

全血总 RNA 试剂盒质检报告单

请检编号	20200709	请检日期	20200715	请 检 人	李春
生产日期	20200714	抽检比例	1/1000	产品序号	5201050
产品批号	20200709	产品名称	全血总 RNA 试剂盒 (50 次制备)		


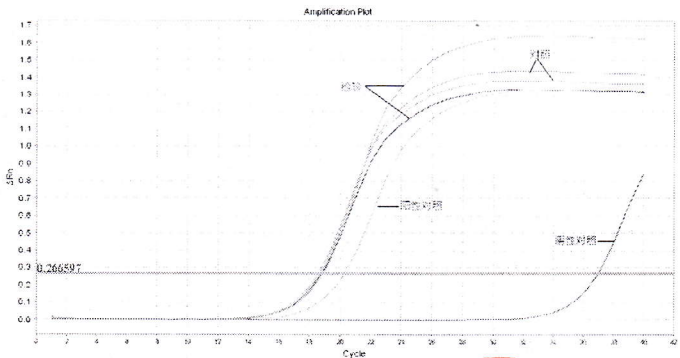
填写说明：
内容须用数字填写；如果无法用数据填写，则打“√”表示产品符合要求，打“×”表示产品不符合要求，如果不符合要求，在备注中注明不符合项的详细内容。

样品 要求 (指标)	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2
RNA OD ₂₆₀	1.789	1.719	2.055	1.815
RNA OD ₂₈₀	0.950	0.898	1.062	0.943
RNA OD ₂₃₀	1.160	1.039	1.224	1.076
OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	1.88	1.91	1.94	1.92
OD ₂₆₀ /OD ₂₃₀	1.54	1.65	1.68	1.69
RNA 浓度 (ng/μl)	71.5496	68.7787	82.1974	72.6169
试剂盒外观 与组成	√	√	√	√
电泳检测	√	√	√	√
RT-PCR 检测	√	√	√	√

备注

- 本批次共生产 100 盒，随机抽取一盒送检。
- RNA 用 50 μl RNase Free Water 洗脱。

检验结果

质检员：张立彬

审核意见

审核人：张立彬

质检专用章

全血总 RNA 试剂盒检验方法

一、目的

通过全血总 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：送检全血总 RNA 试剂盒、对照其他批次的试剂盒、1.5 ml 离心管若干。
2. cDNA 第一链合成试剂盒、2×SYBR Green PCR Mix、Human-β-actin 引物（F：TGACGTGGACATCCGCAAAG/R：CTGGAAGGTGGACAGCGAGG）
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、PCR 仪。

三、全血总 RNA 提取操作步骤

按每管 500 μl 的数量收集 4 管人抗凝全血（同一个血样），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 管全血中的总 RNA。最终总 RNA 用 50 μl RNase Free Water 洗脱。

四、提取的 RNA 纯度检测步骤

在超微量分光光度计上用 RNase-Free Water 调零，取 2 μl 洗脱的全血 RNA 检测，记录各个波长的吸光度。

五、电泳检测操作步骤

在 1%琼脂糖凝胶上，按下表依次加入 Marker/RNA，电泳结束后在紫外灯下观察并记录分析结果。

	DL2000 Marker	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2
Marker/RNA	5 μl	5 μl	5 μl	5 μl	5 μl
6×Loading Buffer	--	1 μl	1 μl	1 μl	1 μl

六、RT-PCR 检测步骤

1. 每管各取 5 μl 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×SYBR Green PCR Mix(simgen)各试剂及引物置于冰上，按 2×SYBR Green PCR Mix(simgen)说明书配制 Human-β-actin 荧光定量 PCR 反应体系混合液。
3. 依次在荧光定量 PCR 反应体系混合液中加入 5 μl cDNA 模板（稀释 2.5 倍）、ddH₂O（阴性对照）、人全血 RNA 反转录后的 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. 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 30s; Dissociation stage(Reps: 1) 95°C 15s, 60°C 20s, 95°C 15s
5. 扩增完成后，观察标准曲线并记录各曲线的 CT 值。

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±0.15 范围内。
3. 送检试剂盒纯化得到的 RNA OD₂₆₀/OD₂₃₀ 数值必须≥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. 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。
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±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。