

## 超纯总 RNA 提取试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

请检编号	20251140	请检日期	2025.11.19	请检人	黄芳
生产日期	2025.11.19	抽检比例	1/1000	产品序号	5003050
产品批号	20251140	产品名称	超纯总 RNA 提取试剂盒(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 <sub>260</sub>	15.254	15.985	14.710	14.554
RNA OD <sub>280</sub>	7.566	7.421	7.262	7.186
RNA OD <sub>230</sub>	7.124	7.058	6.857	6.774
OD <sub>260</sub> /OD <sub>230</sub>	2.14	2.12	2.15	2.15
OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>	2.02	2.02	2.03	2.03
RNA 浓度 (ng/μl)	610.1626	599.3989	588.3904	582.1782
试剂盒外观与组成	√	√	√	√
电泳检测	√	√	√	√
PCR 检测	√	√	√	√
备注	1. 本批次共生产 200 盒，随机抽取一盒送检。 2. RNA 用 100 μl RNase-Free Water 洗脱。 3. 有效期至 2028/11/19。			
检验结果	 今检			
审核意见	 审核人: 计亚鹏			

## 超纯总 RNA 提取试剂盒检验方法

### 一、 目的

通过超纯总 RNA 提取试剂盒对检测样本的分离纯化，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

- 材料：送检超纯总 RNA 提取试剂盒、对照其他批次的试剂盒、1.5 ml 离心管若干 (RNase Free)，新鲜培养的枯草杆菌、枯草杆菌特异性引物。
- 仪器：超微量分光光度计、电泳仪、电泳槽、移液器、台式离心机、恒温箱。

### 三、 RNA 纯化操作步骤

挑取枯草杆菌单菌落至 50 ml LB 培养基中 37°C 过夜培养，按每管 2 ml 菌液收集到 1.5 ml 离心管 (RNase Free) 中，共 3 管。每管加 100 μl RNase-Free Water 悬浮沉淀，并加入 100 μl RNase-Free Water 溶解的溶菌酶 (100 mg/ml)，混合均匀，37°C 温育 15 min。用移液器将三管液体吹打混合均匀并合成一管，按每管 100 μl 的量分出 4 管。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 管细菌中的 RNA。最终 RNA 用 100 μl RNase-Free Water 洗脱。

### 四、 纯化的 RNA 的纯度检测步骤

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

### 五、 RT-PCR 检测步骤

- 每管各取 4 μl 纯化的 RNA 按 Simgen cDNA 第一链合成试剂盒说明书操作获得 cDNA，用 RNase-Free Water 稀释 2.5 倍。
- 取一个 0.6 ml 离心管，加入 85.4 μl ddH<sub>2</sub>O、140 μl 的 2×SYBR Green PCR Mix、14 μl 枯草杆菌引物 (正向、反向引物各 7 μl) 和 5.6 μl 50×ROX Reference Dye，混合均匀。
- 按每管 35 μl 的体积将步骤 2 的混合物分装到八联管中，依次加入 5 μl DNA 模板、ddH<sub>2</sub>O (阴性对照)、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。
- 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 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。

### 六、 电泳检测操作步骤

在 1% 琼脂糖凝胶上，按下表依次加入细菌总 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
RNA	5 μl	5 μl	5 μl	5 μl	5 μl
6×Loading Buffer	--	1 μl	1 μl	1 μl	1 μl

### 七、 质量要求与判断方法：

- 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。
- 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±0.15 范围内。
- 送检试剂盒纯化得到的 RNA OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> 数值必须 ≥1.5。
- 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。
- 用送检试剂盒纯化得到 RNA 反转录成的 cDNA 作为模板的 RT-PCR 扩增曲线正常。
- 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：以上实验操作中提取步骤需在 RNA 室操作。