

### 微量细胞总 RNA 试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

请检编号	20250212	请检日期	2025.02.19	请检人	黄芳
生产日期	2025.02.19	抽检比例	1/1000	产品序号	50040550
产品批号	20250212	产品名称	微量细胞总 RNA 试剂盒 (50 次)		
<p>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。</p>					
样品 要求 (指标)	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2	
试剂盒外观 与组成	√	√	√	√	
RT-PCR 检测	√	√	√	√	
备注	本批次共生产 50 盒，随机抽取一盒送检。				
检验结果			<p>合格</p> <p>质检员：倪晨杰</p>		
审核意见	<p>审核人：计亚鹏</p>				

## 微量细胞总 RNA 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：送检微量细胞总 RNA 试剂盒、对照其他批次的试剂盒、1.5ml 离心管若干 (RNase-free)，新鲜培养的枯草杆菌。
2. cDNA 第一链合成试剂盒、2×SYBR Green PCR Mix、枯草杆菌引物。
3. 仪器：移液器、台式离心机、荧光 PCR 仪。

### 三、RNA 纯化操作步骤

挑取枯草杆菌单菌落至 50 ml LB 培养基，37℃ 过夜培养，按每管 200 μl 菌液分装至 1.5 ml 离心管 (RNase Free)，共 4 管。每管加 180 μl RNase-free Water 悬浮沉淀，并加入 20 μl RNase-free Water 溶解的溶菌酶 (16 mg/ml)，37℃ 温育 15 min，用移液器将 4 管液体吹打混合均匀并合成一管，按每管 100 μl 的量分出 6 管。2000 rpm 离心 2 min，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 3 管细菌中的 RNA。最终 RNA 用 50 μl RNase-free Water 洗脱。

### 四、RT-PCR 检测步骤

1. 每管各取 5 μl 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×SYBR Green PCR Mix (Simgen) 各试剂及引物置于冰上，按 2×SYBR Green PCR Mix 说明书配制荧光定量 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 μl cDNA 模板、ddH<sub>2</sub>O (阴性对照)、枯草 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℃ 1min; Stage 2: PCR 反应(Reps: 40) 95℃ 10s, 60℃ 30s; Dissociation stage(Reps: 1) 95℃ 15s, 60℃ 20s, 95℃ 15s。
5. 扩增完成后，观察标准曲线并记录各曲线的 CT 值。

### 五、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. 用送检试剂盒纯化得到的 RNA 反转录成的 cDNA 作为模板的 RT-PCR 扩增曲线正常。
3. 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：以上实验操作均需在 RNA 室和 PCR 室操作。