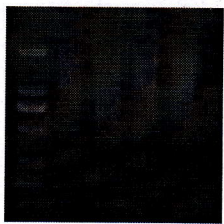
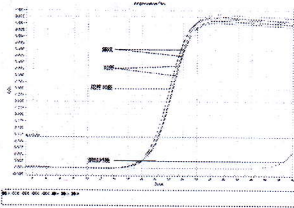


## 果肉总 RNA 试剂盒质检报告单

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 <sub>260</sub>	1.307	1.286	1.227	1.276	
DNA OD <sub>280</sub>	0.681	0.665	0.626	0.660	
DNA OD <sub>230</sub>	0.871	0.827	0.746	0.799	
OD <sub>260</sub> /OD <sub>230</sub>	1.50	1.55	1.64	1.60	
OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>	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	  <p>合格</p> <p>质检员：何晨</p>				
审核意见	<p>审核人：计亚鹏</p> <p>质检专用章</p>				

## 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、漩涡振荡器、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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O、140  $\mu$ l 2 $\times$ SYBR Green PCR Mix、14  $\mu$ l 番茄引物（正向、反向引物各 7  $\mu$ l）和 5.6  $\mu$ l 50 $\times$ ROX Reference Dye，混合均匀。
3. 按每管 35  $\mu$ l 的体积将步骤 2 的混合物分装到八联管中，依次加入 5  $\mu$ l cDNA 模板（送检组和对照组）、ddH<sub>2</sub>O（阴性对照）、番茄 cDNA（阳性对照），盖上管盖。然后放置于 ABI PRISM $\text{®}$ 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 $^{\circ}$ C 1min; Stage 2: PCR 反应(Reps: 40) 95 $^{\circ}$ C 5s, 60 $^{\circ}$ C 30s; Dissociation stage(Reps: 1) 95 $^{\circ}$ C 15s, 60 $^{\circ}$ C 20s, 95 $^{\circ}$ 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 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l
6 $\times$ Loading Buffer	--	1 $\mu$ l	1 $\mu$ l	1 $\mu$ l	1 $\mu$ 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 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 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 OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> 数值必须 $\geq$ 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 $\pm$ 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。