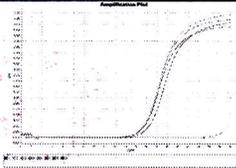


### Buffer EX 质检报告单

请检编号	20220602	请检日期	2022.06.03	请检人	李春
生产日期	2022.06.02	抽检比例	1/1000	产品序号	9025100
产品批号	20220602	产品名称	Buffer EX		
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)					
RNA OD <sub>260</sub>	1.618	1.543	1.542	1.550	
RNA OD <sub>280</sub>	0.824	0.791	0.777	0.785	
RNA OD <sub>230</sub>	0.855	0.865	0.828	0.838	
OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>	1.89	1.78	1.86	1.85	
OD <sub>260</sub> /OD <sub>230</sub>	1.96	1.95	1.98	1.97	
RNA 浓度 (ng/μl)	64.7047	61.7005	61.6758	62.0040	
试剂盒外观 与组成	√	√	√	√	
PCR 检测	√	√	√	√	
电泳检测	√	√	√	√	
备注	1. 本批次共生产 9 盒，随机抽取一盒送检 2. 终 RNA 用 100 μl RNase-Free Water 洗脱				
检验结果	  <p style="text-align: right; font-size: 2em; font-weight: bold;">合格</p> <p>质检员：李亚鹏</p>				
审核意见	<p style="text-align: center;">                       质检专用章                      审核人：李春                 </p>				

## Buffer EX 检验方法

### 一、目的

通过枯草杆菌总 RNA 提取对检测样本的分离纯化，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：送检超 Buffer EX、对照其他批次的 Buffer EX、超纯总 RNA 试剂盒、cDNA 第一链合成试剂盒、1.5 ml 离心管若干 (RNase Free)，新鲜培养的枯草杆菌、枯草杆菌特异性引物。
2. 仪器：超微量分光光度计、电泳仪、电泳槽、移液器、台式离心机、恒温箱。

### 三、RNA 纯化操作步骤

挑取枯草杆菌单菌落至 50 ml LB 培养基中 37℃ 过夜培养，按每管 2 ml 菌液收集到 1.5 ml 离心管 (RNase Free) 中，共 3 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)，混合均匀，37℃ 温育 15 min。用移液器将三管液体吹打混合均匀并合成一管，按每管 100  $\mu$ l 的量分出 4 管。按照超纯说明书中的操作步骤，用送检产品和对照产品同步平行各自抽提 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 cDNA 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℃ 1min; Stage 2: PCR 反应(Reps: 40)95℃ 5s, 60℃ 33s; 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。

### 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。

	DL2000 Marker	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. 产品外观必须无破损、污渍；产品组成必须与说明书对应一致；产品标签内容必须与送检单相符。
2. 送检 Buffer EX 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 Buffer EX 纯化得到的 RNA OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> 数值必须 $\geq$ 1.5。
4. 送检 Buffer EX 纯化得到的 RNA 电泳检测，无肉眼可见的 DNA 污染，主条带清晰。
5. 用送检 Buffer EX 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 Buffer EX 与对照 Buffer EX 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：以上实验操作中提取步骤需在 RNA 室操作。