

RNA 纯化试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

| | | | | | |
|------|------------|------|------------|------|---------|
| 请检编号 | 20240608 | 请检日期 | 2024.06.06 | 请检人 | 黄芳 |
| 生产日期 | 2024.06.06 | 抽检比例 | 1/1000 | 产品序号 | 5401050 |
| 产品批号 | 20240608 | 产品名称 | RNA 纯化试剂盒 | | |

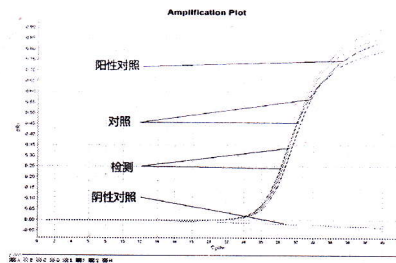
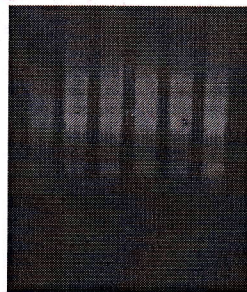
填写说明：

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 要求 (指标) | 检验 1 | 检验 2 | 对照 1 | 对照 2 |
|--------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| RNA OD ₂₆₀ | 2.909 | 2.761 | 2.891 | 2.807 |
| RNA OD ₂₈₀ | 1.446 | 1.374 | 1.444 | 1.397 |
| RNA OD ₂₃₀ | 1.527 | 1.530 | 1.505 | 1.435 |
| OD ₂₆₀ /OD ₂₃₀ | 1.90 | 1.81 | 1.92 | 1.96 |
| OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀ | 2.01 | 2.01 | 2.00 | 2.01 |
| RNA 浓度 (ng/μl) | 116.3727 | 110.4411 | 115.6296 | 112.2656 |
| 试剂外观 | √ | √ | √ | √ |
| 电泳检测 | √ | √ | √ | √ |
| PCR 检测 | √ | √ | √ | √ |

备注

1. 本批次共生产 4 盒，随机抽取一盒送检。
2. RNA 用 50 μl RNase-Free Water 洗脱。

检验结果


合格

质检员：蔡思奇

审核意见


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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ l ddH₂O、140 μ l 的 2 \times SYBR Green PCR Mix、14 μ l 枯草杆菌引物（正向、反向引物各 7 μ l）和 5.6 μ l 50 \times ROX Reference Dye，混合均匀。
3. 按每管 35 μ l 的体积将步骤 2 的混合物分装到八联管中，依次加入 5 μ l DNA 模板、ddH₂O（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。
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 μ l | 8 μ l | 8 μ l | 8 μ l | 8 μ l | 8 μ l |
| 6 \times Loading Buffer | 2 μ l | 2 μ l | 2 μ l | 2 μ l | 2 μ l | 2 μ 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 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 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 OD₂₆₀/OD₂₃₀ 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。