

D6310 提取血液 DNA 的性能验证

测试 1: D6310 对加热的要求

实验操作: 4 个新鲜和 4 个长期冻存的血液样品, 用 D6315 和 D6310 进行提取, 核酸提取仪采用 MagMix 32。每一份提取采用 200ul 血液。

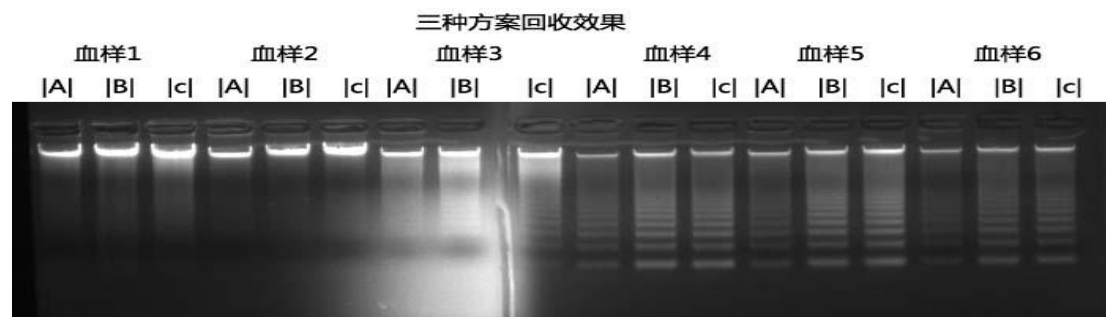
对照试剂盒: 采用 D6315 进行操作, 简单为: 取 200ul 全血加入 20ul PK 和 200ul Buffer AL 混匀后, 70 度温育 10 分钟, 然后上机进行提取。

D6310 测试 1: 采用 D6310 进行操作, 取 200ul 全血和 20ul PK 至样品孔, 把样品孔的温度设为 55 度。

D6310 测试 2: 采用 D6310 进行操作, 取 200ul 全血和 20ul PK 至样品孔, 把样品孔的温度设为关闭。

样品	A260/230	A260/280	Result(ng/ul)	产量	试剂盒	操作条件
200ul 血液 1	1.92	1.82	185.48	18.5	D6315	对照, 按试剂盒
	2.02	1.84	179.24	17.9	D6310	样品孔 65 度加热
	1.89	1.79	237.93	23.8	D6310	样品孔不加热
200ul 血液 2	1.63	1.76	96.57	9.7	D6315	对照, 按试剂盒
	2.04	1.80	78.71	7.9	D6310	样品孔 65 度加热
	2.00	1.82	98.99	9.9	D6310	样品孔不加热
200ul 血液 3	1.87	1.76	72.40	7.2	D6315	对照, 按试剂盒
	2.13	1.80	102.48	10.2	D6310	样品孔 65 度加热
	2.07	1.77	103.64	10.4	D6310	样品孔不加热
200ul 血液 4	1.34	1.81	63.71	6.4	D6315	对照, 按试剂盒
	1.72	1.81	59.82	6.0	D6310	样品孔 65 度加热
	2.02	1.78	77.55	7.8	D6310	样品孔不加热
200ul 血液 5	1.38	1.74	49.50	5.0	D6315	对照, 按试剂盒
	2.01	1.76	80.94	8.1	D6310	样品孔 65 度加热
	2.26	1.76	83.05	8.3	D6310	样品孔不加热
200ul 血液 6	1.26	1.80	75.31	7.5	D6315	对照, 按试剂盒
	1.96	1.77	98.48	9.8	D6310	样品孔 65 度加热
	2.12	1.78	98.63	9.9	D6310	样品孔不加热
200ul 血液 7	1.48	1.77	73.08	7.3	D6315	对照, 按试剂盒
	1.98	1.78	91.42	9.1	D6310	样品孔 65 度加热
	2.05	1.78	111.53	11.2	D6310	样品孔不加热
200ul 血液 8	1.24	1.77	54.75	5.5	D6315	对照, 按试剂盒
	1.71	1.79	59.65	6.0	D6310	样品孔 65 度加热
	1.95	1.77	64.54	6.5	D6310	样品孔不加热

200ul全血样品-A暂停方案-B免暂停加热方案-c免暂停不加热方案



结果显示, D6310 提取血液 DNA, A260/280 在 1.78-1.9, A260/230 在 1.7-2.0, 其 DNA 纯度很高。从 200ul 全血样品中, D6310 对加热和不加热都可以获得理想的 DNA。与 D6315 对比, D6310 可以获得样品中降解的 DNA。

测试 2: D6310 对裂解液的添加量的要求

实验操作: 4 个血液样品, 用 D6310 进行提取, 核酸提取仪采用 MagMix 32。每一份提取采用 200ul 血液。

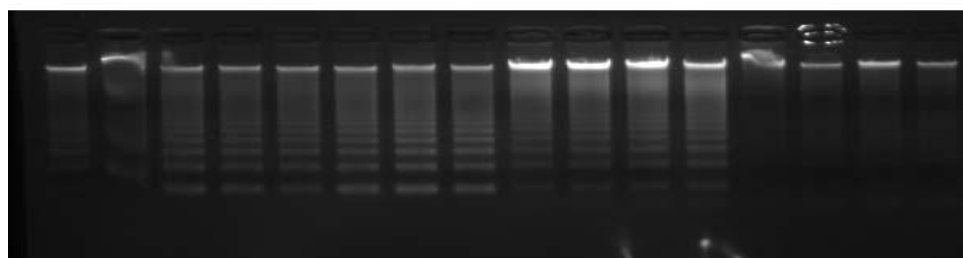
裂解液体积测试: 采用 D6310 进行操作, 取 200ul 全血和 20ul PK 至样品孔, 样品孔中 Buffer MLA 加入量分别为: 200ul, 300ul, 400ul, 500ul。把样品孔的温度设为 55 度。

样品	A260/230	A260/280	Result(ng/ul)	总量 ug	裂解液用量
血液样品 1	1.01	1.80	36.87	7.4	200ul
	1.75	1.75	54.85	11.0	300ul
	2.13	1.79	57.40	11.5	400ul
	2.16	1.78	52.16	10.4	500ul
血液样品 2	1.64	1.75	57.11	11.4	200ul
	1.81	1.77	70.77	14.2	300ul
	2.31	1.79	76.87	15.4	400ul
	1.32	1.81	72.90	14.6	500ul
血液样品 3	1.65	1.85	101.56	20.3	200ul
	1.92	1.83	117.89	23.6	300ul
	2.14	1.88	119.17	23.8	400ul
	2.15	1.96	130.99	26.2	500ul
血液样品 4	1.60	1.84	55.79	11.2	200ul
	1.49	1.70	70.14	14.0	300ul
	1.85	2.18	50.95	10.2	400ul
	1.96	2.02	37.93	7.6	500ul

血液免暂停方案不同比例裂解液探究

200ul 人全血样品加入不同量的裂解液 MLA 提取效果

| 血样1 || 血样2 || 血样3 || 血样4 |
|200|300|400|500||200|300|400|500| |200|300|400|500| |200|300|400|500|



结果显示, 相同的血液体积, 加入不同用量的裂解液都可以获得较好的 DNA。低至等倍的裂解液 MLA 都可以获得高质量的 DNA。从 260/230 来看, 加入 1.5 倍体积的 MLA 是最佳的。在 D6310 或 D6310 预分装试剂盒, 样品孔采用 500ul Buffer MLA, 所以血液样品用量可以从 100-400ul 变化, 都可以获得高质量的 DNA。

测试 3: D6310 对蛋白酶 K 的用量要求

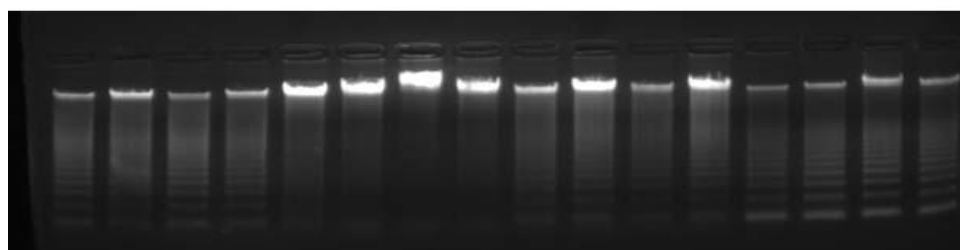
实验操作: 4 个血液样品, 用 D6310 进行提取, 核酸提取仪采用 MagMix 32。每一份提取采用 200ul 血液。

裂解液体积测试: 采用 D6310 进行操作, 取 200ul 全血和 0~20ul PK 至样品孔, 样品孔加入 500ul Buffer MLA, 把样品孔的温度设为 55 度。

样品	A260/230	A260/280	Result(ng/ul)	PK 量
200ul 全血 1	1.73	1.80	90.80	0ul
	1.76	1.76	102.16	5ul
	1.98	1.79	88.71	10ul
	0.95	1.72	87.79	20ul
200ul 全血 2	1.51	1.77	92.21	0ul
	1.65	1.75	107.67	5ul
	2.01	1.89	141.39	10ul
	1.78	1.77	89.48	20ul
200ul 全血 3	1.58	1.71	89.31	0ul
	1.76	1.78	100.13	5ul
	1.81	1.80	94.33	10ul
	1.95	1.83	100.73	20ul
200ul 全血 4	1.16	1.59	48.07	0ul
	1.50	1.65	46.68	5ul
	1.85	1.64	65.21	10ul
	1.79	1.61	49.10	20ul

PK用量对血液提取免暂停体系影响
200ul人全血样品加入不同量PK对产量的影响

| 血样1 || 血样2 || 血样3 || 血样4 |
 |0ul||5ul||10ul||20ul|0ul||5ul||10ul||20ul|0ul||5ul||10ul||20ul|0ul||5ul||10ul||20ul|



结果显示, D6310 提取过程对 Proteinase K 的添加量不太敏感, 不添加蛋白酶 K 也可以获得高质量的 DNA, 加入蛋白酶 K 有利于提高产量和纯度。5-10ul Proteinase K 添加量就可以获得高质量的 DNA.