

### cDNA 第一链合成试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

|  |   |      |                      |  |         |
|--|---|------|----------------------|--|---------|
| 请检编号   | 20230732  | 请检日期 | 2023.07.25           | 请检人  | 李春      |
| 生产日期   | 2023.07.25  | 抽检比例 | 1/1000               | 产品序号   | 7306025 |
| 产品批号   | 20230732  | 产品名称 | cDNA 第一链合成试剂盒(25次制备) |  |         |
| <p>填写说明：<br/>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<br>要求(指标)   | 检验 1  | 检验 2 | 对照 1                 | 对照 2   |         |
| 试剂盒外观<br>与组成   | √   | √    | √                    | √  |         |
| RT-PCR 检测  | √   | √    | √                    | √  |         |
| 备注   | 本批次共生产 69 盒，随机抽取一盒送检。                                   |      |                      |  |         |
| 检验结果   |   |      |                      | <p style="text-align: center;">合格</p> <p>质检员：蔡恩奇</p> |         |
| 审核意见   | <div style="text-align: center;"> <p>审核人：邵晓雅</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  $\beta$ -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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\beta$ -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  $\mu$ l cDNA 模板、ddH<sub>2</sub>O (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。