

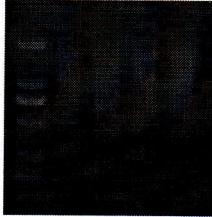
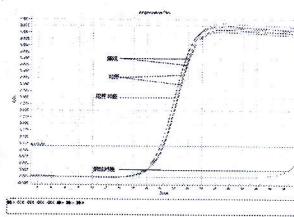
果肉总 RNA 试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

请检编号	20250818	请检日期	2025.08.26	请 检 人	黄芳	
生产日期	2025.08.26	抽检比例	1/1000	产品序号	5102050	
产品批号	20250818	产品名称	果肉总 RNA 试剂盒			

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	1.307	1.286	1.227	1.276
DNA OD ₂₈₀	0.681	0.665	0.626	0.660
DNA OD ₂₃₀	0.871	0.827	0.746	0.799
OD ₂₆₀ /OD ₂₃₀	1.50	1.55	1.64	1.60
OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	1.92	1.93	1.96	1.93
RNA 浓度 (ng/μl)	52.2956	51.4230	49.0665	51.0425
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 3 盒，随机抽取一盒送检。 2. RNA 用 50 μl RNase-Free water 洗脱。			
检验结果	 	今检 质检员：(许亚鹏)		
审核意见	 质检专用章			

果肉总 RNA 试剂盒质检方法

一、 目的

通过对果肉总 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：番茄、送检果肉总 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：微量紫外分光光度计、电泳仪、电泳槽、移液器、台式离心机、漩涡震荡器、水浴锅。

三、 基因组 DNA 纯化操作步骤

用一次性手术刀片将番茄切碎，各称量 15 g 到两个研钵中，各加入 1.5 ml 的已加入巯基乙醇的 Buffer RLP（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、 纯化的基因组 DNA 的纯度检测步骤

在微量紫外分光光度计上用 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、 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×SYBR Green PCR Mix、14 μ l 番茄引物（正向、反向引物各 7 μ l）和 5.6 μ l 50×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）、番茄 cDNA（阳性对照），盖上管盖。然后放置于 ABI PRISM®7000 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°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。

六、 电泳检测操作步骤

在 1% 琼脂糖凝胶上，按下表依次加入 DNA，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/PCR 产物	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l
6×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±0.15 范围内。
3. 送检试剂盒纯化得到的 RNA OD₂₆₀/OD₂₃₀ 数值必须≥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. 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±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。