

D6310 提取组织性能验证报告

实验目的：用 D6310B 与 MD5112 提取动物组织和老鼠尾 DNA，对比是否存在差异。

老鼠尾巴：取老鼠尾巴浸泡于 75%乙醇，室温放置 1 个月。使用前用灭菌水清洗除去乙醇。

鸡肝脏：从市场中购得新鲜宰杀的鸡肝脏。

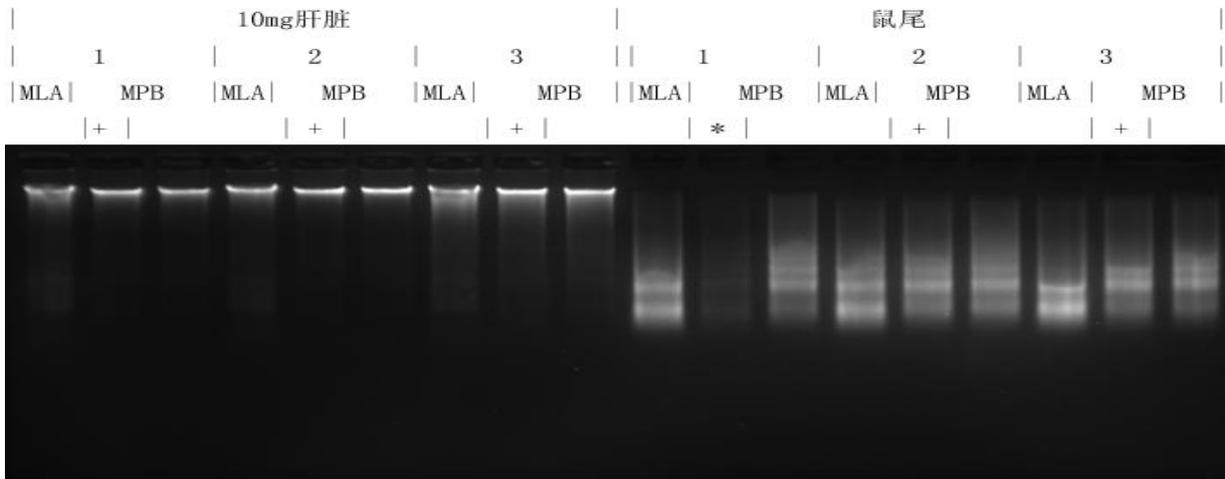
实验步骤：取适量组织（3-5mm 鼠尾/10mg 肝脏）至 2ml 离心管中，加入 250ul Buffer ATL 和 20ul PK 涡旋混匀，置于 55℃ 水浴锅温浴至组织充分消化；加入 10ul RNase 混匀（可不加），放置 10min；最后将组织消化液转移至 96 孔板中。

96 孔板加样顺序：

孔位	已预装试剂	使用前加入
第1/7排孔	500ul Buffer MLA(D6310B, 含异丙醇) 对照试剂盒: 500ul Buffer MPB (MD5112, 结合液不含异丙醇)	250ul 组织消化液 30ul MagPure Particles
第2/8排孔	500ul Buffer DW1	
第3/9排孔	500ul Buffer DW1	
第4/10排孔	500ul Buffer EW	
第5/11排孔	500ul Buffer BW3	
第6/12排孔	100ul Elution Buffer	

程序设置：

孔	干燥	混合	速度	吸磁	体积	温度
1	0	6 分钟	快	3	800	关闭
2	0	2 分钟	快	1	600	关闭
3	0	2 分钟	快	1	600	关闭
4	0	1 分钟	快	1	600	关闭
5	0	0 分钟	快	2	600	关闭
6	0	8 分钟	快	2	100	55 度
4	0	1 分钟	快	0	600	关闭



样品名称	裂解液	Rnase (ul)	核酸(ng/ul)	产量 (ug)	A260/A280	A260/A230
10mg 肝脏 1	D6310B	10ul	175.8	17.6	1.85	2.0
		不加	483.9	48.4	2.01	2.2
	MD5112	10ul	164.3	16.4	2.26	2.2
		不加	156.1	15.6	2.25	2.1
10mg 肝脏 1	D6310B	10ul	190.2	19.0	1.83	1.9
		不加	419.6	42.0	2.04	2.2
	MD5112	10ul	129.9	13.0	1.86	2.1
		不加	135.5	13.6	1.83	2.1
10mg 肝脏 1	D6310B	10ul	185.8	18.6	1.85	2.0
		不加	411.6	41.2	2.04	2.2
	MD5112	10ul	180.9	18.1	1.81	2.1
		不加	175.5	17.5	1.90	2.0
鼠尾 1	D6310B	10ul	289.2	28.9	1.86	2.3
		不加	459.0	45.9	2.02	2.3
	MD5112	10ul	310.8	31.1	1.92	2.3
		不加	309.2	30.9	1.93	2.1
鼠尾 1	D6310B	10ul	309.8	31.0	1.89	2.3
		不加	409.5	41.0	2.04	2.3
	MD5112	10ul	327.7	32.8	1.85	2.3
		不加	309.2	30.9	1.95	2.1
鼠尾 1	D6310B	10ul	296.8	29.7	1.85	2.3
		不加	520.7	52.1	2.02	2.3
	MD5112	10ul	355.7	35.6	1.85	2.3
		不加	345.2	34.5	1.95	2.2

结果显示,

- D6310B 进行组织中提取时, 最好加入 RNase A。不加入 RNase A 降解 RNA 时, 提取得到的 DNA 含有 RNA 污染。这是因为 D6310B 中采用结合液 MLA 含有异丙醇, 也会造成 RNA 的吸附。由于不同样品中 RNA 含量不一样, 以及下游检测要求不一样, 根据具体的情况, 选择加入或不加入 RNase A 进行预处理。由于 MD5112 中的结合液 Buffer MPB 不含异丙醇, 对 RNA 的吸附性差, 所以不加入 RNase A 时, 得到的 DNA 中 RNA 污染不高, 或下游应用对 RNA 污染要求, 且样品量核酸量在 2-15ug 之间时, 可以选用 MD5112, 但样品中 DNA 含量超过 15ug, 建议使用 D6310B, 并加入 RNase A 进行前处理。
- 老鼠尾巴 DNA 降解问题: 本次采用的老鼠尾巴样品, 来自于客户的样品, 是浸泡于 75%乙醇, 并在常温下保存的, 样品在提取前已经发生严重降解。本实验也表明, 就算是降解比较严重的核酸, D6310B 或 MD5112 都可以高效回收到降解的 DNA。这种降解的 DNA 也可以用于相关的 PCR 应用。