

Trizol 试剂质检报告单

请检编号	20200927	请检日期	2020.09.27	请 检 人	李春
生产日期	2020.09.27	抽检比例	1/1000	产品序号	5301100
产品批号	20200927	产品名称	Trizol 试剂		
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	12.442	10.195	8.217	13.919	
RNA OD ₂₈₀	6.548	5.425	4.393	7.299	
RNA OD ₂₃₀	6.191	5.722	5.085	7.489	
OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	1.90	1.88	1.87	1.91	
OD ₂₆₀ /OD ₂₃₀	2.01	1.78	1.62	1.86	
RNA 浓度 (ng/μl)	497.6831	407.8063	328.6982	556.7405	
试剂外观	√	√	√	√	
电泳检测	√	√	√	√	
PCR 检测	√	√	√	√	
备注	1. 本批次共生产 101 盒，随机抽取一盒送检。 2. RNA 用 100 μl RNase-Free Water 洗脱。				
检验结果	 质检员：王青				
审核意见	审核人：张女彬 				

Trizol 试剂检验方法

一、目的

通过 Trizol 试剂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 Trizol 试剂、对照其他批次的试剂、1.5 ml 离心管若干（RNase Free），新鲜培养的细菌。
2. 16 s r 通用引物（27F:AGAGTTTGATCMTGGCTCAG/1492R:GGYTACCTTGTTACGACTT）
3. 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

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 Trizol 试剂和其他批次的 Trizol 试剂同步平行各自抽提 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。
2. 将 2 $\times$ PCR Mix（simgen）各试剂及引物置于冰上，按 2 $\times$ PCR Mix 说明书配制细菌 16 s r PCR 反应体系。
3. 在配好 PCR 体系中依次加入 2 μ l cDNA 模板、ddH₂O（阴性对照）、枯草杆菌 DNA（阳性对照），充分混匀后盖上管盖。然后放置于 PCR 仪上进行扩增，实验条件：94℃，5min $\rightarrow$ 30 $\times$ （94℃，45s；55℃，45s；72℃，1 min30s） $\rightarrow$ 72℃，10min
4. 扩增完成后，进行凝胶电泳检测。

六、电泳检测操作步骤（连同 PCR 产物）

在 1% 琼脂糖凝胶上，按下表依次加入细菌总 RNA/PCR 产物，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 Marker	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2	阴性对照	检验 1 (PCR)	检验 2 (PCR)	对照 1 (PCR)	对照 2 (PCR)	阳性对照
RNA/PCR 产物	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l	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 $\geq$ 1.0。
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 的 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平均值的差异必须小于 $\pm$ 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。