

第二临床学院“高通量测序耳聋基因检测试剂盒的 研发和应用”项目原材料采购项目 初步验收合格报告

我单位“高通量测序耳聋基因检测试剂盒的研发和应用”项目原材料采购项目，金额：15.9万元，于2023年7月4日与中标方签订了货物采购合同，主要货物名称为：多重扩增引物、多重 PCR 混合液、PCR 扩增预混液、含标签序列的引物、纯化磁珠。

2023年7月7日所有货物到货，货物包装完好，由供货商和我方相关人员在场，开箱对货物进行了初步验收，所有货物完好无损，货物名称、型号规格、数量、产地、文本资料核对无误，供货日期是按照合同约定执行，没有出现延期情况，双方人员签订了货物交接清单（双方签字）等交接手续。

2023年7月10日，由我方技术人员对试剂盒进行了功能验证和性能测试。经过测试，货物运行正常，功能要求和性能指标达到了合同要求，我院组织了李瑞君、田永安、马勇社三位技术工程人员和供货商进行了初步验收，验收情况合格。

验收人员（签字）：

李瑞君、田永安、马勇社

单位监督及项目负责人（签字）：

田永安、马勇社

单位名称：

日期：



测试报告

合同名称: 第二临床学院“高通量测序耳聋基因检测试剂盒的
研发和应用”项目原材料采购

测试类型: 耳聋基因检测试剂盒原材料上机测试

报告时间: 2023年7月10日

1 测试摘要

- 1.1 测试单位：“高通量测序耳聋基因检测试剂盒的研发和应用”项目组
- 1.2 参与测试人员信息：李瑞君、田永安、马勇社
- 1.3 测试开始日期：2023年7月07日
- 1.4 测试结束日期：2023年7月10日

2 多重扩增引物(耳聋panel pool)测试数据及结论

2.1 测试试剂信息

- 2.1.1 货物名称：多重扩增引物(耳聋panel pool)
- 2.1.2 品牌型号：诺唯赞NA106-02
- 2.1.3 制造商：南京诺唯赞生物科技股份有限公司

表 1 多重扩增引物(耳聋panel pool)测试试剂信息

序号	物料名称	单位	入库数量	测试数量	批次	有效期	存储温度	备注
1	诺唯赞NA106-02	盒	20	1	7E711D3	2024-10-10	-25℃-15℃	

2.2 测试结论

- 2.2.1 验证期间，根据试剂盒说明书测试该批引物剂盒，纯度、浓度等均符合本实验室要求。
- 2.2.2 QC实验结果如下：

表 2 QC质量结果

ID号	引物池	耳聋热点突变位点	引物对数	引物长度	纯度	浓度	应用
1020-1	2	包含	88	50-67 nt	96%	10.5μM	第二代测序平台
1020-2	2	包含	88	50-67 nt	96%	10.5μM	第二代测序平台
1020-3	2	包含	88	50-67 nt	96%	10.5μM	第二代测序平台

2.2.3 实验参数结果比对

表3 参数要求

序号	参数要求	是否达到要求
1	包含2个引物池, 至少包含86条引物(设计引物时已按要求设计, 符合要求)	是
2	包含耳聋的常见热点突变(符合要求)	是
3	引物长度在50-67nt之间(设计引物时已按要求设计, 符合要求)	是
4	纯度应不低于95%(符合要求)	是
5	浓度应不低于10 μ M(符合要求)	是
6	适用于二代测序平台(按照NGS要求设计, 适用于二代平台)	是

2.2.4 多重扩增引物(耳聋panel pool)试剂盒测试结论: 合格

3 多重PCR混合液(VAHTS™ AmpSeq Multi-PCR Module V2)试剂盒测试数据及结论

3.1 测试试剂信息

3.1.1 货物名称: 多重PCR混合液(VAHTS™ AmpSeq Multi-PCR Module V2)

3.1.2 品牌型号: 诺唯赞NA205-ZDC-02

3.1.3 制造商: 南京诺唯赞生物科技股份有限公司

表4 多重PCR混合液试剂盒测试试剂信息

序号	物料名称	单位	入库数量	测试数量	批次	有效期	存储温度
1	诺唯赞NA205-ZDC-02 试剂盒	盒	20	1	7E742C3	2024-09-23	-25°C-15°C

3.2 测试结论

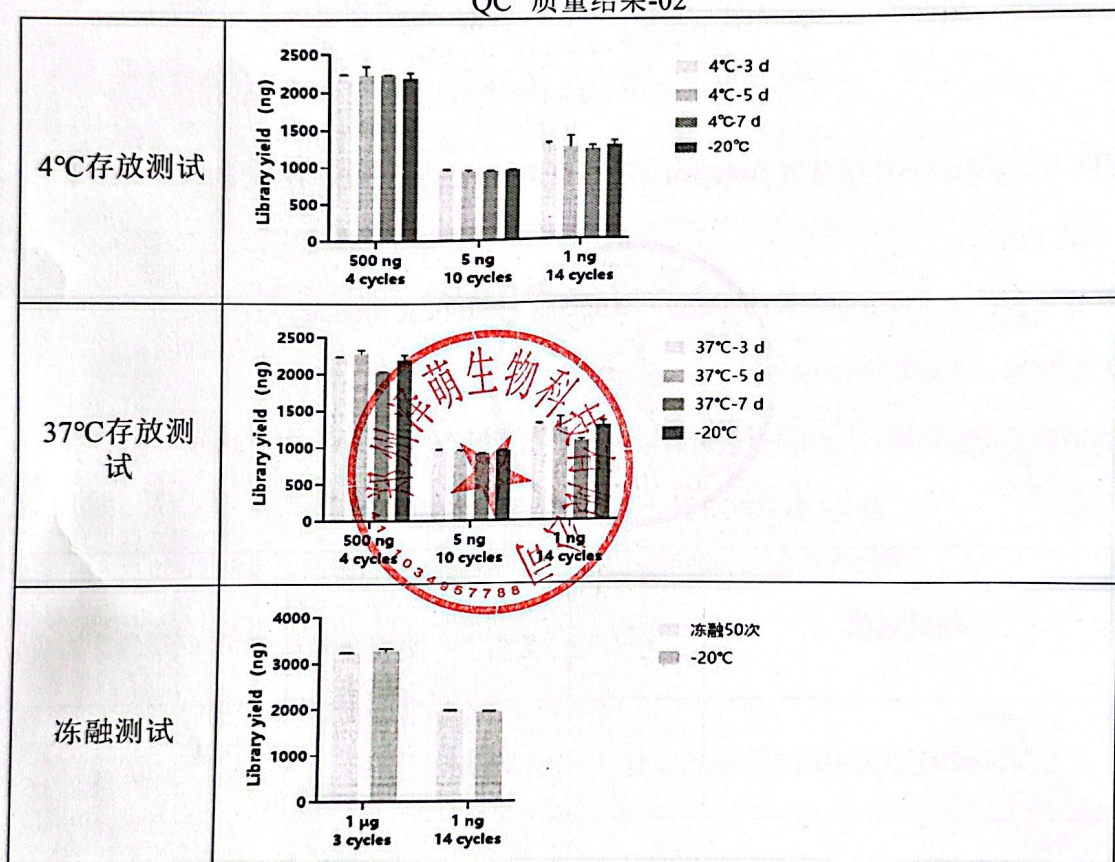
3.2.1 验证期间, 根据试剂盒说明书测试该批多重PCR混合液试剂盒, 兼容的扩增子长度、保真度等均符合本实验室要求。

3.2.2 QC实验结果如下:

表 5 QC质量结果-01

序号	ID号	扩增片段长度 (bp)	input(ng)	建库 循环数	文库产量 (ng)	质控 是否合格
1	1020-1	300	100	24	198	√
2	1020-2	500	100	24	195	√

QC 质量结果-02



与正对照相比(存放-20°C), NA205-ZDC-02在4°C放置7天, 37°C放置7天以及在冻融50次情况下, 产品稳定性好。

3.2.3 实验参数结果比对

表 6 参数要求

序号	参数要求	是否达到要求
1	试剂为mix形式，含有DNA聚合酶、dNTPs、缓冲液等PCR扩增必需组分(模板与引物除外)，(成分符合要求)	是
2	适用于高通量测序文库的PCR扩增(参照QC测试，PCR扩增的产量符合预期，符合要求)	是
3	长期存放或反复冻融后仍能保持稳定的活性(参照QC测试，符合要求)	是
4	扩增酶保真度为普通Taq酶的50倍以上(扩增错配率是Taq DNA Polymerase的1/52,符合要求)	是
5	具有低偏好性，可兼容的300-500bp的片段长度(参照QC测试，符合要求)	是
6	适用于二代测序平台(按照NGS要求设计，适用于二代平台)	是

3.2.4 多重PCR混合液试剂盒测试结论：合格

4 PCR扩增预混液(VAHTS HiFi Amplification Mix)试剂盒测试数据及结论

4.1 测试试剂信息

4.1.1 货物名称：PCR 扩增预混液 (VAHTS HiFi Amplification Mix)试剂盒

4.1.2 品牌型号：诺唯赞N616-02

4.1.3 制造商：南京诺唯赞生物科技股份有限公司

表 7 PCR扩增预混液试剂盒测试试剂信息

序号	物料名称	单位	入库数量	测试数量	批次	有效期	存储温度	备注
1	诺唯赞N616-02 试剂盒	盒	83	1	7E630K2	2024-05-02	-25℃-15℃	

4.2 测试结论

4.2.1 验证期间，进行扩增测试，根据试剂盒说明书测试该批PCR扩增预混液试剂盒，扩增产量及扩增均一性等均符合本实验室要求。

4.2.2 QC实验结果如下:

表8 QC质量结果-01

序号	ID号	样本类型	input (ul)	Input (ng)	建库循环数	文库产量 (ng)	扩增均一性(%)	质控是否合格
1	1015-1	基因组DNA	10	0.10	28	140	100	√
2	1015-2		20	100	16	131	100	√
3	1015-3		20	30	23	145	100	√
4	1015-4	FFPE DNA	10	0.10	30	172	100	√
5	1015-5		20	100	18	193	100	√

4.2.3 实验参数结果比对:



序号	参数要求	是否达到要求
1	试剂为mix形式, 5×浓度(参照试剂盒组分信息, 符合要求)	是
2	反应体系可设置为10μl或20μl(参照QC测试, 符合要求)	是
3	兼容DNA起始量: 100pg-100ng(参照QC测试, 符合要求)	是
4	使用两步法扩增程序(说明书标准流程为二步法, 符合要求)	是
5	对于30ng DNA起始量, 30-40对引物, 扩增23个循环, 扩增产出可达100ng(参照QC测试, 产量均大于100ng, 符合要求)	是
6	扩增产物无需纯化即可进行下一轮扩增(说明书标准流程为无需纯化, 符合要求)	是
7	扩增均一性达到100%(参照QC测试, 扩增均一性均为100%, 符合要求)	是
8	兼容样本类型: 基因组DNA等(参照QC测试, 至少兼容基因组DNA 及 FFPE DNA, 符合要求)	是

4.2.4 PCR扩增预混液试剂盒测试结论: 合格

5 含标签序列的引物(TruePrep™ Index Kit V4 for Illumina®)试剂盒测试数据及结论

5.1 测试试剂信息

5.1.1 货物名称：含标签序列的引物(TruePrep™ Index Kit V4 for Illumina®)

5.1.2 品牌型号：诺唯赞TD204-207-p1

5.1.3 制造商：南京诺唯赞生物科技股份有限公司

表10 含标签序列的引物试剂盒测试试剂信息

序号	物料名称	单位	入库数量	测试数量	批次	有效期	存储温度	备注
1	诺唯赞 TD204-207-p1	盒	20	1	7E732C3	2025-03-22	-25℃~-15℃	

5.2 测试结论

5.2.1 验证期间，根据试剂盒说明书测试该批含标签序列的引物试剂盒，标签数量、浓度均符合本实验室要求。

5.2.2 QC实验结果如下：

序号	ID号	标签数量	纯度	浓度	分子量	质控是否合格
1	1015-1至1015-96	96	96 %	11.5μM	31751	√

5.2.3 实验参数结果比对

表11 参数要求

序号	参数要求	是否达到要求
1	包含一条上游通用引物和96条下游含index引物(包含上游下游各96条，即对数为96对，符合要求)	是
2	96条下游含index引物可提供96种不同index,用于区分不同样本(96个不同标签，可区分96种样本，符合要求)	是
3	适用于二代测序平台(按照NGS要求设计，适用于二代平台)	是
4	纯度应不低于95%(参照QC测试，符合要求)	是
5	浓度应不低于10μM(参照QC测试，符合要求)	是

6	分子量与理论分子量相差应不超过100(参照QC测试的分子量为31752,理论值为31750,符合要求)	是
---	---	---

5.2.4 含标签序列的引物试剂盒测试结论: 合格

6 纯化磁珠(VAHTS DNA Clean Beads)试剂盒测试数据及结论

6.1 测试试剂信息

6.1.1 货物名称: 纯化磁珠(VAHTS DNA Clean Beads)

6.1.2 品牌型号: 诺唯赞N411(包含N411-02和N411-03)

6.1.3 制造商: 南京诺唯赞生物科技股份有限公司

表12 纯化磁珠试剂盒测试试剂信息

序号	物料编码	物料名称	单位	入库数量	测试数量	批次	有效期	存储温度	备注
1		诺唯赞N411	盒	10	2	7G681K2	2024-06-04	2°C~8°C	

6.2 测试结论

6.2.1 验证期间, 根据试剂盒说明书测试该批磁珠试剂盒, 回收片段大小等符合本实验室要求。

6.2.2 QC实验结果如下:

图2 QC质量结果

片段大小 (bp)	纯化体积比(DNA Clean Beads:DNA)						
	0.5×	0.6×	0.8×	1.0×	1.2×	1.5×	2.0×
150	1.9	1.9	8.1	17.1	36.9	68.6	97.4
200	1.4	1.8	9	59.5	89.3	90.4	100
250	1.9	2.8	30.8	95.1	104.6	92.1	90.4
350	2.3	8.1	84.7	99.2	98.4	93.5	113
450	5.3	24.7	95	93.1	100	100	99.2
538	5.3	70.7	91.8	95.5	100	95.7	100.9
594	5.4	73	87.9	86.2	88.4	86.2	92.9
856	52	89.8	86.4	85.6	90.6	86.6	99.2

6.2.3 实验参数结果比对

表13 参数要求

序号	参数要求	是否达到要求
1	可从高通量PCR产物中快速回收300-500bp的DNA片段(根据QC结果,符合要求)	是
2	适合于DNA建库,与各品牌建库试剂均有很好的兼容性(兼容华大, NEB等品牌试剂盒,符合要求)	是
3	可用于高通量测序中多重扩增子文库的纯化(多重扩增子为DNA片段,参考序号1,根据QC结果,符合要求)	是

6.2.4 纯化磁珠试剂盒测试结论:合格

供应商: 郑州泽萌生物科技有限公司

代表人: 刘蒙蒙

日期: 2023.7.10



采购方: “高通量测序耳聋基因检测试剂盒的研发和应用”项目组

代表人: 许红

日期: 2023.7.10

