



中华人民共和国国家标准

GB/T 38165—2019

人体外周血中循环游离 DNA 浓度检测 基于 Alu 序列实时荧光 PCR 法

Detection of circulating cell-free DNA concentration in human peripheral blood—
Real-time PCR method based on Alu sequence

2019-10-18 发布

2019-10-18 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国生化检测标准化技术委员会(SAC/TC 387)提出并归口。

本标准起草单位:成都中医药大学、四川省肿瘤医院、上海市计量测试技术研究院。

本标准主要起草人:何洋、肖洪涛、宋瑛、李燕、闻艳丽、冷平、刘刚、李东梅。

人体外周血中循环游离 DNA 浓度检测

基于 Alu 序列实时荧光 PCR 法

1 范围

本标准规定了人体外周血中循环游离脱氧核糖核酸(DNA)基于 Alu 序列的实时荧光聚合酶链式反应(PCR)定量检测方法。

本标准适用于循环游离 DNA 样品中 Alu 序列的定量检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

循环游离 DNA **circulating cell-free DNA; cfDNA**

血液来源于细胞凋亡和坏死的细胞外游离状态的短片段 DNA。

3.2

实时荧光 PCR **real-time PCR**

在 PCR 反应体系中加入荧光基团,通过荧光信号的积累实时监控整个 PCR 扩增过程,实现对起始模板的定量及定性分析。

3.3

Ct 值 **cycle threshold**

每个反应管内的荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数。

3.4

Alu 序列 **Alu sequence**

散在分布于灵长类动物基因组中的中度重复序列。

注: Alu 序列具有 70%~98% 同源性,占人类基因组序列的 5%~10%,每个元件长度约为 300 bp。

4 原理

以提取的外周血循环游离 DNA 作为检测目标样品,以符合要求的人基因组 DNA 定量标准物质为标准品,采用实时荧光 PCR 技术,设计特异性引物分别扩增 Alu 序列中长度为 115 bp 和 219 bp 的片段,以标准品起始模板 DNA 浓度的对数为横坐标,Ct 值为纵坐标,制作标准曲线。根据标准曲线方程计算样品中的 Alu 序列拷贝数,结果用 copies/ μ L 表示。