

cDNA 第一链合成试剂盒质检报告单

XJ-QR-016

请检编号	20240538	请检日期	2024.05.28	请检人	黄芳
生产日期	2024.05.28	抽检比例	1/1000	产品序号	7306100
产品批号	20240538	产品名称	cDNA 第一链合成试剂盒(100次制备)		
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					合格
审核意见	质检员：倪晨杰 审核人：质检 针亚鹏				

cDNA 第一链合成试剂盒检测方法

一、 目的

通过 cDNA 第一链合成试剂盒对 RNA 进行逆转录,对获得的 cDNA 进行荧光定量 PCR 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 cDNA 第一链合成试剂盒、对照其他批次的试剂盒、PCR 管若干 (RNase Free)、八联排管、大鼠 RNA、大鼠 β -actin 引物 (F: TACAACCTCCTTGCAGCTCC/R: GGATCTTCATGAGGT AGTCAGTC)。
2. 仪器：微量紫外分光光度计、移液器、台式离心机、PCR 仪、荧光定量 PCR 仪 (ABI PRISM® 7000 Sequence DeteCtion System)。

三、 逆转录操作步骤

1. 在微量紫外分光光度计上用 RNase-Free water 调零,取 2 μ l 大鼠 RNA 检测,确定 RNA 浓度。
2. 按 cDNA 第一链合成试剂盒说明书操作,用待检试剂盒和对照试剂盒各自平行处理 50 ng 和 2 μ g 大鼠 RNA,获得其 cDNA。

四、 RT-PCR 操作步骤

将 2 \times SYBR Green PCR Mix (simgen) 各试剂及引物置于冰上,按说明书配制大鼠 β -actin 检测荧光定量 PCR 反应体系。依次在荧光定量 PCR 反应体系混合液中加入 5 μ l cDNA 模板、ddH₂O (阴性对照),充分混匀后盖上管盖。然后放置于 ABI PRISM®7000 荧光 PCR 仪中进行荧光定量 PCR,打开软件,设置好参数。实验条件如下:

Stage 1: 预变性(Reps: 1)

95°C 1min

Stage 2: PCR 反应(Reps: 40)

95°C 5s

60°C 33s

Dissociation stage(Reps: 1)

95°C 15s

60°C 20s

95°C 15s

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. 用送检试剂盒获得的 cDNA 作为模板的 RT-PCR 扩增曲线正常,阴性对照无扩增。
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 $\pm 10\%$ 。

以上任何一项不符合要求即判断为不合格产品。