

R4315 性能验证实验

实验一：新鲜猪血 RNA 提取性能对比实验

- 试剂盒：R4130、R4163、R4315
- 洗脱体积：30ul（R4130、R4163）、200ul（R4315）
- 实验方法：柱法

R4130 方案：取 100ul 新猪血+1ml MagZol Reagent 至 2ml 离心管，用手上下快速震荡 15 秒，涡旋混匀 10 秒，室温放置 10 分钟，加入 0.1ml Buffer BCP，立即用手快速上下振荡 15 秒，室温放置 3 分钟，4 度，10000rpm 离心 15 分钟，转移上清液至新的离心管中(看上清液的澄清度)，加入 1.5 倍乙醇混匀过柱，RWC 清洗一次，RW2 清洗两次，空甩，最后 30ul 洗脱。

R4163 方案：取 250ul 新猪血+0.75ml MagZol LS Reagent 至 2.0ml 离心管中，用手快速上下振荡 15 秒，涡旋混匀 10 秒，室温放置 10 分钟，加入 0.1ml Buffer BCP，立即用手快速上下振荡 15 秒，室温放置 3 分钟，4 度，10000rpm 离心 15 分钟，转移上清液至新的离心管中(看上清液的澄清度)，加入 1.5 倍乙醇混匀过柱，RWC 清洗一次，RW2 清洗两次，空甩，最后 30ul 洗脱。

R4315 方案：取 5ml 新猪血+7.5 ml MagZol 3BD Reagent 至 50ml 离心管中，用手快速上下振荡 15 秒，涡旋混匀 10 秒，室温放置 10 分钟，加入 0.75ml Buffer BCP2，立即用手快速上下振荡 15 秒，室温放置 3 分钟，4 度，10000rpm 离心 15 分钟，转移上清液至新的离心管中(看上清液的澄清度)，加入 1.5 倍乙醇混匀过柱，RWC 清洗一次，RW2 清洗两次，空甩，最后 200ul 洗脱。

各重复 3 管，测 OD 值。R4315 的 RNA 保存用于回收率实验。

实验结果：

OD 值

样品	样品量	试剂盒	核酸(ng/ul)	产量 (ug)	A260/A280	A260/A230	换算 5ml 产量 (ug)
猪血	100ul	R4130	51.09	1.53	1.73	1.12	76.64
			55.95	1.68	1.88	1.18	83.93
			52.47	1.57	1.90	1.18	78.70
	250ul	R4163	134.06	4.02	1.84	1.57	80.44
			141.02	4.23	1.73	1.40	84.61
			134.00	4.02	1.85	1.37	80.40
	5ml	R4315	438.11	87.62	1.83	1.55	
			445.09	89.02	1.80	1.54	
			455.36	91.07	1.78	1.48	

结论：

1. OD 值中，R4130、R4163 试剂盒换算 5ml 样品提取产量在 80ug 左右，提取效果与 R4315 试剂盒提取产量 89ug 差异不大；
2. A260/280 在 1.7~1.9，R4130 试剂盒 A260/230 在 1.1 左右，R4163 和 R4315 试剂盒 A260/230 在 1.5 左右；

实验二：新鲜逐度猪血 RNA 提取性能对比实验

- 试剂盒：R4315
- 洗脱体积：200ul
- 实验方法：柱法

R4315 方案：取 1ml /2ml/3ml /5ml 新猪血,加水补足至 5ml +7.5 ml MagZol 3BD Reagent 至 50ml 离心管中，用手快速上下振荡 15 秒，涡旋混匀 10 秒，室温放置 10 分钟，加入 0.75ml Buffer BCP2，立即用手快速上下振荡 15 秒，室温放置 3 分钟，4 度，10000rpm 离心 15 分钟，转移上清液至新的离心管中(看上清液的澄清度)，加入 1.5 倍乙醇混匀过柱，RWC 清洗一次，RW2 清洗两次，空甩，最后 200ul 洗脱。各重复 2 管，测 OD 值。

实验结果：

OD 值

样品	样品用量	核酸	产量 (ng)	A260/280	A260/230	换算 5ml 产量 (ug)
猪 血	1ml	57.95	11.59	2.04	1.53	57.95
		57.87	11.57	2.02	1.41	57.87
	2ml	109.56	21.91	2.05	1.58	54.78
		106.68	21.34	1.98	1.42	53.34
	3ml	154.77	30.95	1.99	1.47	51.59
		162.80	32.56	2.09	1.75	54.27
	5ml	343.72	68.74	2.04	1.90	
		329.99	66.00	2.04	1.77	

实验结论：

1. OD 值中，R4315 试剂盒提取 1、2、3ml 换算 5ml 样品产量在 55ug 左右，提取 5ml 样品产量在 66ug 左右；
2. A260/280 在 1.9~2.1，A260/230 在 1.5 左右；

实验三：RNA 回收率提取性能对比实验

- 试剂盒：R4315
- 洗脱体积：200ul
- 实验方法：柱法

R4315 方案：、取 10ug 猪血 RNA，加水补足至 5ml +7.5 ml MagZol 3BD Reagent 至 50ml 离心管中，用手快速上下振荡 15 秒，涡旋混匀 10 秒，室温放置 10 分钟，加入 0.75ml Buffer BCP2，立即用手快速上下振荡 15 秒，室温放置 3 分钟，4 度，10000rpm 离心 15 分钟，转移上清液至新的离心管中(看上清液的澄清度)，加入 1.5 倍乙醇混匀过柱，RWC 清洗一次，RW2 清洗两次，空甩，最后 100ul 洗脱。各重复 2 管，测 OD 值，计算回收率。

实验结果：

OD 值

			核酸(ng/ul)	产量 (ug)	A260/A28	A260/A230	回收率 (%)
猪血 RNA 回收	样品 1		81.58	8.16	2.01	1.65	76%
			80.82	8.08	2.01	1.52	72%
	样品 2		86.34	8.63	2.09	1.55	77%
			80.43	8.04	1.99	1.64	78%
	样品 3		77.64	7.76	1.98	1.90	75%
			84.16	8.42	1.99	1.73	73%
	原液浓度	样品 1	107.31	10.73	1.95	2.13	
		样品 2	111.57	11.16	1.95	2.09	
		样品 3	102.93	10.29	1.96	2.00	

实验结论：

1. OD 值中，样品 1、2、3 回收产量在 8ug 左右，原液产量在 10ug 左右；
2. A260/280 在 1.9~2.1，A260/230 在 1.5~2.2；
3. 样品 1、2、3 回收率都在在 75%左右；

实验四：血浆 RNA 提取性能对比实验

- 试剂盒：R4173、R4315
- 洗脱体积：100ul
- 实验方法：柱法

R4315 方案（不带 DNase）：取 RNA 病毒，用猪血浆补足至 5ml，按 Kit 进行操作，最用 100ul 洗脱。重复 3 管。

R4315 方案（带 DNase）：取 RNA 病毒，用猪血浆补足至 5ml，按 Kit 进行操作，最用 100ul 洗脱。重复 3 管。

R4173 方案：取 RNA 病毒，用猪血浆补足至 250ul，按 Kit 进行操作，最用 100ul 洗脱。重复 2 管。

QPCR 对比检测 CT 值。

实验结果：

CT 值

样品	试剂盒		Ct	平均 Ct
NDV 病毒提取	R4173	对照	22.42	22.32
			22.21	
	R4315	加 DNase I	23.44	23.36
			23.59	
			23.06	
		无 DNase I	23.46	23.42
			23.67	
			23.14	

结论：

1. NDV 病毒提取中，对照 R4173 提取 CT 值为 22.32，R4315 是否添加 DNase I 提取 CT 值无明显差异，CT 值为 23.40 左右，比对照高 1 个 CT 值。