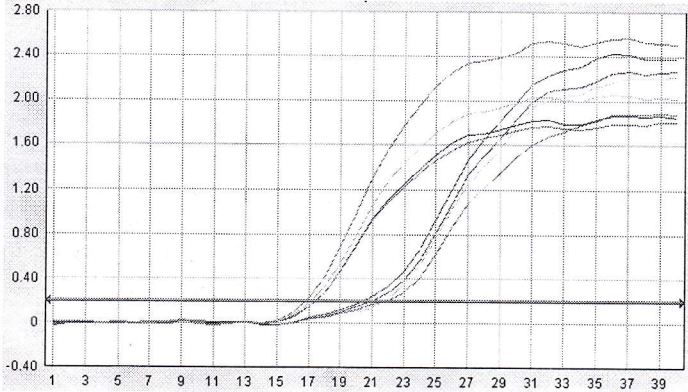


cDNA 第一链合成试剂盒质检报告单

请检编号	20200625	请检日期	20200624	请 检 人	李春																																													
生产日期	20200624	抽检比例	1/1000	产品序号	7306100																																													
产品批号	20200625	产品名称	cDNA 第一链合成试剂盒(100 次制备)																																															
样品																																																		
要求 (指标)	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2																																														
试剂盒外观 与组成	√	√	√	√																																														
RT-PCR 检测	√	√	√	√																																														
备注	本批次共生产 40 盒，随机抽取一盒送检。																																																	
检验结果	 <table border="1"> <thead> <tr> <th>Well</th><th>Sample Name</th><th>Detector</th><th>Task</th><th>Ct</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>D3</td><td>test 50 ng</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>21.76</td></tr> <tr><td>D4</td><td>test 50 ng</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>20.50</td></tr> <tr><td>D5</td><td>test 2 μg</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>16.79</td></tr> <tr><td>D6</td><td>test 2 μg</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>17.15</td></tr> <tr><td>E3</td><td>contrast 50 ng</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>22.05</td></tr> <tr><td>E4</td><td>contrast 50 ng</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>20.98</td></tr> <tr><td>E5</td><td>contrast 2 μg</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>17.44</td></tr> <tr><td>E6</td><td>contrast 2 μg</td><td>SYBR</td><td>Unknown</td><td>17.41</td></tr> </tbody> </table> 质检员：叶永刚					Well	Sample Name	Detector	Task	Ct	D3	test 50 ng	SYBR	Unknown	21.76	D4	test 50 ng	SYBR	Unknown	20.50	D5	test 2 μg	SYBR	Unknown	16.79	D6	test 2 μg	SYBR	Unknown	17.15	E3	contrast 50 ng	SYBR	Unknown	22.05	E4	contrast 50 ng	SYBR	Unknown	20.98	E5	contrast 2 μg	SYBR	Unknown	17.44	E6	contrast 2 μg	SYBR	Unknown	17.41
Well	Sample Name	Detector	Task	Ct																																														
D3	test 50 ng	SYBR	Unknown	21.76																																														
D4	test 50 ng	SYBR	Unknown	20.50																																														
D5	test 2 μg	SYBR	Unknown	16.79																																														
D6	test 2 μg	SYBR	Unknown	17.15																																														
E3	contrast 50 ng	SYBR	Unknown	22.05																																														
E4	contrast 50 ng	SYBR	Unknown	20.98																																														
E5	contrast 2 μg	SYBR	Unknown	17.44																																														
E6	contrast 2 μg	SYBR	Unknown	17.41																																														
审核意见	 审核人：张安群																																																	

cDNA 第一链合成试剂盒检测方法

一、目的

通过 cDNA 第一链合成试剂盒对 RNA 进行逆转录,对获得的 cDNA 进行荧光定量 PCR 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 cDNA 第一链合成试剂盒、对照其他批次的试剂盒、PCR 管若干 (RNase Free)、八联排管、大鼠 RNA、大鼠 β -actin 引物 (F: TACAACCTCCTTGCAGCTCC/R: GGATCTTCATGAGGT AGTCAGTC)。
2. 仪器：微量紫外分光光度计、移液器、台式离心机、PCR 仪、荧光定量 PCR 仪 (ABI PRISM® 7000 Sequence Detection System)。

三、逆转录操作步骤

1. 在微量紫外分光光度计上用 RNase-Free water 调零,取 2 μ l 大鼠 RNA 检测,确定 RNA 浓度。
2. 按 cDNA 第一链合成试剂盒说明书操作,用待检试剂盒和对照试剂盒各自平行处理 50 ng 和 2 μ g 大鼠 RNA,获得其 cDNA。

四、RT-PCR 操作步骤

将 2 $\times$ SYBR Green PCR Mix (simgen) 各试剂及引物置于冰上,按说明书配制大鼠 β -actin 检测荧光定量 PCR 反应体系。依次在荧光定量 PCR 反应体系混合液中加入 5 μ l cDNA 模板、ddH₂O (阴性对照),充分混匀后盖上管盖。然后放置于 ABI PRISM®7000 荧光 PCR 仪中进行荧光定量 PCR,打开软件,设置好参数。实验条件如下:

Stage 1: 预变性(Reps: 1)
95°C 1min
Stage 2: PCR 反应(Reps: 40)
95°C 5s
60°C 33s
Dissociation stage(Reps: 1)
95°C 15s
60°C 20s
95°C 15s

扩增完成后,观察标准曲线并记录各曲线的 CT 值。

五、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. 用送检试剂盒获得的 cDNA 作为模板的 RT-PCR 扩增曲线正常,阴性对照无扩增。
3. 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。