

## 细菌 DNA 试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

请检编号	20220833	请检日期	2022.08.25	请检人	李春
生产日期	2022.08.23	抽检比例	1/1000	产品序号	3302050
产品批号	20220833	产品名称	细菌 DNA 试剂盒		
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	检测 1	检测 2	对照 1	对照 2	
要求 (指标)					
DNA OD <sub>260</sub>	1.420	1.386	1.304	1.398	
DNA OD <sub>280</sub>	0.742	0.722	0.682	0.732	
DNA OD <sub>230</sub>	0.602	0.589	0.489	0.555	
OD <sub>260</sub> /OD <sub>230</sub>	2.36	2.35	2.63	2.52	
OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>	1.91	1.92	1.91	1.91	
RNA 浓度 (ng/μl)	70.9972	69.3122	65.2015	69.9068	
试剂外观与组成	√	√	√	√	
电泳检测	√	√	√	√	
备注	1. 本批次共生产 20 盒，随机抽取一盒送检。 2. 细菌 DNA 用 100 μl Buffer TE 洗脱。				
检验结果	 <p style="text-align: right; margin-right: 50px;">合格</p> <p style="text-align: right; margin-right: 50px;">质检员：计亚彬</p>				
审核意见	<p style="text-align: right;">审核人：郝静程</p> 				

## 细菌 DNA 纯化试剂盒质检方法

### 一、目的

通过细菌 DNA 的分离纯化，以及对获得的 DNA 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 DNA 纯化试剂盒、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、基因组 DNA 纯化操作步骤

按每管 1 ml 的量收集 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 DNA。最终 DNA 用 100  $\mu$ l Buffer TE 洗脱。

### 四、纯化的基因组 DNA 的纯度检测步骤

在微量紫外分光光度计上用 Buffer TE 调零，取 2  $\mu$ l 洗脱的 DNA 检测，记录各个波长的吸光度。

### 五、PCR 检测操作步骤

1. 取一个 0.6 ml 离心管，加入 140  $\mu$ l 的 2 $\times$ PCR Mix，再加入 14  $\mu$ l 16S rDNA 引物（正向、反向引物各 7  $\mu$ l），混合均匀。
2. 按每管 22  $\mu$ l 的体积将步骤 1 的混合物分装到 6 个 PCR 管中，再分别加入 18  $\mu$ l 超纯水（阴性对照）、18  $\mu$ l 检测试剂盒纯化的基因组 DNA（两管）、18  $\mu$ l 对照试剂盒纯化的基因组 DNA（两管）、18  $\mu$ l 细菌 DNA（阳性对照）。
3. 扩增条件：94 $^{\circ}$ C, 5 min, {94 $^{\circ}$ C, 45 sec; 55 $^{\circ}$ C, 45 sec; 72 $^{\circ}$ C, 1 min 30 sec} $\times$ 30 cycles, 72 $^{\circ}$ C, 10 min。
4. 按内容六进行电泳检测。

### 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。

	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2	检验 1 (PCR)	检验 2 (PCR)	对照 1 (PCR)	对照 2 (PCR)	阴性对照	阳性对照
DNA/PCR 产物	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l				
6 $\times$ Loading Buffer	1 $\mu$ l	1 $\mu$ l	1 $\mu$ l	1 $\mu$ 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 DNA OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 数值必须在 1.8 $\pm$ 0.15 范围内。
3. 送检试剂盒纯化得到的 DNA OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> 数值必须 $\geq$ 2.0。
4. 用送检试剂盒纯化得到的 DNA 作为模板的 PCR 产物条带清晰可见，阴性对照无扩增产物。
5. 送检试剂盒纯化得到的 DNA 电泳检测，无肉眼可见的 RNA 污染，主条带清晰。
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。