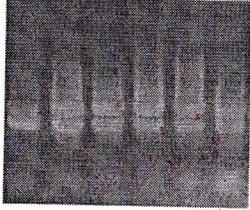
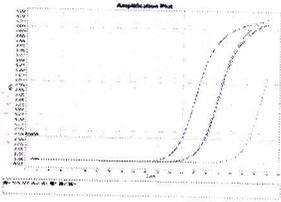


## RNA 纯化试剂盒质检报告单

请检编号	20220419	请检日期	2022.04.19	请检人	李春
生产日期	2022.04.19	抽检比例	1/1000	产品序号	5401050
产品批号	20220419	产品名称	RNA 纯化试剂盒 (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>	4.362	4.643	4.614	4.047	
RNA OD <sub>280</sub>	2.167	2.296	2.287	1.999	
RNA OD <sub>230</sub>	2.187	2.249	2.263	1.962	
OD <sub>260</sub> /OD <sub>230</sub>	1.99	2.06	2.04	2.06	
OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>	2.01	2.02	2.02	2.02	
RNA 浓度 (ng/μl)	174.4623	185.7269	184.5769	161.8774	
试剂盒外观 与组成	√	√	√	√	
电泳检测	√	√	√	√	
RT-PCR 检测	√	√	√	√	
备注	1. 本批次共生产 6 盒，随机抽取一盒送检。 2. RNA 用 50 μl RNase-Free Water 洗脱。				
检验结果					
审核意见	合格 质检员：计玉鹏  审核人：陈明祥				

## RNA 纯化试剂盒检验方法

### 一、目的

通过对 RNA 的清洁，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 RNA 纯化试剂盒、对照其他批次的试剂盒、1.5ml 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。

### 三、RNA 纯化操作步骤

按每管 50  $\mu$ l 的体积分出 4 管枯草杆菌 RNA 样本，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 RNA 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，用 RNase-Free Water 稀释 2.5 倍。
2. 取一个 0.6 ml 离心管，加入 85.4  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O、140  $\mu$ l 的 2 $\times$ SYBR Green PCR Mix、14  $\mu$ l 枯草杆菌引物（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 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 $\text{®}$ 7500 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 33s; 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，按下表依次加入纯化后的 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：

	起始 RNA (50%)	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2	起始 RNA (100%)
RNA	4 $\mu$ l	8 $\mu$ l	8 $\mu$ l	8 $\mu$ l	8 $\mu$ l	8 $\mu$ l
6 $\times$ Loading Buffer	2 $\mu$ l	2 $\mu$ l	2 $\mu$ l	2 $\mu$ l	2 $\mu$ l	2 $\mu$ 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. 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。
5. 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。