


Trizol 试剂质检报告单

请检编号	20220924	请检日期	2022.09.29	请检人	李春
生产日期	2022.09.29	抽检比例	1/1000	产品序号	5301005
产品批号	20220924	产品名称	Trizol 试剂		
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	3.320	3.888	3.211	3.994	
RNA OD ₂₈₀	1.771	2.084	1.716	2.142	
RNA OD ₂₃₀	2.130	2.190	2.057	2.322	
OD ₂₆₀ /OD ₂₃₀	1.55	1.78	1.56	1.72	
OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀	1.87	1.87	1.87	1.86	
RNA 浓度 (ng/μl)	132.7971	155.5331	128.4572	159.7441	
试剂外观	√	√	√	√	
电泳检测	√	√	√	√	
PCR 检测	√	√	√	√	
备注	1. 本批次共生产 50 盒，随机抽取一盒送检。 2. RNA 用 100 μl RNase-Free Water 洗脱。				
检验结果			 <p style="text-align: center; font-size: 24px; font-weight: bold;">合格</p> <p style="text-align: right;">质检员：计亚鹏</p>		
审核意见					

Trizol 试剂检验方法

一、目的

通过 Trizol 试剂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 Trizol 试剂、对照其他批次的试剂、1.5 ml 离心管若干 (RNase Free)，新鲜培养的细菌。
2. 16 s r 通用引物 (27F:AGAGTTTGATCMTGGCTCAG/1492R:GGYTACCTTGTTACGACTT)
3. 仪器：超微量分光光度计、电泳仪、电泳槽、移液器、台式离心机、水浴锅。

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 μ l RNase-Free Water 悬浮沉淀，并加入 100 μ 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 μ l 的量分出 4 管。按照说明书中的操作步骤，用送检 Trizol 试剂和其他批次的 Trizol 试剂同步平行各自抽提 2 管细菌中的 RNA。最终 RNA 用 100 μ 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 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。
1. 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。
2. 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。
3. 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。
4. 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：

	DL2000 Marker	检验 1	检验 2	对照 1	对照 2
RNA/PCR 产物	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l	5 μ l
6 \times Loading Buffer	--	1 μ l	1 μ l	1 μ l	1 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. 送检试剂盒纯化得到的 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。
6. 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。

注意：以上实验操作均需在 RNA 室操作。