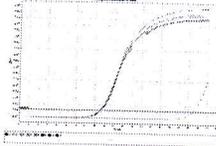


细菌总 RNA 试剂盒质检报告单

请检编号	20220921	请检日期	2022.09.28	请检人	李春
生产日期	2022.09.28	抽检比例	1/1000	产品序号	5005005
产品批号	20220921	产品名称	细菌总 RNA 试剂盒(5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	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2	
要求 (指标)					
DNA OD ₂₆₀	12.439	12.357	12.144	11.444	
DNA OD ₂₈₀	6.190	6.157	6.075	5.684	
DNA OD ₂₃₀	5.580	5.822	5.834	5.503	
OD ₂₆₀ /OD ₂₃₀	2.13	2.12	2.08	2.08	
OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	2.01	2.01	2.00	2.01	
RNA 浓度 (ng/μl)	497.5720	494.2710	485.7556	457.7775	
试剂盒外观与组成	√	√	√	√	
RT-PCR 检测	√	√	√	√	
电泳检测	√	√	√	√	
备注	1. 本批次共生产 4 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： 计亚鹏</p>				
审核意见	<p style="text-align: right;">审核人： 李春</p> 				

细菌总 RNA 试剂盒检验方法

一、目的

通过细菌总 RNA 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：送检细菌总 RNA 试剂盒、对照其他批次的试剂盒、1.5 ml 离心管若干。
- (2) 仪器：微量紫外分光光度计、电泳仪、电泳槽、移液器、台式离心机、水浴锅。

三、RNA 纯化操作步骤

按每管 2 ml 菌液收集 4 管过夜培养的枯草杆菌。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

在微量紫外分光光度计上用 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、PCR 检测操作步骤

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. 取一个 0.6 ml 离心管，加入 140 μ l 的 2 \times SYBR Green PCR Mix，再加入 14 μ l 枯草杆菌引物（正向、反向引物各 7 μ l），5.6 μ l 50 \times ROX Reference Dye，混合均匀。
3. 按每管 22.8 μ l 的体积将步骤 2 的混合物分装到八联管中，依次加入 17.2 μ l cDNA 模板、ddH₂O（阴性对照）、枯草杆菌 cDNA（阳性对照），盖上管盖。然后放置于 ABI PRISM[®]7000 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 $^{\circ}$ C 1min; Stage 2：PCR 反应(Reps: 40) 95 $^{\circ}$ C 5s, 60 $^{\circ}$ C 33s; Dissociation stage(Reps: 1) 95 $^{\circ}$ C 15s, 60 $^{\circ}$ C 20s, 95 $^{\circ}$ C 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 DNA，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：

	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2
RNA/PCR 产物	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 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。