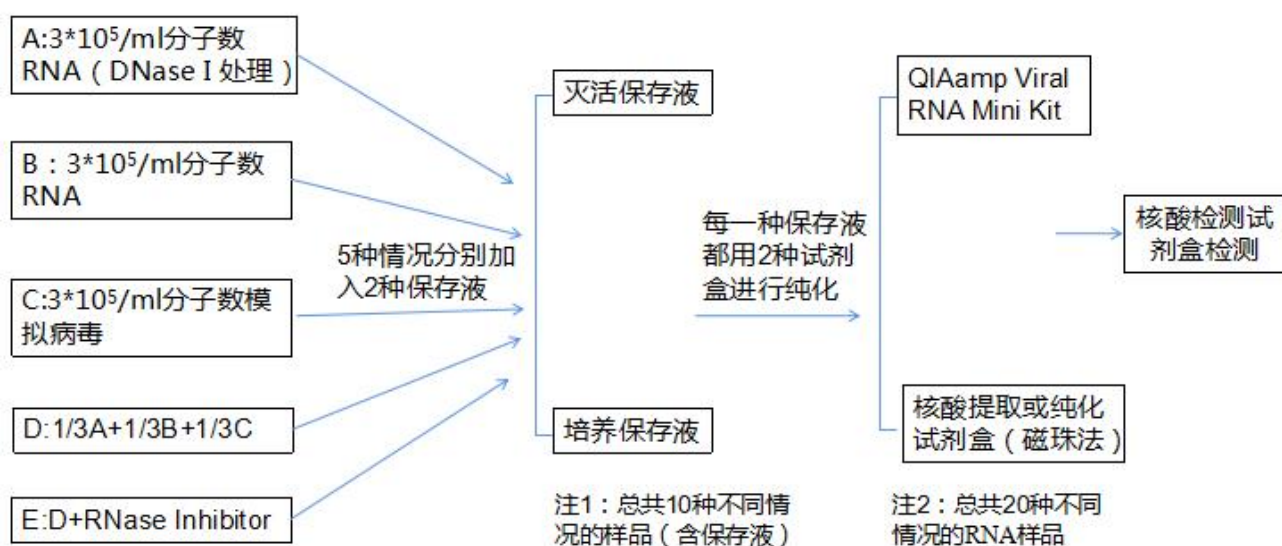
循环数	步骤	温度	时间	检测与否
1	预变性	95°C	2 min	否
40	变性	95°C	10 sec	否
	退火和延伸	60°C	30 sec	是

4. 根据实验需要进行结果判定。

VI. “模拟病毒”质控品的检测案例

利用“模拟病毒”质控品以及 RNA 质控品为原材料，通过不同组合材料经过不同保存液处理以及不同提取方式提取后 qPCR 检测，从而确定不同提取方式的优劣以及不同样本保存液的差异。

1. 实验设计



2. 实验结果

样本 A、B、C、D、E 添加至灭活保存液并取 140ul 利用 QIAGEN 试剂盒进行 RNA 抽提，65ul DEPC H₂O 洗脱，获得样本 1、2、3、4、5；

样本 A、B、C、D、E 添加至培养保存液并取 140ul 利用 QIAGEN 试剂盒进行 RNA 抽提，65ul DEPC H₂O 洗脱，获得样本 6、7、8、9、10；

样本 A、B、C、D、E 添加至灭活保存液并取 200ul 利用磁珠进行 RNA 抽提，100ul DEPC H₂O 洗脱，获得样本 11、12、13、14、15；

样本 A、B、C、D、E 添加至培养保存液并取 200ul 利用磁珠进行 RNA 抽提，100ul DEPC H₂O 洗脱，获得样本 16、17、18、19、20。

样本	1#	2#	3#	4#	5#	6#	7#	8#	9#	10#
FL-S	20.76	20.91	21.33	21.24	21.99	21.27	21.31	23.16	22.37	21.51
N-Hex	22.45	22.82	23.50	23.03	24.03	23.16	23.33	25.15	24.29	23.44
样本	11#	12#	13#	14#	15#	16#	17#	18#	19#	20#
FL-S	26.49	26.15	26.52	25.92	23.97	26.02	29.99	27.12	27.22	26.75
N-Hex	27.75	27.54	27.81	26.93	26.45	27.46	31.79	29.57	29.04	28.04

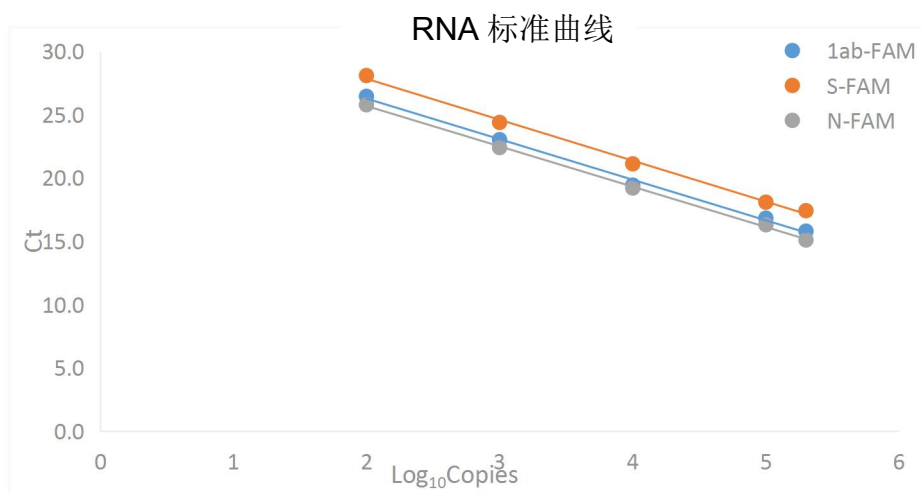
3. 结论

- QIAamp Viral RNA Mini Kit 提取的效果与磁珠法核酸提取或纯化试剂盒比较，样本 RNA RT-qPCR 检测提前约 6 个 Ct；
- 针对 RNA 样本，DNase I 处理后再进行 RNA 抽提，RT-qPCR 检测结果基本一致；
- 不同处理的样本，同一样本保存液中提取 RNA，RT-qPCR 检测结果基本一致。

VII. RNA 质控品的检测案例

RNA 质控品可用于逆转录酶及其反应条件效率的质量分析和质量控制；以及对未知 RNA 进行定量工作（标准曲线的绘制）。以检测新冠病毒的三个靶点为例，对 RNA 质控品进行梯度稀释绘制标曲。

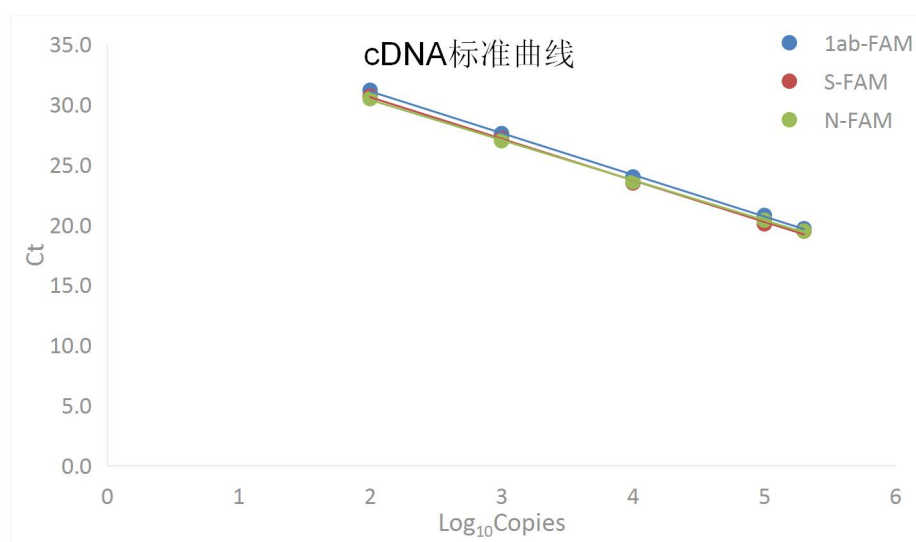
Copies	Log ₁₀ Copies	ORF1ab-FAM	S-FAM	N-FAM
2×10 ⁵	5.30	15.8	17.4	15.1
1×10 ⁵	5.00	16.8	18.1	16.3
1×10 ⁴	4.00	19.4	21.1	19.2
1×10 ³	3.00	23.0	24.4	22.4
1×10 ²	2.00	26.4	28.1	25.8
R ²		0.9967	0.9970	0.9991
E		1.05	1.04	1.06



VIII. cDNA 质控品的检测案例

cDNA 质控品可用于在一定条件下的 PCR 反应中 DNA 聚合酶、引物和探针的最佳使用浓度的质量分析和质量控制。以检测新冠病毒的三个靶点为例，对 cDNA 质控品进行梯度稀释绘制标曲。

Copies	Log ₁₀ Copies	ORF1ab-FAM	S-FAM	N-FAM
2×10 ⁵	5.30	19.7	19.5	19.5
1×10 ⁵	5.00	20.8	20.1	20.4
1×10 ⁴	4.00	24.0	23.5	23.6
1×10 ³	3.00	27.6	27.2	27.0
1×10 ²	2.00	31.2	30.7	30.5
R ²		0.9994	0.9983	0.9995
E		0.94	0.95	1.00



I. 使用许可与质量保证

使用限制

以下条款适用于新型冠状病毒 SARS-CoV-2 核酸检测试剂盒产品。若您不能接受这些条款，请在 5 个自然日内将产品完整退还给 Fulengen。产品购买者需遵守最终用户限制许可条例。本产品仅限购买者内部研究使用，不得用于人体或诊断、治疗。未经 Fulengen 事先书面同意，本产品不得转售，不得重新包装或修改后转售，不得用于生产商用产品。

质量保证

Fulengen 保证产品与产品数据表中描述的规格保持一致。若经 Fulengen 证实产品未达到规格要求，Fulengen 将为您替换产品。若无法替换，Fulengen 将退款给购买者。此质量保证仅适用于最初产品购买者。Fulengen 仅负责替换产品或退还实际的购买金额。对于由使用或不正确使用产品产生的损害或使用其他相关材料和试剂产生的损耗，Fulengen 不承担责任。Fulengen 不提供任何形式的明示的或者默示的保证，包括对适销性、适用于特定用途的默示保证。

Fulengen 致力于为消费者提供高质量的研究产品。如果您对 Fulengen 的产品有任何问题或疑虑，请拨打电话 4006-020-200 联系我们。

广州复能基因有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 D 区 8 楼

邮编：510663 电话：4006-020-200

网址：www.fulengen.com（中文）

质控品的商标是



为广州复能基因有限公司的中国注册商标，注册号为 46838443。

PC012-14-070822