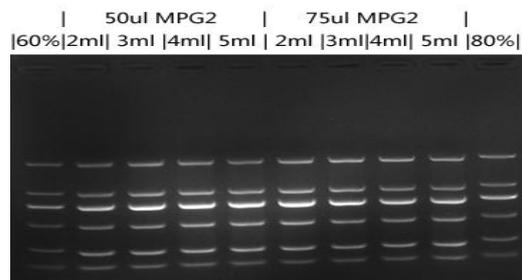
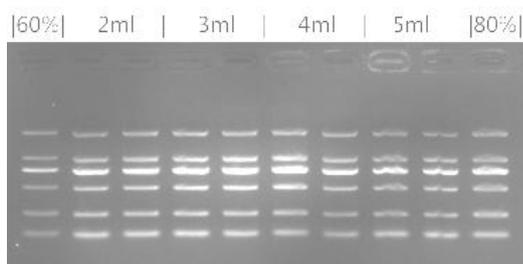


IVD5435-R48 48 孔板（8 通道）游离 DNA 性能验证报告

实验 1：宏观 DNA Marker 回收效率

样品准备：取 10ml 离心管中，加入 30ul DL2000 DNA Marker，然后加入 2ml、3ml、4ml 和 5ml 猪血浆混匀，然后按 IVD5435-R48 预分装试剂盒进行提取和回收，用 70ul 进行洗脱，最后测 OD 值和电泳检测 DNA 的回收率。本次实验分别验证 MLKC 和 MKD 两种结合体系的对不同体积血浆的外加 DNA Marker 的回收率和片段回收能力，为确定实验的均一性，2ml 样品直接分装至第 3/4 孔（复杂结合）；3ml 样品直接分装至第 2/3/4 孔中（三孔结合），4-5ml 样品平均分装至 1/2/3/4 孔中（四孔结合），然后同一个程序运行。

| 实验方案 | MLKC 方案（直接上样） | MLKD 方案（机外消化充分释放 DNA） |
|--------|--|--|
| 样品前处理 | 不需要前处理，只需要把猪血浆（DNA Marker）和 Proteinase K 加到第 1~4 孔样品中。 | 猪血浆（DNA Marker），加入 0.05 倍体积的 Buffer SDS 和 Proteinase K 混匀，55 度温育 60 分钟，然后把样品再转移第 1~4 孔中。 |
| 第 1 个孔 | 1.4 ml Buffer MLKC | 1.4 ml Buffer MLKD |
| 第 2 个孔 | 1.4 ml Buffer MLKC | 1.4 ml Buffer MLKD |
| 第 3 个孔 | 1.4 ml Buffer MLKC | 1.4 ml Buffer MLKD |
| 第 4 个孔 | 1.4 ml Buffer MLKC | 1.4 ml Buffer MLKD |
| 第 5 个孔 | 2.8 mL Buffer MAW1 | |
| 第 6 个孔 | 2.8 mL Buffer MW2&75ul MPG2 | |
| 第 7 个孔 | 70ul Elution Buffer | |



| 实验方案 | 样品量 | 核酸(ng/ul) | A260/A280 | A260/A230 | |
|--------------|---------------|-----------|-----------|-----------|------|
| MLKC(样品直接上机) | 2ml | 39.26 | 1.71 | 0.08 | |
| | | 38.71 | 1.73 | 0.09 | |
| | 3ml | 39.64 | 1.85 | 0.11 | |
| | | 34.30 | 1.77 | 0.22 | |
| | 4ml | 37.51 | 1.74 | 0.23 | |
| | | 34.71 | 1.71 | 0.21 | |
| | 5ml | 34.71 | 1.72 | 0.21 | |
| | | 28.88 | 1.78 | 0.18 | |
| | MLKD(机外消化后上机) | 2ml | 32.84 | 1.69 | 0.25 |
| | | | 32.83 | 1.71 | 0.26 |
| 3ml | | 35.27 | 1.73 | 0.32 | |
| | | 36.13 | 1.75 | 0.32 | |
| 4ml | | 36.79 | 1.71 | 0.15 | |
| | | 36.25 | 1.73 | 0.15 | |
| 5ml | | 36.33 | 1.71 | 0.16 | |
| | | 34.53 | 1.73 | 0.18 | |

结果分析

为了更直接分析核酸的回收率和纯度，我们在 2~5ml 猪血浆添加 30ul DL2000 DNA Marker(约 2.5ug DNA)，然后用 MLKC 和 MLKD 两种方法提取总 DNA。

1: 从电泳来看，MLKC 和 MLKD 可以回收 100bp DNA 片段，且回收率明显超过 60%，并接近或超过 80%对照回收率。

2: 从 OD 值来看，不同体积的血浆用量和两种方法，其 DNA 浓度相当，表明复孔结合，三孔结合或四孔结合是可行的。

3: A260/280 比值能达到 1.65-1.78 表明核酸纯度高，但由于核酸含量低且样品体积大，磁珠用量多，造成 A260/230 比较低。

实验 2：微量 DNA 回收效率

样品准备：取 10ml 离心管中，加入 0.5ul 和 2ul DL2000 DNA Marker，然后加入 2ml、3ml、4ml 和 5ml 纯水混匀，然后按 IVD5435-R48 预分装试剂盒进行提取和回收，用 70ul 进行洗脱，最后测 qubit，计算 DNA 的回收率。本次实验分别验证 MLKC 和 MLKD 两种结合体系的对不同体积血浆的外加 DNA Marker 的回收率和片段回收能力，为确定实验的均一性，2ml 样品直接分装至第 3/4 孔（复杂结合）；3ml 样品直接分装至第 2/3/4 孔中（三孔结合），4-5ml 样品平均分装至 1/2/3/4 孔中（四孔结合），然后同一个程序运行。

| 实验方案 | MLKC 方案（直接上样） | MLKD 方案（机外消化充分释放 DNA） |
|--------|---|-----------------------|
| 样品前处理 | 超低含量核酸：在 2-5ml 纯水中添加 30ng DNA。 中低含量核酸：在 2-5ml 纯水中添加 120ng DNA。 | |
| 第 1 个孔 | 1.4 ml Buffer MLKC | 1.4 ml Buffer MLKD |
| 第 2 个孔 | 1.4 ml Buffer MLKC | 1.4 ml Buffer MLKD |
| 第 3 个孔 | 1.4 ml Buffer MLKC | 1.4 ml Buffer MLKD |
| 第 4 个孔 | 1.4 ml Buffer MLKC | 1.4 ml Buffer MLKD |
| 第 5 个孔 | 2.8 mL Buffer MAW1 | |
| 第 6 个孔 | 2.8 mL Buffer MW2&75ul MPG2 | |
| 第 7 个孔 | 70ul Elution Buffer | |

| 实验方案 | 核酸总添加 | 样品量（超纯水） | 洗脱体积 | 实得体积 | Qubit(ng/ul) | 产量 (ng) | 理论回收率 | 实际回收率 |
|------|-------|----------|-------|-------|--------------|---------|-------|-------|
| MLKC | 30ng | 2ml | 70ul | 52ul | 0.349 | 24.43 | 81% | 60% |
| | | 3ml | | | 0.337 | 23.59 | 79% | 58% |
| | | 4ml | | | 0.350 | 24.5 | 82% | 61% |
| | | 5ml | | | 0.345 | 24.15 | 81% | 60% |
| | 120ng | 2ml | | | 1.47 | 102.9 | 86% | 64% |
| | | 3ml | | | 1.50 | 105 | 88% | 65% |
| | | 4ml | | | 1.48 | 103.6 | 86% | 64% |
| | | 5ml | | | 1.42 | 99.4 | 83% | 62% |
| MLKD | 30ng | 2ml | 0.288 | 20.16 | 67% | 50% | | |
| | | 3ml | 0.288 | 20.16 | 67% | 50% | | |
| | | 4ml | 0.33 | 23.1 | 77% | 57% | | |
| | | 5ml | 0.318 | 22.26 | 74% | 55% | | |
| | 120ng | 2ml | 1.45 | 101.5 | 85% | 63% | | |
| | | 3ml | 1.48 | 103.6 | 86% | 64% | | |
| | | 4ml | 1.46 | 102.2 | 85% | 63% | | |
| | | 5ml | 1.22 | 85.4 | 71% | 53% | | |

结果分析：

1. 本次实验采用 75ul MPG2 用量，受磁珠量影响、受磁棒吸磁的表面张力影响，进行 70ul 洗脱时，最后只能得到 52-55ul，约有 15-20ul 洗脱液被孔壁和磁套，磁珠吸附，无法回收。
2. 从理论回收率来看，按 70ul 来计算时，MLKC 和 MLKD 回收率超过 80%，但按实得洗脱体积，回收率只有 55-65%。

实验 3：洗脱体积损失原因。

手工操作：取 50ul/75/100/150ul MPG2 磁珠至 2.0ml 离心管中，加入 1.5ml Buffer MW2，混匀，吸磁后吸弃残液，短暂离心吸尽残液，55 度干燥 10 分钟，加入 70ul 洗脱液混匀，短暂离心后上磁力架，转移出洗脱液，并计算实得洗脱体积。

机器操作（不吸磁）：取 50ul/75/100/150ul MPG2 磁珠至第 6 孔，加入 2.5ml Buffer MW2，再洗脱孔加入 70ul 洗脱液，设定程序为：第 6 孔混匀后，吸磁，干燥 10 分钟，在第 7 孔中混匀，但不吸磁。手工转移含磁珠洗脱液至 1.5ml 离心管中，离心 1 分钟让磁珠形成紧密的沉淀，上磁力架，并计算出实得洗脱体积。

机器操作（吸磁）：取 50ul/75/100/150ul MPG2 磁珠至第 6 孔，加入 2.5ml Buffer MW2，再洗脱孔加入 70ul 洗脱液，设定程序为：第 6 孔混匀后，吸磁，干燥 10 分钟，在第 7 孔中混匀后吸磁，转移洗脱液并计算出实得洗脱体积。

| 磁珠用量 | 洗脱体积 | 离心管操作 | 48 孔板(8 通道提取仪) | | 24 孔板 (4 通道提取仪) | |
|-------|------|-------|----------------|--------------------|-----------------|--------------------|
| | | 手工洗脱 | 机器吸磁 实得洗脱液 | 机器不吸磁 手工吸磁实得洗脱液 | 机器吸磁 实得洗脱液 | 机器不吸磁 手工吸磁实得洗脱液 |
| 50ul | 70ul | 66ul | 58ul | 63ul | 59ul | 63ul |
| 75ul | | 63ul | 55ul | 61ul | 55ul | 59ul |
| 100ul | | 62ul | 52ul | 60ul | 51ul | 55ul |
| 150ul | | 60ul | 50ul | 55ul | 47ul | 53ul |

洗脱液蒸发量：在洗脱条或 24 孔高板或矮板中，添加 70ul/90ul 洗脱液至洗脱孔中，运作程序，在洗脱前停止（不洗脱），然后测量洗脱液的体积，计算出放置 1 小时和 2 小时后，洗脱液的蒸发量，得到磁珠洗脱前实际的洗脱液。

| 洗脱液蒸发情况 | 试剂装量 | 仪器运作时间 | | 试剂装量 | 仪器运作时间 | |
|---------|------|---------|---------|------|---------|---------|
| | | 1 小时蒸发量 | 2 小时蒸发量 | | 1 小时蒸发量 | 2 小时蒸发量 |
| 洗脱条 | 70ul | 8ul | 18ul | 90ul | 8ul | 17ul |
| 24 孔矮板 | 70ul | 8ul | 17ul | 90ul | 9ul | 18ul |
| 24 孔高板 | 70ul | 8ul | 18ul | 90ul | 8ul | 17ul |

使用 MLKC 方案时，采用机内消化，仪器运行时间要 2 小时，48 通道提取时，上机时就加入洗脱液时，建议加入 90ul，处理 7-9ml 样品时，建议加入 100ul。

使用 MLKC 方案时，采用机外消化，仪器运行时间要 1 小时，48 通道提取时，上机时就加入洗脱液时，建议加入 80ul，处理 7-9ml 样品时，建议加入 90ul。

结果分析：

1. 采用手工洗脱时，由于离心步骤收集管壁液滴，以及离心后磁珠堆积更紧密，采用手工洗脱时，可以回收更多的洗脱液，每 10ul 磁珠会损失~1ul 洗脱液。
2. 用核酸提取仪操作时，由于深孔板孔壁和磁套的粘附，以及磁力吸磁时，磁珠堆积不紧密，溶液的表面张力造成大量洗脱液在洗脱吸磁时产生大量损耗，每 10ul 高达 2ul 洗脱液损耗。采用机器洗脱，但不吸磁，最后用人工把洗脱液连同磁珠一起转移至 1.5ml 离心管后，离心后再上磁力架，每 10ul 磁珠会损失~1.2ul。在实现自动化提取时，最后一步采用手工吸磁，可得到更多的 DNA。

实验 4：血浆游离 DNA 产量

样品准备：用商品化的猪血浆和牛血浆作为样品，每个样品用 5ml 进行提取，对比两种方案提高效果。采用 IVD5435-R48 预分装试剂盒，仪器采用 MagMix 8 中体积核酸提取仪进行抽提，最后用 70ul 洗脱出 DNA。

第一轮实验

| 样品 | 实验方案 | 样品体积 | 磁珠用量 | Qubit(ng/ul) | 产量 (ng) |
|-----|------|------|-----------|--------------|---------|
| 猪血浆 | MLKD | 5 ml | 75ul MPG2 | 0.614 | 42.98 |
| | | 5 ml | | 0.622 | 43.54 |
| | MLKC | 5 ml | | 0.698 | 48.86 |
| | | 5 ml | | 0.78 | 54.6 |
| 牛血浆 | MLKD | 5 ml | | 2.82 | 197.4 |
| | | 5 ml | | 2.92 | 204.4 |
| | MLKC | 5 ml | | 3.04 | 212.8 |
| | | 5 ml | | 3.02 | 211.4 |

第二轮实验：牛血浆和猪血浆转移至无创采血管保存 4 天后再提取。

| 样品 | 结合液 | 样品体积 | 磁珠用量 | Qubit(ng/ul) | 产量 (ng) |
|-----|------|------|-----------|--------------|---------|
| 猪血浆 | MLKD | 5 ml | 50ul MPG2 | 0.48 | 33.6 |
| | | 5 ml | 75ul MPG2 | 0.558 | 39.06 |
| | MLKC | 5 ml | 50ul MPG2 | 0.496 | 34.72 |
| | | 5 ml | 75ul MPG2 | 0.51 | 35.7 |
| 牛血浆 | MLKD | 5 ml | 50ul MPG2 | 2.02 | 141.4 |
| | | 5 ml | 75ul MPG2 | 2.38 | 166.6 |
| | MLKC | 5 ml | 50ul MPG2 | 1.82 | 127.4 |
| | | 5 ml | 75ul MPG2 | 2.36 | 165.2 |

实验 5: Carrier RNA 对提取效果

| 实验条件 | 样品 | Qubit(ng/ul) | 产量 (ng) | 回收率 |
|------------------------|------------------|--------------|---------|-----|
| Carrier RNA 提高微量核酸的回收率 | | | | |
| 不加入 Carrier RNA | 5ml 纯水+37ng DNA | 0.386 | 27.02 | 73% |
| | 5ml 纯水+74ng DNA | 0.744 | 52.08 | 70% |
| | 5ml 纯水+148ng DNA | 1.74 | 121.8 | 82% |
| 每孔加 150ng Carrier RNA | 5ml 纯水+37ng DNA | 0.52 | 36.4 | 98% |
| | 5ml 纯水+74ng DNA | 0.89 | 62.3 | 84% |
| | 5ml 纯水+148ng DNA | 1.59 | 111.3 | 75% |
| Carrier RNA 背景读数 | | | | |
| 不加入 Carrier RNA | 5ml 纯水 | too low | / | / |
| | 5ml 纯水 | too low | / | / |
| 每孔加 50ng Carrier RNA | 5ml 纯水 | 0.0304 | 1.52 | / |
| | 5ml 纯水 | 0.0436 | 2.18 | / |
| 每孔加 100ng Carrier RNA | 5ml 纯水 | 0.0682 | 3.41 | / |
| | 5ml 纯水 | 0.0748 | 3.74 | / |
| 每孔加 150ng Carrier RNA | 5ml 纯水 | 0.128 | 6.4 | / |
| | 5ml 纯水 | 0.147 | 7.35 | / |
| Carrier RNA 对血浆产量影响 | | | | |
| 不加入 Carrier RNA | 5ml 猪血浆 | 0.486 | 34.02 | / |
| 每孔加 150ng Carrier RNA | | 0.476 | 33.32 | / |
| 不加入 Carrier RNA | 5ml 牛血浆 | 1.54 | 107.8 | / |
| 每孔加 150ng Carrier RNA | | 1.38 | 96.6 | / |

结果分析:由于血浆或血清等样品中游离 DNA 含量很低,48 孔板和 24 孔板孔壁表面积很大,板材对核酸会有少量的吸附作用。Carrier RNA 是聚腺苷酸, Poly A, 属于 RNA, 可以作为核酸代替物屏蔽和饱和板材的吸附力, 减少游离 DNA 损失的风险。

从数据来看, 本次实验中并未发现 Carrier RNA 能显著提高微量 DNA 回收率或游离 DNA 的产量, 但也可以发现, 在纯水添加总量 200~400ng 时, 最终用 qubit 定量时, 只有 2-4ng Carrier RNA, 占比很低, 基本不干扰正常样品 DNA 浓度。由于游离 DNA 产量低, 样品珍贵, 我们还是建议加入适量的 Carrier RNA 来稳定游离 DNA 的产量。

实验 6：不同提取仪不同体积的 DNA 回收率差别

实验流程（8 通道）：在 5ml 纯化水中添加 100ng DNA，然后用 MLKD（机外 SDS 消化方案）或 MLKC（机内消化）进行纯化回收，纯化时采用 MagMix 8 核酸提取仪进行提取，为减少洗脱液的蒸发影响，本次实验在程序运行完干燥时，再添加 100ul Elution Buffer 至洗脱孔中再进行洗脱，然后用 Qubit 定量，计算出 DNA 回收率。

实验流程（4 通道）：在 9ml 纯化水中添加 100ng DNA，然后用 MLKD（机外 SDS 消化方案）或 MLKC（机内消化）进行纯化回收，纯化时采用 MagMix 4 核酸提取仪进行提取，为减少洗脱液的蒸发影响，本次实验在程序运行完干燥时，再添加 100ul Elution Buffer 至洗脱孔中进行洗脱，然后用 Qubit 定量，计算出 DNA 回收率。

| 样品 | 仪器 | 结合方式 | 结合液 | 洗脱体积 | Qubit (ng/ul) | 理论产量 ng | 实得洗脱体积 | 理论回收率 | 实得回收率 | 仪器运行时间 |
|---------------------------|----------------------------|-------|--------------|-------|---------------|---------|--------|-------|-------|--------|
| 5ml 纯水 添加 100ng DNA | MagMix 8 8 道提取仪 8 孔板 | 4 孔结合 | MLKD 机外消化 | 100ul | 0.942 | 94.2 | 85ul | 93% | 80% | 1 小时 |
| | | | | | 0.986 | 98.6 | 85ul | 98% | 84% | |
| | | | | | 0.956 | 95.6 | 85ul | 95% | 81% | |
| | | | MLKC 机内消化 | | 0.99 | 99 | 85ul | 98% | 84% | 2 小时 |
| | | | | | 0.796 | 79.6 | 85ul | 79% | 68% | |
| | | | | | 0.816 | 81.6 | 85ul | 81% | 69% | |
| | | | | | 0.82 | 82 | 85ul | 81% | 70% | |
| 0.792 | 79.2 | 85ul | 78% | 67% | | | | | | |
| | MLKD 机外消化 | 0.862 | 86.2 | 83ul | 85% | 72% | 1 小时 | | | |
| | | 0.828 | 82.8 | 83ul | 82% | 69% | | | | |
| | MLKC 机内消化 | 0.708 | 70.8 | 83ul | 70% | 59% | 2 小时 | | | |
| 0.69 | | 69 | 83ul | 68% | 57% | | | | | |

实验 7: 不同提取仪不同体积的血清血浆 DNA 提取对比

实验流程 (32 通道): 在 1.2ml 猪血浆或牛血浆, 然后用 MLKD (机外 SDS 消化方案) 或 MLKC (机内消化) 进行纯化回收, 纯化时采用 MagMix 32 核酸提取仪进行提取, 为减少洗脱液的蒸发影响, 本次实验在程序运行完干燥时, 再添加 100ul Elution Buffer 至洗脱孔中再进行洗脱, 然后用 Qubit 定量。

实验流程 (8 通道): 在 5ml 猪血浆或牛血浆, 然后用 MLKD (机外 SDS 消化方案) 或 MLKC (机内消化) 进行纯化回收, 纯化时采用 MagMix 8 核酸提取仪进行提取, 为减少洗脱液的蒸发影响, 本次实验在程序运行完干燥时, 再添加 100ul Elution Buffer 至洗脱孔中再进行洗脱, 然后用 Qubit 定量。

实验流程 (4 通道): 在 9ml 猪血浆或牛血浆, 然后用 MLKD (机外 SDS 消化方案) 或 MLKC (机内消化) 进行纯化回收, 纯化时采用 MagMix 4 核酸提取仪进行提取, 为减少洗脱液的蒸发影响, 本次实验在程序运行完干燥时, 再添加 100ul Elution Buffer 至洗脱孔中进行洗脱, 然后用 Qubit 定量。

| 样品 | 样品体积 | 仪器 | 结合方式 | 结合液 | 洗脱体积 | Qubit ng/ul | 理论产量 ng | 实得洗脱液 | 每毫升产量 | 运行时间 |
|-----|----------------|----------------|-----------|--------------|---------------------------|-------------|---------|-------|-------|-------|
| 猪血浆 | 1.2ml | 32 通道 96 孔板 | 3 孔结合 | MLKD 机外消化 | 干燥再 加入 100ul 洗脱液 | 0.131 | 13.10 | 90ul | 10.92 | 50 分钟 |
| | | | | | | 0.119 | 11.90 | 90ul | 9.92 | |
| | | | | MLKC 机内消化 | | 0.149 | 14.90 | 90ul | 12.42 | 2 小时 |
| | | | | | | 0.141 | 14.10 | 90ul | 11.75 | |
| | 5ml | 8 通道 48 孔板 | 4 孔结合 | MLKD 机外消化 | | 0.423 | 42.3 | 85ul | 8.46 | 70 分钟 |
| | | | | | | 0.406 | 40.6 | 85ul | 8.12 | |
| | | | | MLKC 机内消化 | | 0.452 | 45.2 | 85ul | 9.04 | 2 小时 |
| | | | | | | 0.408 | 40.8 | 85ul | 8.16 | |
| 9ml | 4 通道 24 孔高板 | 3 孔结合 | MLKD/机外消化 | 0.786 | 78.60 | 83ul | 8.73 | 70 分钟 | | |
| | | | MLKC/机内消化 | 0.776 | 77.60 | 83ul | 8.62 | 2 小时 | | |
| 牛血浆 | 1.2ml | 32 通道 96 孔板 | 3 孔结合 | MLKD 机外消化 | 干燥再 加入 100ul 洗脱液 | 0.690 | 69.00 | 90ul | 57.50 | 50 分钟 |
| | | | | | | 0.730 | 73.00 | 90ul | 60.83 | |
| | | | | MLKC 机内消化 | | 0.870 | 87.00 | 90ul | 72.50 | 2 小时 |
| | | | | | | 0.820 | 82.00 | 90ul | 68.33 | |
| | 5ml | 8 通道 48 孔板 | 4 孔结合 | MLKD/机外消化 | | 3.340 | 334.00 | 85ul | 66.80 | 70 分钟 |
| | | | | | | 3.260 | 326.00 | 85ul | 65.20 | |
| | | | | MLKC/机内消化 | | 3.770 | 377.00 | 85ul | 75.40 | 2 小时 |
| | | | | | | 3.590 | 359.00 | 85ul | 71.80 | |
| 9ml | 4 通道 24 孔高板 | 3 孔结合 | MLKD/机外消化 | 6.052 | 605.2 | 83ul | 67.2 | 70 分钟 | | |
| | | | MLKC/机内消化 | 5.985 | 598.5 | 83ul | 66.5 | 2 小时 | | |

实验 8：不同提取仪不同体积的血清血浆 DNA 提取对比 2（含 Carrier RNA）

猪血浆：每 1ml 猪血浆，加入 30ng 纯化的 Low Marker (100~250bp)

实验流程（8 通道）：取 3~5ml 猪血浆，然后用 MLKD（机外 SDS 消化方案）或 MLKC（机内消化）进行纯化回收，纯化时采用 MagMix 8 核酸提取仪进行提取，为减少洗脱液的蒸发影响，本次实验在程序运行完干燥时，再添加 90ul Elution Buffer 至洗脱孔中再进行洗脱，然后用 Qubit 定量。

实验流程（4 通道矮板）：在 4~6ml 猪血浆，然后用 MLKD（机外 SDS 消化方案）或 MLKC（机内消化）进行纯化回收，纯化时采用 MagMix 4 核酸提取仪进行提取，为减少洗脱液的蒸发影响，本次实验在程序运行完干燥时，再添加 90ul Elution Buffer 至洗脱孔中进行洗脱，然后用 Qubit 定量。

实验流程（4 通道高板）：在 7~9ml 猪血浆，然后用 MLKD（机外 SDS 消化方案）或 MLKC（机内消化）进行纯化回收，纯化时采用 MagMix 4 核酸提取仪进行提取，为减少洗脱液的蒸发影响，本次实验在程序运行完干燥时，再添加 90ul Elution Buffer 至洗脱孔中进行洗脱，然后用 Qubit 定量。

| 样品 | 仪器 | 结合方式 | 磁珠量 | 结合液 | 补添核酸 | 洗脱体积 | Qubit ng/ul | 理论产量 ng | 实得洗脱液 | 每毫升产量 | 仪器运作时间 | | | | |
|-----------|------|-----------------|-----------------|----------------|--|--|-------------|----------------------------------|--|----------------------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|
| 3ml | 8 通道 | 3 孔结合 48 孔板 | 75ul | MLKD 机外消化 | 每孔 加 150n g Carri er RNA | 洗脱 前加 入 90ul 洗脱 液 | 1.54 | 138.6 | 75ul | 46.20 | 70 分钟 | | | | |
| | | | | | | | 1.47 | 132.3 | 75ul | 44.10 | | | | | |
| | | | | MLKC 机内消化 | | | 1.58 | 142.2 | 75ul | 47.40 | 2 小时 | | | | |
| | | | | | | | 1.56 | 140.4 | 75ul | 46.80 | | | | | |
| 5ml | | 4 通道矮板 | | 4 孔结合 48 孔板 | | | 75ul | MLKD 机外消化 | 每孔 加 150n g Carri er RNA | 洗脱 前加 入 90ul 洗脱 液 | 2.46 | 221.4 | 75ul | 44.28 | 70 分钟 |
| | | | | | | | | | | | 2.48 | 223.2 | 75ul | 44.64 | |
| | | | | | | | | MLKC 机内消化 | | | 2.62 | 235.8 | 75ul | 47.16 | 2 小时 |
| | | | | | | | | | | | 2.58 | 232.2 | 75ul | 46.44 | |
| 4ml | 4 通道 | | 3 孔结合 24 孔矮板 | 90ul | MLKD/机外消化 | 每孔 加 150n g Carri er RNA | | 洗脱 前加 入 90ul 洗脱 液 | | | 1.94 | 174.6 | 73ul | 43.65 | 70 分钟 |
| MLKC/机内消化 | | | | | | | | | | | 1.98 | 178.2 | 73ul | 44.55 | 2 小时 |
| 6ml | | | | | MLKD/机外消化 | | | | | | 2.87 | 258.3 | 73ul | 43.05 | 70 分钟 |
| | | | | | | | | | | | MLKC/机内消化 | 2.95 | 265.5 | 73ul | 44.25 |
| 7ml | | 3 孔结合 24 孔高板 | 3 孔结合 24 孔高板 | | 130ul | | MLKD/机外消化 | | 每孔 加 150n g Carri er RNA | 洗脱 前加 入 90ul 洗脱 液 | 3.04 | 273.6 | 73ul | 39.09 | 70 分钟 |
| MLKC/机内消化 | | | | | | | | | | | 3.26 | 293.4 | 73ul | 41.91 | 2 小时 |
| 9ml | | | | | | | MLKD/机外消化 | | | | 3.6 | 324 | 73ul | 36.00 | 70 分钟 |
| | | | | | | | | | | | MLKC/机内消化 | 4.02 | 361.8 | 73ul | 40.20 |