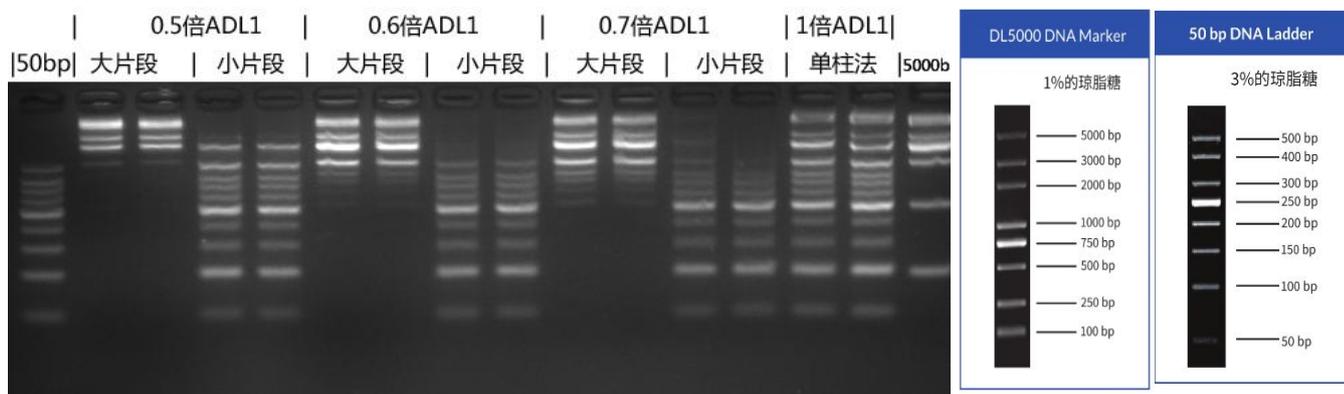


D3183 游离 DNA 富集试剂盒性能验证报告

实验 1：血浆中 DNA 片段分选效果。

- 分选：在 5ml 猪血浆中，加入 30ul 50bp DNA Marker 和 20ul 5000bp DNA Marker，然后按 D3183 试剂盒进行操作。操作简化为：含 5ml 不同 DNA 片段的猪血浆，加入 0.5ml PK 和 2.5ml (0.5 倍), 3ml (0.6 倍)和 3.5ml (0.7 倍)的 Buffer ADL1 混匀，55 度温育 1 小时后，转移至 DNA 纯化柱中吸附大片段，得到的滤液加入等倍体积的结合液 ADL2 混匀，转移至 DNA 纯化柱吸附小片段，吸附了大片段的大纯化柱和吸附了小片段的纯化柱经用清洗液清洗，最后用 40ul 洗脱液洗脱出 DNA，并用 2.0%琼脂糖凝胶电泳分析。
- 不分选（对照组）：在 5ml 猪血浆中，加入 30ul 50bp DNA Marker 和 20ul 5000bp DNA Marker，按 D3183 试剂盒操作，但样品直接过短片段的吸附柱，操作简化为：含 5ml 不同 DNA 片段的猪血浆，加入 0.5ml PK 和 5ml (1 倍)的 Buffer ADL1 混匀，55 度温育 1 小时后，加入等倍体积的结合液 ADL2 混匀，转移至 DNA 纯化柱吸附小片段，经用清洗液清洗后，最后用 40ul 洗脱液洗脱出 DNA，并用 2.0%琼脂糖凝胶电泳分析。

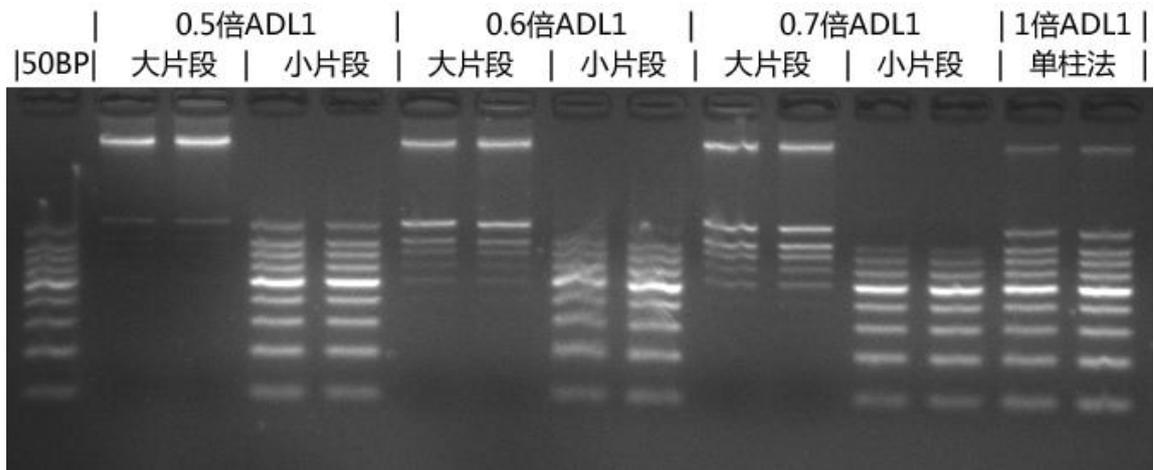


结果分析：

- 单柱法（不分选，对照组）把 50bp 和 5000bp DNA Marker 的全部 DNA 都可以回收，从 50bp 至 5000bp 都可以回收。
- 双柱分选中，在样品中添加 0.5~0.7 倍的 Buffer ADL1，大片段 DNA 纯化柱都可以高效吸附大于 1KB 以上 DNA 片段，随着 ADL1 的添加量增加，400~1000bp 的 DNA 可以不同程度的吸附。由于本次实验添加了大量的 5000 和 50bp DNA Marker，造成小片段吸附柱中，仍有少量的 1000~500bp 残留。

实验 2：含全血的血浆中 DNA 片段分选效果。

- 分选：在 5ml 猪血浆中，加入 0.1ml 全血和 30ul 50bp DNA Marker，然后按 D3183 试剂盒进行操作。操作简化为：5ml 含 DNA 片段和含全血的猪血浆，加入 0.5ml PK 和 2.5ml (0.5 倍)，3ml (0.6 倍)和 3.5ml (0.7 倍)的 Buffer ADL1 混匀，55 度温育 1 小时后，转移至 DNA 纯化柱中吸附大片段，得到的滤液加入等倍体积的结合液 ADL2 混匀，转移至 DNA 纯化柱吸附小片段，吸附了大片段的大纯化柱和吸附了小片段的纯化柱经用清洗液清洗，最后用 40ul 洗脱液洗脱出 DNA，并用 2.0%琼脂糖凝胶电泳分析。
- 不分选（对照组）：在 5ml 猪血浆中，加入 0.1ml 全血和 30ul 50bp DNA Marker，按 D3183 试剂盒操作，但样品直接过短片段的吸附柱，操作简化为：含 5ml 不同 DNA 片段的猪血浆，加入 0.5ml PK 和 5ml (1 倍)的 Buffer ADL1 混匀，55 度温育 1 小时后，加入等倍体积的结合液 ADL2 混匀，转移至 DNA 纯化柱吸附小片段，经用清洗液清洗后，最后用 40ul 洗脱液洗脱出 DNA，并用 2.0%琼脂糖凝胶电泳分析。



结果分析：

- 单柱法（不分选，对照组）：50bp DNA Marker 和 0.1ml 全血（基因组 DNA）添加猪血浆中，然后提取总 DNA。从数据来看，添加的 50bp DNA Marker 可以全部回收，而离电泳孔最近的大片段为基因组 DNA，是来自于 0.1ml 全血 DNA。
- 双柱分选中，在样品中添加 0.5~0.7 倍的 Buffer ADL1，大片段 DNA 纯化柱都可以高效吸附污染的全血的基因组 DNA，随着 ADL1 的添加量增加，大片段吸附柱可以吸附不同程序的 500bp (0.5 倍)，300-500(0.6 倍) 和 250-500bp(0.7 倍) 片段。从小片段吸附柱来看，0.6-0.7 倍 ADL1 还可以高效去除 500bp 的片段。

实验 3：猪血浆游离 DNA 提取效果。

- 分选：在 5ml 猪血浆中，然后按 D3183 试剂盒进行操作。操作简化为：5ml 猪血浆，加入 0.5ml PK 和 2.5ml (0.5 倍)，3ml (0.6 倍)和 3.5ml (0.7 倍)的 Buffer ADL1 混匀，55 度温育 1 小时后，转移至 DNA 纯化柱中吸附大片段，得到的滤液加入等倍体积的结合液 ADL2 混匀，转移至 DNA 纯化柱吸附小片段，吸附了大片段的大纯化柱和吸附了小片段的纯化柱经用清洗液清洗，最后用 40ul 洗脱液洗脱出 DNA，然后测 qubit 进行定量。
- 不分选（对照组）：在 5ml 猪血浆中，按 D3183 试剂盒操作，但样品直接过短片段的吸附柱，操作简化为：含 5ml 不同 DNA 片段的猪血浆，加入 0.5ml PK 和 5ml (1 倍)的 Buffer ADL1 混匀，55 度温育 1 小时后，加入等倍体积的结合液 ADL2 混匀，转移至 DNA 纯化柱吸附小片段，经用清洗液清洗后，最后用 40ul 洗脱液洗脱出 DNA，，然后测 qubit 进行定量。

实验方案	实验条件	样品名称	qubit 值 (ng/ul)	产量 (ng)
分选	0.5 倍 ADL1	大片段	0.0410	2.05
			0.0332	1.66
		小片段	0.3840	19.20
			0.4640	23.20
	0.6 倍 ADL1	大片段	0.0500	2.50
			0.0560	2.80
		小片段	0.3980	19.90
			0.3880	19.40
	0.7 倍 ADL1	大片段	0.0772	3.86
			0.0860	4.30
		小片段	0.3840	19.20
			0.3640	18.20
不分选	1 倍 ADL1	单柱	0.4100	20.50
			0.3680	18.40

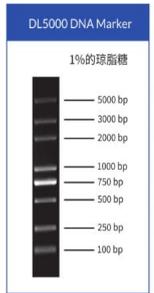
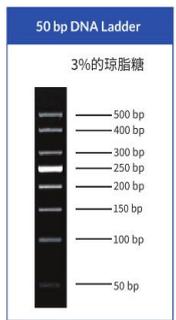
结果分选：

- 不分选：猪血浆样品经 D3183 试剂盒进行提取，不分选的条件下，5ml 猪血浆含有 18-20ng。
- 分选：猪血浆样品经 D3183 试剂盒进行分选提取，小片段的游离 DNA 含量为 19-20ng，与不分选的总量是一样的，这表明当样品中不含有大片段 DNA 时，大片段吸附柱不会影响小片段 DNA 的吸附，这说明 D3183 进行分选时，不会影响到短片段游离 DNA 的吸附。

实验 4：微量 DNA 的分选效果

- 分选：在 5ml 纯水中，分别加入 200ng 50bp DNA Marker 或 200ng 5000bp DNA Marker，然后按 D3183 试剂盒进行操作。操作简化为：5ml 含不同 DNA 片段的纯水，加入 0.5ml PK 和 2.5ml (0.5 倍)，3ml (0.6 倍) 和 3.5ml (0.7 倍) 的 Buffer ADL1 混匀，55 度温育 1 小时后，转移至 DNA 纯化柱中吸附大片段，得到的滤液加入等倍体积的结合液 ADL2 混匀，转移至 DNA 纯化柱吸附小片段，吸附了大片段的大纯化柱和吸附了小片段的纯化柱经用清洗液清洗，最后用 40ul 洗脱液洗脱出 DNA，然后测 qubit 进行定量，计算出大片段纯化柱和小片段纯化柱的回收率，以及总回收率。

3.12 微量回收率				
Buffer ADL1 加入的倍数	0.5 倍	0.6 倍	0.7 倍	1 倍
短片段核酸分选回收率：5ml 纯化中，添加 200ng 50bp DNA Marker，然后进行回收				
大片段吸附柱产量	5.2	10.4	10.700	12
大片段吸附柱回收率	2.6%	5.2%	5.4%	6.0%
小片段吸附柱产量	167	164	167	177
小片段吸附柱回收率	83.5%	82.0%	83.5%	88.5%
总回收率	86.1%	87.2%	88.85%	94.5%
大片段核酸分选回收率：5ml 纯化中，添加 200ng 5000bp DNA Marker，然后进行回收				
微量柱（大）	64.4	81.1	99.4	129
回收率（大）	32.2%	40.6%	49.7%	64.5%
微量柱（小）	110	91.8	74.6	45.3
回收率（小）	55.0%	45.9%	37.3%	22.65%
回收率（总）	87.2%	86.5%	87.0%	87.15%



通过短片段和长片段的微量回收来看，该产品高效去除长片段核酸，随着 ADL1 加入量至 1 倍时，可以高效去除大片段核酸，而对短片段核酸基本没有影响，说明分选效果充分。