

### RNA 纯化试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

请检编号	20240811	请检日期	2024.08.06	请检人	黄芳
生产日期	2024.08.06	抽检比例	1/1000	产品序号	5401050
产品批号	20240811	产品名称	RNA 纯化试剂盒		
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	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2	
要求 (指标)					
DNA OD <sub>260</sub>	5.901	5.829	5.333	5.808	
DNA OD <sub>280</sub>	2.985	2.991	2.704	2.960	
DNA OD <sub>230</sub>	3.188	3.274	2.944	3.256	
OD <sub>260</sub> /OD <sub>230</sub>	1.85	1.78	1.81	1.78	
OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>	1.98	1.95	1.97	1.96	
DNA 浓度 (ng/μl)	236.0213	233.1535	213.3373	232.3285	
试剂盒外观与组成	√	√	√	√	
PCR 检测	√	√	√	√	
电泳检测	√	√	√	√	
备注	1. 本批次共生产 6 盒，随机抽取一盒送检。 2. 最终 RNA 用 50 μl RNase-free Water 洗脱				
检验结果					
审核意见	合格 质检员：倪晨玉 审核人 计亚鹏				

## 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 1.5 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。

### 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 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  $\mu$ 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<sup>®</sup>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，按下表依次加入细菌总 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：

3. 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。
4. 送检试剂纯化得到的 RNA OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 数值必须在 2.0 $\pm$ 0.15 范围内。
5. 送检试剂纯化得到的 RNA OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> 数值必须 $\geq$ 1.5。
6. 送检试剂纯化得到的 RNA 电泳检测，无肉眼可见的 DNA 污染，主条带清晰。
7. 用送检试剂纯化得到 RNA 反转录成的 cDNA 作为模板的 RT-PCR 扩增曲线正常。
8. 送检试剂与对照试剂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。