

cDNA 第一链合成试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

| | | | | | |
|-----------|--|------|-----------------------|------|---------|
| 请检编号 | 20231209 | 请检日期 | 2023.12.13 | 请检人 | 黄芳 |
| 生产日期 | 2023.12.12 | 抽检比例 | 1/1000 | 产品序号 | 7306100 |
| 产品批号 | 20231209 | 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 50 盒，随机抽取一盒送检。 | | | | |
| 检验结果 | <div style="text-align: center;"> <p>Amplification Plot</p> <p>阳性和阴性对照</p> <p>检测组</p> <p>对照组</p> </div> <p style="text-align: right; font-size: 24px; font-weight: bold;">合格</p> <p style="text-align: right;">质检员：蔡思奇</p> | | | | |
| 审核意见 | <p>审核人：蔡思奇</p> | | | | |

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: TACAACCTCCTTGAGCTCC/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。