

超纯总 RNA 提取试剂盒质检报告单


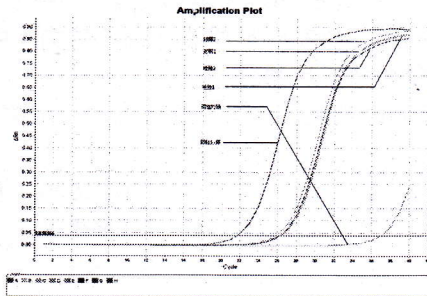
| | | | | | |
|------|------------|------|-----------------------|-------|---------|
| 请检编号 | 20211153 | 请检日期 | 2021.11.30 | 请 检 人 | 李春 |
| 生产日期 | 2021.11.30 | 抽检比例 | 1/1000 | 产品序号 | 5003050 |
| 产品批号 | 20211153 | 产品名称 | 超纯总 RNA 提取试剂盒(50 次制备) | | |


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 | 3.776 | 3.705 | 3.892 | 3.799 |
| RNA OD ₂₈₀ | 1.810 | 1.764 | 1.848 | 1.790 |
| RNA OD ₂₃₀ | 1.860 | 1.834 | 1.993 | 1.951 |
| OD ₂₆₀ /OD ₂₃₀ | 2.03 | 2.02 | 1.95 | 1.95 |
| OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀ | 2.09 | 2.10 | 2.11 | 2.12 |
| RNA 浓度 (ng/μl) | 151.0560 | 148.1828 | 155.6915 | 151.9726 |
| 试剂盒外观与组成 | √ | √ | √ | √ |
| 电泳检测 | √ | √ | √ | √ |
| PCR 检测 | √ | √ | √ | √ |

| | |
|----|--|
| 备注 | 1. 本批次共生产 91 盒，随机抽取一盒送检。 2. RNA 用 100 μl RNase-Free Water 洗脱。 |
|----|--|

| | |
|------|---|
| 检验结果 |   <p style="text-align: right;">合格 质检员：计五洲</p> |
|------|---|

| | |
|------|---|
| 审核意见 |  |
|------|---|

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)，新鲜培养的枯草杆菌、枯草杆菌特异性引物。
2. 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 100 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，用 RNase-Free Water 稀释 2.5 倍。
2. 取一个 0.6 ml 离心管，加入 85.4 μ l ddH₂O、140 μ l 的 2 \times SYBR Green PCR Mix、14 μ l 枯草杆菌引物 (正向、反向引物各 7 μ l) 和 5.6 μ l 50 \times ROX Reference Dye，混合均匀。
3. 按每管 35 μ l 的体积将步骤 2 的混合物分装到八联管中，依次加入 5 μ l DNA 模板、ddH₂O (阴性对照)、阳性对照，盖上管盖。然后放置于 ABI PRISM@7500 荧光 PCR 仪中进行荧光定量 PCR。
4. 扩增条件：Stage 1: 预变性(Reps: 1)95℃ 1min; Stage 2: PCR 反应(Reps: 40) 95℃ 5s, 60℃ 33s; Dissociation stage(Reps: 1) 95℃ 15s, 60℃ 20s, 95℃ 15s。
5. 扩增完成后，观察标准曲线并记录各曲线的 CT 值。

六、电泳检测操作步骤

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

| | DL2000 Marker | 检验 1 | 检验 2 | 对照 1 | 对照 2 |
|---------------------------|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| RNA | 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. 用送检试剂盒纯化得到 RNA 反转录成的 cDNA 作为模板的 RT-PCR 扩增曲线正常。
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：以上实验操作中提取步骤需在 RNA 室操作。