

## 细菌总 RNA 试剂盒质检报告单

**XJ-QR-016**

请检编号	20230741	请检日期	2023.07.31	请检人	李春
生产日期	2023.07.31	抽检比例	1/1000	产品序号	5005050
产品批号	20230741	产品名称	细菌总 RNA 试剂盒(50次制备)		

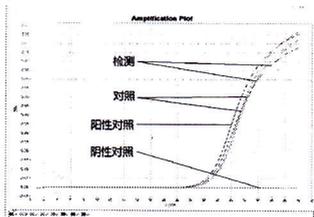
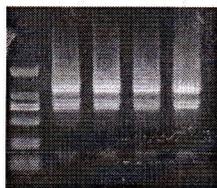
**填写说明：**

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
DNA OD <sub>260</sub>	6.996	7.752	6.624	7.296
DNA OD <sub>280</sub>	3.510	3.892	3.336	3.670
DNA OD <sub>230</sub>	3.342	3.652	3.178	3.476
OD <sub>260</sub> /OD <sub>230</sub>	2.09	2.12	2.08	2.10
OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>	1.99	1.99	1.99	1.99
RNA 浓度 (ng/μl)	279.8511	310.0797	264.9524	291.8568
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 6 盒，随机抽取一盒送检。
2. RNA 用 100 μl RNase-Free water 洗脱。

**检验结果**

 合格  
 质检员：蔡思奇

**审核意见**


## 细菌总 RNA 试剂盒质检方法

### 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 1 ml 菌液收集 6 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 3 管细菌中的 RNA。最终 RNA 用 50  $\mu$ 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  $\mu$ l 洗脱的 RNA 检测，记录各个波长的吸光度。（各抽取 2 管平行数据记录并进行以下操作）

### 五、PCR 检测操作步骤

1. 每管各取 4  $\mu$ 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  $\mu$ l 的 2 $\times$ SYBR Green PCR Mix，再加入 14  $\mu$ l 枯草杆菌引物（正向、反向引物各 7  $\mu$ l），5.6  $\mu$ l 50 $\times$ ROX Reference Dye，加 85.4  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O，混合均匀。
3. 按每管 35  $\mu$ l 的体积将步骤 2 的混合物分装到八联管中，依次加入 5  $\mu$ l 稀释 2.5 倍的 cDNA 模板、ddH<sub>2</sub>O（阴性对照）、枯草杆菌 cDNA（阳性对照），盖上管盖。然后放置于 ABI PRISM<sup>®</sup>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 $^{\circ}$ C 1min; Stage 2：PCR 反应(Reps: 40) 95 $^{\circ}$ C 10s, 60 $^{\circ}$ C 30s; 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 RNA，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	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 RNA OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 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 OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> 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的 RNA 反转录的 cDNA 作为模板的 RT-PCR 扩增曲线正常，阴性对照无扩增。
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。