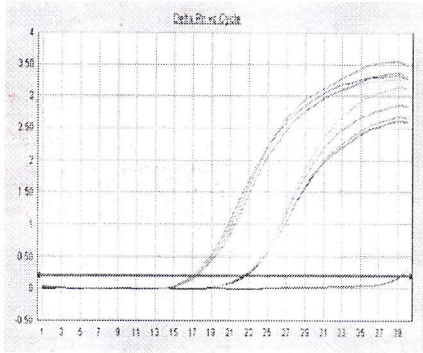



M-MLV 反转录酶质检报告单

请检编号	20200905	请检日期	2020.09.07	请 检 人	李春
生产日期	2020.09.07	抽检比例	1/1000	产品序号	7306025
产品批号	20200905	产品名称	M-MLV 反转录酶 (10000U)		
<p>填写说明：</p> <p>内容须用数字填写；如果无法用数据填写，则打“√”表示产品符合要求，打“×”表示产品不符合要求，如果不符合要求，在备注中注明不符合项的详细内容。</p>					
样品 要求（指标）	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2	
试剂盒外观 与组成	√	√	√	√	
RT-PCR 检测	√	√	√	√	
备注	本批次共生产 20 盒，随机抽取一盒送检。				
检验结果	 <p>质检员：王青青</p>				
审核意见	 <p>审核人：张女梅</p>				

M-MLV 反转录酶检测方法

一、目的

通过 M-MLV 反转录酶对 RNA 进行逆转录,对获得的 cDNA 进行荧光定量 PCR 的测试,判断送检的产品是否符合质量要求。

二、材料、试剂及仪器

- (1) 材料: 送检 M-MLV 反转录酶、对照其他批次的 M-MLV 反转录酶、PCR 管若干(RNase Free)、八联排管、大鼠 RNA、大鼠 β -actin 引物(F: TACAACCTCCTTGCAGCTCC/R: GGATCTTCATGAGGT AGTCAGTC)。
- (2) 仪器: 微量紫外分光光度计、移液器、台式离心机、PCR 仪、荧光定量 PCR 仪 (ABI PRISM® 7000 Sequence Detection System)。

三、逆转录操作步骤

- 1、在微量紫外分光光度计上用 RNase-Free water 调零,取 2 μ l 大鼠 RNA 检测,确定 RNA 浓度。
- 2、按 M-MLV 反转录酶说明书操作,用待检试剂和对照试剂各自平行处理 0.5 μ g 及 2 μ g 大鼠 RNA,获得其 cDNA。

四、RT-PCR 操作步骤

- 1、将 2 \times SYBR Green PCR Mix(simgen)各试剂及引物置于冰上,按 2 \times SYBR Green PCR Mix(simgen)说明书配制大鼠 β -actin 检测荧光定量 PCR 反应体系。依次在荧光定量 PCR 反应体系混合液中加入 5 μ l 稀释后的 cDNA 模板、ddH₂O(阴性对照)、大鼠 cDNA 阳性对照,充分混匀后盖上管盖。然后放置于 ABI PRISM®7000 荧光 PCR 仪中进行荧光定量 PCR,打开软件,设置好参数。实验条件如下:

Stage 1: 预变性(Reps: 1)

95°C 1min

Stage 2: PCR 反应(Reps: 40)

95°C 5s

60°C 33s

Dissociation stage(Reps: 1)

95°C 15s

60°C 20s

95°C 15s

扩增完成后,观察标准曲线并记录各曲线的 CT 值。

五、质量要求与判断方法:

- 1) 试剂盒外观必须无破损、污渍;试剂盒组成必须与说明书对应一致;试剂盒标签内容必须与送检单相符。
 - 2) 用送检试剂盒获得的 cDNA 作为模板的 RT-PCR 扩增曲线正常,阴性对照无扩增。
 - 3) 送检试剂盒与对照试剂盒测得的各项指标的差异必须小于 $\pm 10\%$ 。
- 以上任何一项不符合要求即判断为不合格产品。