

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 230—2002

临床诊断中聚合酶链反应 (PCR)技术的应用

**Guidelines for use of polymerase chain reaction
(PCR) technique in clinical diagnosis**

2002-04-20 发布

2002-07-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 是一种在体外特异性扩增靶 DNA 序列的技术。其基本过程为模板双链 DNA 的变性、引物与模板 DNA 的退火和在 DNA 聚合酶引导下的链延伸反应三个阶段的多次循环。每一次循环后的扩增产物均可作为下一轮循环的模板,理论上,扩增产物量呈指数形式上升,即经 n 个循环后,产物量增加到 2^n 倍。

PCR 操作简单,短时间内在体外可获得数百万个特异靶 DNA 序列的拷贝,为临床疾病的诊断、治疗监测和预后评估提供了一种极有帮助的实验室辅助手段。

本标准的附录 A、附录 B 都是标准的附录。

本标准从 2002 年 7 月 1 日起实施。

本标准由卫生部医政司提出。

本标准由北京大学人民医院肝病研究所负责起草。

本标准主要起草人:陶其敏、全文斌、范涛。

本标准由卫生部委托卫生部临床检验中心负责解释。

中华人民共和国卫生行业标准

临床诊断中聚合酶链反应 (PCR)技术的应用

WS/T 230—2002

Guidelines for use of polymerase chain reaction
(PCR) technique in clinical diagnosis

1 范围

本标准规定了临床诊断中聚合酶链反应(PCR)技术的应用准则。

本标准适用于各级、各类的医疗、卫生、保健机构应用 PCR 技术进行临床诊断。

2 定义

本标准采用下列定义。

2.1 引物 primer

与待扩增靶 DNA 片段两端互补的寡核苷酸,其本质是单链 DNA(ssDNA),在 DNA 聚合酶的作用下能进行延伸,从而合成新的互补链。

2.2 模板 template

待扩增的靶 DNA 或 RNA 链,包括人类基因组 DNA、质粒 DNA、噬菌体 DNA、cDNA 和 mRNA、扩增后的 DNA 产物等几乎所有形式的 DNA 或 RNA。

2.3 变性 denaturation

DNA 或 RNA 由双链转变为单链状态,加热、提高 pH 或加入甲酰胺、脲等试剂都可使双链 DNA 或 RNA 发生变性。

2.4 退火 annealing

引物与互补的核苷酸序列在合适的温度下通过氢键形式相互结合的过程。

2.5 延伸 extension

在合适的条件下,由 DNA 聚合酶(如:Taq 酶)催化引导引物 DNA 链延伸的合成过程。

2.6 污染 contamination

由来源于非待测样品的核酸所引起的一个样品、一系列样品或试剂的非特异性扩增或扩增后在产物分析过程中造成的样品之间的污染,污染通常引起假阳性结果。

2.7 遗留污染 carry-over contamination

同一类靶序列上一次 PCR 扩增产物对以后扩增反应的后续污染。

2.8 内对照 internal control

在同一反应混合物体系中与待测靶核酸同时进行扩增反应的已知对照物。

2.9 Taq DNA 聚合酶 Taq DNA polymerase

一种耐热的 DNA 聚合酶,最初是从美国黄石国家公园温泉中存在的水生栖热菌(*Thermus aquaticus*)中分离获得,Taq 酶最适活性温度在 70℃~80℃,能耐受 PCR 变性过程中的高温,是目前 PCR 扩增反应中经常使用的 DNA 聚合酶。