

## D3182试剂不同放置时间稳定性报告

### 实验 1：理化检测

剂理化：

试剂	密度	密度范围	PH	PH范围	电导率	电导率范围
NFW	1.004	0.990~1.010	/	/	/	/
DCW2	1.008	0.990~1.010	7.46	7.0~8.0	11.8	11.5~13.0
PDB	1.141	1.110~1.150	7.52	7.0~8.0	0.682	0.650~0.770
DCW1	1.185	1.160~1.200	5.60	5.0~6.0	/	/
ACB	1.138	1.110~1.150	8.10	7.8~8.2	108.8	105~115
ACL	1.118	1.090~1.130	8.00	7.7~8.1	105.8	104~109

实验结论：

1. 试剂盒理化数据在理化指标范围内，试剂理化没有问题，表明试剂没有问题。

### 实验2：微量Marker回收率

1. Marker纯化：取20ul DL 2000 Marker+180ul灭菌水混匀，用D2111进行纯化，最后用40ul Elution Buffer洗脱。
2. 回收操作：取190ng上述纯化的DL 2000 Marker，加入3ml灭菌水，混匀，然后用不同批次D3182进行回收，最后用50ul 洗脱液洗脱。
3. 结果检测：取提取产物，测Qubit计算回收率。

实验数据：

试剂盒	qubit 值 (ng/ul)	洗脱体积	产量 (ng)	回收率(%)	平均回收率(%)
放置18个月试剂盒 (临近保质期试剂盒)	3.40	50ul	170	89%	93%
	3.66	50ul	183	96%	
	3.56	50ul	178	94%	
放置3个月试剂盒	3.54	50ul	177	93%	91%
	3.40	50ul	170	89%	
	3.42	50ul	171	90%	
添加前的DNA	190ng 【回收前添加38ng/ul，添加5ul】				

实验结论：

1. 放置18个月试剂盒（临近保质期）D3182回收190ng纯化DL2000 Marker回收率在93%，与放置3个月试剂盒D3182回收率91%无明显差异，回收率都达到90%以上；
2. 两个批次D3182试剂盒回收率都没有问题；
3. 表明试剂盒试剂临近保质期试剂效果稳定。

### 实验 3：宏量DNA回收率以及QPCR

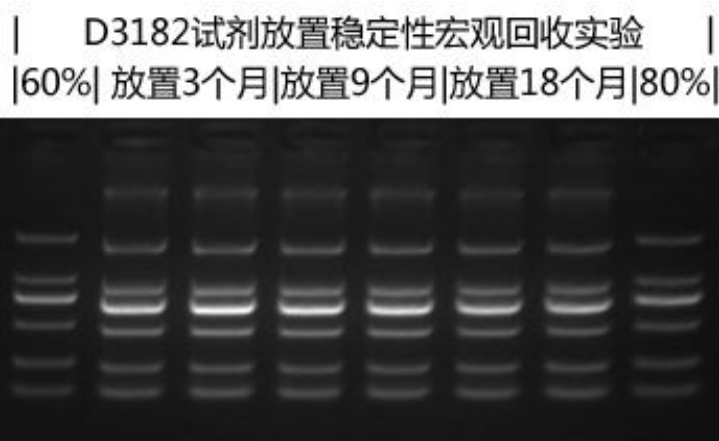
样品类型：取3ml猪血浆，添加30ul DL2000 DNA Marker和10 ul人的基因组DNA (~100ng)，混匀

1. 检测试剂盒：不同批次D3182。
2. 洗脱体积：50ul。
3. 提取方法：按D3182Kit提取。
4. 结果检测：产物测nanodrop 跑电泳和qPCR。

nanodrop数据：

试剂盒	核酸(ng/ul)	A260/A280
放置3个月试剂盒	164.71	2.65
	189.73	2.52
放置9个月试剂盒	174.20	2.70
	162.94	2.68
放置18个月试剂盒 (临近保质期试剂盒)	173.05	2.48
	165.55	2.39

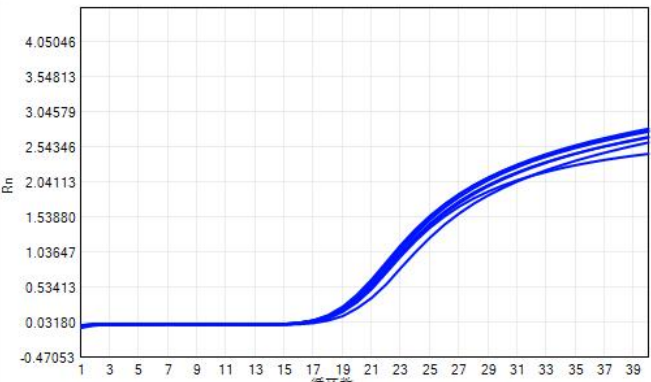
电泳图：



实验结论：

1. nanodrop数据中，放置3个月试剂盒、放置9个月试剂盒与放置18个月试剂盒（临近保质期）回收30ul DL2000 Marker浓度、A260/280无明显差异；
2. 电泳图中，放置3个月试剂盒、放置9个月试剂盒与放置18个月试剂盒（临近保质期）条带亮度一致，无降解，条带明显亮于80%条带，表明回收率大于80%，DL 2000 Marker最小条带100 bp条带亮度明显，表明试剂盒可以回收100bp条带。

人源DNA qPCR数据：

试剂盒	Ct	平均Ct	扩增曲线
放置3个月试剂盒	18.08	18.00	
	17.92		
放置9个月试剂盒	17.93	18.04	
	18.15		
放置18个月试剂盒 (临近保质期试剂盒)	18.35	18.26	
	18.16		
人源DNA直接PCR (10ul 人源DNA+40ul洗脱液)	19.00	18.83	
	18.66		

## 实验结论:

1. 人源DNA回收实验中，放置9个月试剂盒与放置18个月试剂盒（临近保质期）回收后产物进行qPCR，CT值与放置3个月试剂盒CT无明显差异，在18个CT，未经过回收的人源DNA直接qPCR与回收后qPCR的CT差异在1个CT值内；
2. 表明不同放置时间试剂盒纯化回收产物，qPCR没有问题。

## 实验4：猪血浆提取实验

1. 样品类型：4ml猪血浆。
2. Carrier RNA的溶解：取1管120ug Carrier RNA加入600ul灭菌水，测OD值。
3. 洗脱体积：50ul。
4. 提取方法：按D3182试剂盒提取步骤提取，对比Carrier RNA对提取的影响。
5. 结果检测：取提取产物，测Qubit计算产量。

### Carrier RNA溶解后测OD值：

		核酸(ng/ul)	平均核酸(ng/ul)	A260/A280	A260/A230
120ug+600ul灭菌水溶解	放置3个月试剂盒 Carrier RNA	314.39	306.52	3.53	3.85
		298.66		3.53	3.83
	放置9个月试剂盒 Carrier RNA	319.92	320.92	3.57	3.87
		321.92		3.59	3.89
	放置18个月试剂盒 (临近保质期) Carrier RNA	306.68	309.50	3.56	3.88
		312.32		3.55	3.86

### 实验数据：

对比条件	试剂盒	qubit 值 (ng/ul)	产量 (ng)
每份样品添加5ul灭菌水溶解的 Carrier RNA	放置3个月试剂盒 Carrier RNA	1.37	68.50
		1.40	70.00
	放置9个月试剂盒 Carrier RNA	1.36	68.00
		1.41	70.50
	放置18个月试剂盒 (临近保质期) Carrier RNA	1.30	65.00
		1.35	67.50
不加Carrier RNA	放置3个月试剂盒	1.33	66.50
		1.30	65.00
	放置9个月试剂盒	1.19	59.50
		1.26	63.00
	放置18个月试剂盒 (临近保质期)	1.16	58.00
		1.24	62.00

### 实验结论：

1. 放置3个月试剂盒、放置9个月试剂盒与放置18个月试剂盒（临近保质期）Carrier RNA，120ug用600ul水稀释后，测OD值无明显差异，表明三者效率一致，临近保质期Carrier RNA不影响效率；
2. 从实验数据来看，添加Carrier RNA，提取效果无明显差异，能稍微提升产量和稳定性，不添加Carrier RNA提取产量与稳定略差。

**总结：**临近保质期试剂盒试剂没有问题，试剂效果稳定。