

附件：核酸酶残留量测定法（核酸荧光底物法）公示稿

核酸酶残留量测定法（核酸荧光底物法）

本法系利用含有荧光基团的核酸底物经核酸酶水解后产生荧光，测定不同时间点荧光物质的发光强度，根据相对荧光强度的变化率，计算供试品中的核酸酶残留量。

试剂 按经验证的核酸酶残留量检测试剂盒说明书配制试剂。

标准品溶液 取核酸酶标准品，用无核酸酶水或试剂盒自带的稀释液稀释至每 1ml 含 0.1~10U 的标准品溶液，不少于 5 个稀释度。

供试品溶液 取供试品，必要时可将供试品用无核酸酶水或试剂盒自带的稀释液稀释制成每 1ml 中含适宜浓度（0.1~5U）核酸酶的溶液。

空白溶液 以无核酸酶水或试剂盒自带的稀释液为空白溶液。

测定法 按试剂盒使用说明书进行操作，标准品溶液、供试品溶液及空白溶液均做双孔平行测定。选择并固定合适的荧光增益。每分钟读取一次相对荧光强度（RFU），持续记录 20 分钟。

选取标准品溶液与供试品溶液的线性反应阶段，以时间为横坐标，以 RFU 为纵坐标，分别计算标准品溶液和供试品溶液的线性回归方程，其斜率即为标准品溶液和供试品溶液的 RFU 变化率，每 1ml 含 0.1U 的标准品溶液线性回归方程的相关系数应不低于 0.95。

以标准品浓度为横坐标，以相应的 RFU 变化率为纵坐标，计算线性回归方程，其相关系数应不低于 0.98。根据供试品溶液的荧光强度变化率和稀释倍数计算供试品中核酸酶的残留量。

【附注】

（1）直接与标准品和供试品接触的器具应为低蛋白吸附的塑料制品或其他适宜器具，试验中采用的耗材均需无核酸酶。

（2）标准品和供试品与荧光底物混合后应立即进行检测。

（3）空白溶液反应稳定后不应出现明显的荧光强度变化。

30

31 起草单位：广东省药品检验所

32 电 话：020-81848209

广东省药品检验所