

cDNA 第一链合成试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

请检编号	20230516	请检日期	2023.05.24	请检人	李春
生产日期	2023.05.24	抽检比例	1/1000	产品序号	7306100
产品批号	20230516	产品名称	cDNA 第一链合成试剂盒(100次制备)		
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 51 盒，随机抽取一盒送检。				
检验结果	<div style="text-align: center;"> <p>Amplification Plot</p> <p>Y-axis: Fluorescence Intensity (0.1 to 2.0)</p> <p>X-axis: Cycle (2 to 30)</p> <p>Legend: A B C D E F G H</p> </div>				
审核意见	<p style="text-align: right;">合格 质检员：蔡思奇</p> <div style="text-align: center;"> <p>审核人：蔡明雍</p> </div>				

cDNA 第一链合成试剂盒检测方法

一、目的

通过 cDNA 第一链合成试剂盒对 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 cDNA 第一链合成试剂盒、对照其他批次的试剂盒、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 cDNA 第一链合成试剂盒说明书操作,用待检试剂盒和对照试剂盒各自平行处理 50 ng 和 2 μ g 大鼠 RNA,获得其 cDNA。

四、RT-PCR 操作步骤

将 2 \times SYBR Green PCR Mix (simgen) 各试剂及引物置于冰上,按说明书配制大鼠 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 cDNA 模板、ddH₂O (阴性对照),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。