

R6628 性能验证报告

实验 1：验证 R6628 试剂盒回收微量 DNA 回收率

- 样品类型(模拟样品)：添加稀释过的 DL 2000 Marker 的 RNase Free Water 或猪血浆
- 样品用量：300ul
- 提取方法：磁珠法
- 提取时间：35 分钟
- 检测试剂盒：R6628
- 检测方法：qubit 仪
- 实验数据(Qubit 数据)

qubit 值	回收后总量	折算后回收率	样品类型
2.93	132.60	83%	300ul 猪血浆血浆添加 200ng DL2000 DNA Marker (样品制作方法：取 300ul 猪血浆，加入 100ul Buffer CFL 混匀后，再添加 1ul 200ng DL2000 DNA Marker.)
3.04	138.10	86%	
2.96	134.10	84%	
3.01	136.60	85%	

实验结论：本次实验，通加添加定量稀释后的 DL2000 DNA Marker 至猪血浆样品中进行模拟验证 R6628 试剂盒的 DNA 回收率。经试剂盒回收率后，用 Qubit 进行测量。结果表明：

该实验表明 R6628 试剂盒对 DNA 有很高的回收率，回收率超过 80%，未能达到 95%的的回收率，可能是有少量的 DNA 未能从磁珠中完全洗出，还有结合，清洗过程会有少量的损失。

(实验步骤参数试剂盒)

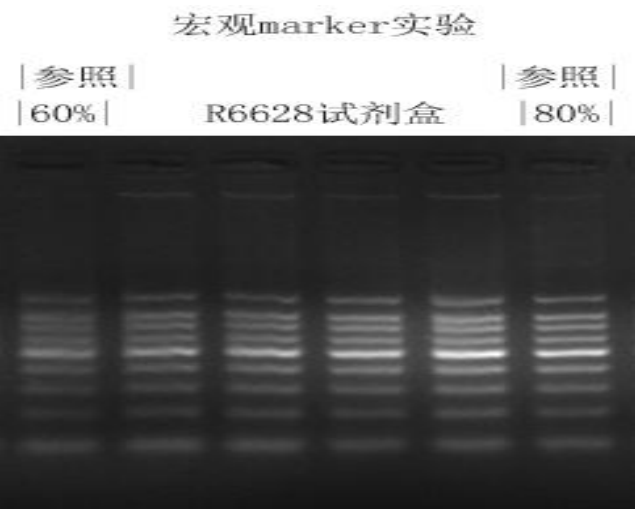
实验 2：验证 R6628 试剂盒回收宏观 marker 效果(短片段回收率)

- 样品类型：定量添加 50bp DNA marker 的猪血浆[样品制备方法：取 300ul 猪血浆，加入 100ul Buffer CFL 混匀后，放置 5 分钟灭活核酸酶后，再加入 20ul 50bp DNA Marker，然后按 Kit 进行操作]
- 样品用量：300ul
- 洗脱体积：50ul
- 提取方法：磁珠法
- 提取时间：35 分钟
- 检测试剂盒：R6628
- 检测方法：Nanodrop 和电泳
- 实验数据：

Nanodrop 数据：

核酸(ng/ul)	回收后的核酸总量	宏观 DNA Marker 回收率	A260/A280	A260/A230
50.29	2.51	84%	1.80	1.54
52.93	2.65	88%	1.81	1.41
48.43	2.42	81%	1.89	1.42
51.42	2.57	86%	1.88	1.43

电泳图：



- 本次实验，通加添加大量的 50bp DNA Marker(~3ug)至猪血浆中进行模拟验证试剂盒的 DNA 回收率、短片段回收率，以及核酸纯度。纯化的 DNA 用电泳和 Nanodrop 进行分析，结果：
- 1： A260/280 在 1.7-1.8 之间，表明蛋白质清除干净。
 - 2： 通过电泳来看，50bp DNA 片段可以回收，DNA 回收率能达到 80%。
 - 3： 整体 DNA 回收率可以超过 80%。

实验 3: 验证 R6628 试剂盒回收 miRNA 效果

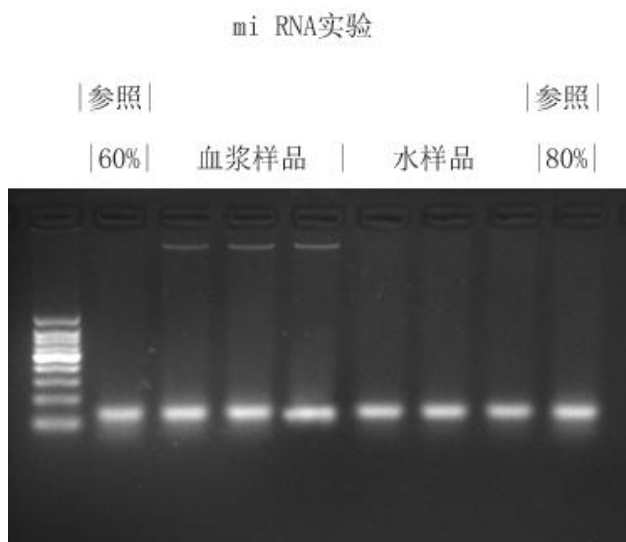
- 样品类型：定量添加 miRNA 的猪血浆 [样品制备方法：取 300ul 猪血浆或 300ul 纯水样品，加入 100ul Buffer CFL 混匀后，放置 5 分钟灭活核酸酶后，再加入 20ul (10ug) 组织富集的 miRNA 到样品中，然后按试剂盒进行操作。】
- 洗脱体积：50ul
- 提取方法：磁珠法
- 提取时间：35 分钟
- 检测试剂盒：R6628 试剂盒
- 检测方法：nanodrop、电泳

实验数据:

Nanodrop 数据:

回收后的 核 酸 浓 度 (ng/ul)	回 收 后 的 核 酸 总 量 (ng)	折算后回收率	A260/A280	A260/A230	备注
148.03	7.40	93%	1.88	1.79	取 300ul 猪血浆，加入 100ul Buffer CFL 混匀后，放置 5 分钟灭活核酸酶后，再 加入 20ul (10ug) 组织富集的 miRNA 到 样品中，然后按试剂盒进行操作。
149.75	7.49	94%	1.86	1.82	
130.97	6.55	82%	1.92	1.90	
142.15	7.11	89%	2.01	1.84	取 300ul 纯水样品，加入 100ul Buffer CFL 混匀后，放置 5 分钟灭活核酸酶后， 再加入 20ul (10ug) 组织富集的 miRNA 到样品中，然后按试剂盒进行操作。
144.22	7.21	90%	2.01	1.78	
152.96	7.65	96%	2.03	1.81	

电泳图:



本次实验,通过添加大量的组织 miRNA(~1ug)至猪血浆中进行模拟验证试剂盒的 miRNA 回收率以及核酸纯度。纯化的 RNA 用电泳和 Nanodrop 进行分析,结果:

- 1: A260/280 在 1.9-2.0 之间，表明蛋白质清除干净。
- 2: 50bp DNA Marker 作为参考，本次添加 miRNA 为肝脏组织中纯化的小于 200nt 的 5SRNA（参考 R4310），其片段范围在 50-75nt 之间，电泳回收率分析，回收率超过 80%。
- 3: 从 OD 值分析，miRNA 回收率超过 80%。

实验 4：验证 R6628 试剂盒回收产物对定量 RT-PCR 的影响

- 样品类型：定量添加 RNA 病毒的猪血浆 [样品制备方法：取 300ul 猪血浆或 300ul 纯水样品，加入 1ul 新城疫 RNA 病毒到样品中，然后按试剂盒进行操作，得到的产物用荧光定量 RT-PCR 分析】
- 对照试剂盒：采用标准的病毒试剂盒(IVD5412) 作为参考品.[样品制备方法：取 0.2ml 猪血浆或 0.2ml 纯水样品，加入 1ul 新城疫 RNA 病毒到样品中，然后按试剂盒进行操作，得到的产物用荧光定量 RT-PCR 分析】
- 洗脱体积：50ul
- 提取方法：磁珠法
- 提取时间：35 分钟
- 检测试剂盒：R6628 试剂盒
- 检测方法：荧光定量 RT-PCR

荧光定量 PCR 数据：

测试条件	备注	Ct	扩增曲线图
R6628 试剂盒	血浆样品	21.93	
		21.60	
	水样品	21.40	
		21.61	
标准病毒试剂盒	血浆样品	21.68	
	水样品	21.60	

实验结论：

- 1： R6628 从血浆，纯水样品中回收到的病毒 RNA，进行定量 PCR 时，CT 值没有差异，表明试剂盒可以高效去除血浆中的各种抑制物。
- 2： R6628 得到的产物与标准的病毒试剂盒得到的产物，进行定量 PCR 时，CT 值没有差异，表明 R6628 在核酸回收率、核酸纯度都在理想范围。

综述：

R6628 适合于从血浆和血清等样品中提取 DNA/RNA/miRNA，DNA/RNA/miRNA 回收率都高达 80%以上，核酸纯度 A260/280 也在 1.7-2.0，是一个经济方便的试剂盒。