

## 快速培养细胞 RNA 提取试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

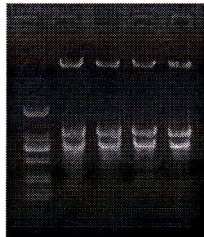
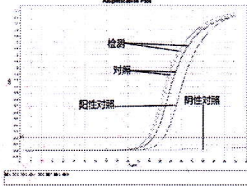
请检编号	20240322	请检日期	2024.03.21	请检人	黄芳
生产日期	2024.03.20	抽检比例	1/1000	产品序号	5024050
产品批号	20240322	产品名称	快速培养细胞 RNA 提取试剂盒		


**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
RNA OD <sub>260</sub>	13.640	13.691	13.299	13.730
RNA OD <sub>280</sub>	6.723	6.758	6.568	6.779
RNA OD <sub>230</sub>	6.208	6.174	5.986	6.110
OD <sub>260</sub> /OD <sub>230</sub>	2.20	2.22	2.22	2.25
OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>	2.03	2.02	2.02	2.03
RNA 浓度 (ng/μl)	545.5946	547.6513	531.9721	549.2073
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 25 盒，随机抽取一盒送检 2. 终 RNA 用 100 μl RNase-Free Water 洗脱
----	--

检验结果			合格  质检员：倪晨杰
------	---	---	-------------------

审核意见	
------	--

## 快速培养细胞 RNA 提取试剂盒质检方法

### 一、目的

通过模拟培养细胞 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：送检快速培养细胞 RNA 提取试剂盒、对照其他批次的试剂盒、1.5ml 离心管若干 (RNase Free)，新鲜培养的细菌 5ml。
- (2) 枯草杆菌引物。
- (3) 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、水浴锅、荧光定量 PCR 仪。

### 三、RNA 纯化操作步骤

挑取枯草杆菌单菌落至 5 ml LB 培养基，37°C 过夜培养，按每管 1 ml 菌液分装至 1.5 ml 离心管 (RNase Free)，共 4 管。每管加 100  $\mu$ l RNase-Free Water 悬浮沉淀，并加入 100  $\mu$ l RNase-Free Water 溶解的溶菌酶 (100 mg/ml) 37°C 温育 15min，2000rpm 离心 3min，弃上清后悬浮沉淀。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  $\mu$ l RNase-Free Water 洗脱。

### 四、纯化的 RNA 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、RT-PCR 检测步骤

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. 将 2 $\times$ SYBR Green PCR Mix (simgen) 各试剂及引物置于冰上，按 2 $\times$ SYBR Green PCR Mix (simgen) 说明书配制枯草杆菌荧光定量 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  $\mu$ l cDNA 模板、ddH<sub>2</sub>O (阴性对照)、枯草杆菌 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 10s, 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，按下表依次加入细菌 RNA，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	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，主条带清晰。
- 5) 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。
- 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。