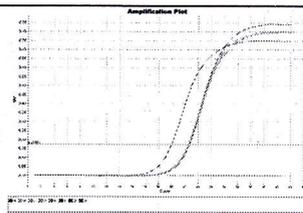


高多糖多酚植物总 RNA 试剂盒质检报告单

请检编号	20211235	请检日期	2021.12.30	请检人	李春
生产日期	2021.12.30	抽检比例	1/1000	产品序号	5103050
产品批号	20211235	产品名称	高多糖多酚植物总 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 ₂₆₀	4.186	4.337	4.232	3.924	
DNA OD ₂₈₀	2.000	2.076	2.046	1.900	
DNA OD ₂₃₀	2.084	2.137	2.116	1.962	
OD ₂₆₀ /OD ₂₃₀	2.01	2.03	2.00	2.00	
OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	2.09	2.09	2.07	2.06	
RNA 浓度 (ng/μl)	167.4257	173.4918	169.2854	156.9400	
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 20 盒，随机抽取一盒送检。 2. RNA 用 50 μl RNase-Free water 洗脱。				
检验结果	  <p style="text-align: right;">合格</p>				
审核意见	质检员：   审核人： 				

高多糖多酚植物总 RNA 试剂盒质检方法

一、目的

通过对高多糖多酚植物总 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：马铃薯块茎、送检高多糖多酚植物总 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：超微量分光光度计、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

用一次性手术刀片将马铃薯块茎切碎，各称量 300 mg 到两个研钵中，各加入 1.8 ml 的已加入巯基乙醇的 Buffer RCT（送检组和对照组），充分研磨至看不到固体组织（或成匀浆状），按 700 μ l/管的量从每个研钵中各自吸取两管到两个 1.5 ml 离心管中。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 RNA。最终 RNA 用 50 μ l RNase-Free water 洗脱。

四、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 85.4 μ l ddH₂O、140 μ l 2 \times SYBR Green PCR Mix、14 μ l 马铃薯 efla 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 cDNA 模板（送检组和对照组）、ddH₂O（阴性对照）、马铃薯 cDNA（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 $^{\circ}$ C 1min; Stage 2：PCR 反应(Reps: 40)95 $^{\circ}$ C 5s, 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：

	DL2000 Ladder	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。