

超纯总 RNA 提取试剂盒质检报告单

请检编号	20191211	请检日期	2019.12.13	请 检 人	李春
生产日期	2019.12.12	抽检比例	1/1000	产品序号	5003050
产品批号	20191211	产品名称	超纯总 RNA 提取试剂盒(50 次制备)		

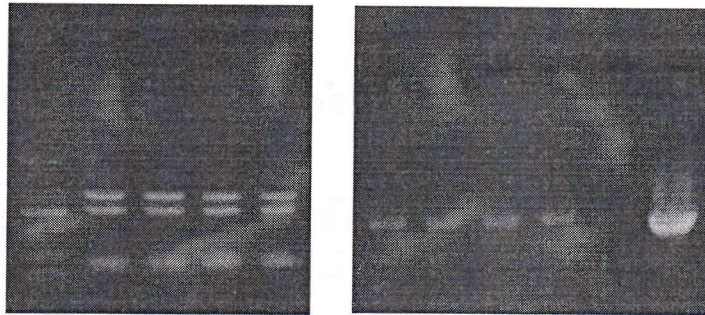
填写说明：

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。

样品 要求 (指标)	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2
RNA OD ₂₆₀	4.746	4.597	4.481	4.594
RNA OD ₂₈₀	2.454	2.385	2.330	2.368
RNA OD ₂₃₀	2.759	2.705	2.755	2.767
OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	1.93	1.93	1.92	1.94
OD ₂₆₀ /OD ₂₃₀	1.72	1.70	1.63	1.66
RNA 浓度 (ng/μl)	189.8280	183.8755	179.2484	183.7509
试剂盒外观与组成	√	√	√	√
电泳检测	√	√	√	√
PCR 检测	√	√	√	√

备注

1. 本批次共生产 41 盒，随机抽取一盒送检。
2. RNA 用 50 μl RNase-Free Water 洗脱。



检验结果

合格

质检员：胡素君

审核意见

审核人：张文彬



超纯总 RNA 提取试剂盒检验方法

一、目的

通过超纯总 RNA 提取试剂盒对检测样本的分离纯化，以及对获得的 RNA 的各项指标的测试，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：送检超纯总 RNA 提取试剂盒、对照其他批次的试剂盒、1.5 ml 离心管若干(RNase Free)，新鲜培养的细菌。
2. 16s r 通用引物 (27F:AGAGTTTGATCMTGGCTCAG/1492R:GGYTACCTTGTTACGACTT)
3. 仪器：超微量分光光度计、电泳仪、电泳槽、移液器、台式离心机、恒温箱。

三、RNA 纯化操作步骤

挑取枯草杆菌单菌落至 50 ml LB 培养基中 37℃ 过夜培养，按每管 2 ml 菌液收集到 1.5 ml 离心管 (RNase Free) 中，共 3 管。每管加 100 μ l RNase-Free Water 悬浮沉淀，并加入 100 μ l RNase-Free Water 溶解的溶菌酶 (100 mg/ml)，混合均匀，37℃ 温育 15 min。用移液器将三管液体吹打混合均匀并合成一管，按每管 100 μ l 的量分出 4 管。按照说明书中的操作步骤，用送检试剂盒和对照试剂盒同步平行各自抽提 2 管细菌中的 RNA。最终 RNA 用 50 μ l RNase-Free Water 洗脱。

四、纯化的 RNA 的纯度检测步骤

在超微量分光光度计上用 RNase-Free Water 调零，取 2 μ l 洗脱的 RNA 检测，记录各个波长的吸光度。

五、RT-PCR 检测步骤

1. 每管各取 4 μ l 纯化的 RNA 按 Simgen cDNA 第一链合成试剂盒说明书操作获得 cDNA。
2. 将 2 \times PCR Mix(simgen)各试剂及引物置于冰上，按 2 \times PCR Mix 说明书配制细菌 16sr PCR 反应体系。
3. 在配好 PCR 体系中依次加入 2 μ l cDNA 模板、ddH₂O (阴性对照)、枯草杆菌 DNA (阳性对照)，充分混匀后盖上管盖。然后放置于 PCR 仪上进行扩增，实验条件：
94℃，5min→30 \times (94℃，45s；55℃，45s；72℃，1min30s)→72℃，10min
4. 扩增完成后，进行凝胶电泳检测。

六、电泳检测操作步骤 (连同 PCR 产物)

在 1% 琼脂糖凝胶上，按下表依次加入细菌总 RNA/PCR 产物，电泳结束后在紫外灯下观察并记录分析结果。

电泳加样顺序：

	DL2000 Marker	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2	阴性 对照	检验 1 (PCR)	检验 2 (PCR)	对照 1 (PCR)	对照 2 (PCR)	阳性 对照
RNA/PCR 产物	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l
6 \times Loading Buffer	--	1 μ l	1 μ l	1 μ l	1 μ l	--	--	--	--	--	--

七、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. 送检试剂盒纯化得到的 RNA OD₂₆₀/OD₂₈₀ 数值必须在 2.0 \pm 0.15 范围内。
3. 送检试剂盒纯化得到的 RNA OD₂₆₀/OD₂₃₀ 数值必须 \geq 1.5。
4. 送检试剂盒纯化得到的 RNA 电泳检测，无肉眼可见的 DNA 污染，主条带清晰。
5. 送检试剂盒纯化得到的 RNA 反转录的 cDNA 的 PCR 产物电泳检测有明显亮带。
6. 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。

注意：以上实验操作均需在 RNA 室操作。