

D6312 性能验证数据

A: 全血 DNA 提取验证

1. 试剂的分装

按下表把洗涤液和洗脱液加到深孔板的对应的孔中。

孔的位置	试剂的名称和用量
第 2 或 8 排孔	Buffer BXW1: 700 μ l
第 3 或 9 排孔	Buffer BXW1: 700 μ l
第 4 或 10 排孔	70%乙醇: 700 μ l
第 5 或 11 排孔	70%乙醇: 700 μ l
第 6 或 12 排孔	Elution Buffer: 100 μ l
第 1 或 7 排孔	1. Proteinase K: 20 μ l, MagPure Particles II: 20 μ l, 和 200 μ l Buffer NAL 2. 样品: 200 μ l 全血样品, 先运行预处理程序, 70 度加热拍打 13 分钟, 结束后停止机器, 取出 96 孔板。 3. 最后加入 Buffer MBD400 μ l (已加无水乙醇) 4. 之后运行结合程序。

2. 仪器参数设置

按下表设置 smart32 的运行程序的参数

1. 预处理:

孔位	等待时间	混合时间	速度	吸磁	温度
1	0	13 min	快	0 次	70 $^{\circ}$ C

2. 结合程序:

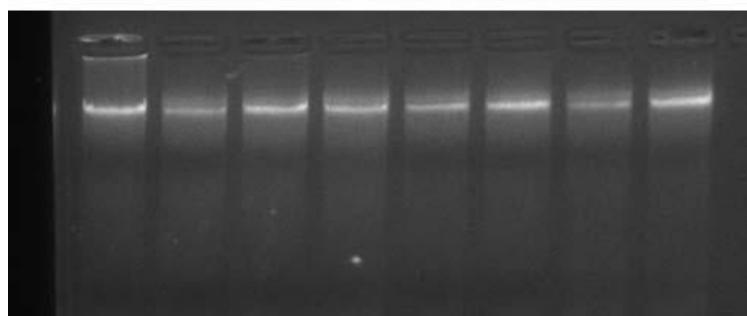
孔位	等待时间	混合时间	速度	吸磁	温度
1	0	5 min	快	3 次	55 $^{\circ}$ C
2	0	2 min	快	2 次	
3	0	2 min	快	2 次	
4	0	2 min	快	2 次	
5	0	1 min	快	2 次	
6	2 min	10 min	快	60 秒	55 $^{\circ}$ C
5	0	1 min	快		

取出纯化后 DNA, 测量 OD 值

样品编号	浓度 (ng/ul)	A260/280	A260/230	洗脱体积	产量 (ug)
e06209	34.6	1.95	1.94	100ul	3.46
e06211	65.9	1.85	1.93	100ul	6.59
e06214	60.3	1.83	1.84	100ul	6.03
e06217	78	1.83	1.92	100ul	7.8
e06221	47.4	1.85	1.69	100ul	4.74
e06224	147.6	1.89	2.11	100ul	14.76
e06151	141.3	1.85	2.11	100ul	14.13
e06150	91.6	1.83	1.57	100ul	9.16
e06195	32.2	1.87	1.66	100ul	3.22
e06154	42.7	1.89	1.81	100ul	4.27
e06156	73.2	1.86	1.98	100ul	7.32
e06281	66.8	1.82	2	100ul	6.68
e06282	99.9	1.84	2.12	100ul	9.99
e06283	77.8	1.83	1.85	100ul	7.78
e06287	48.2	1.79	1.61	100ul	4.82
e06280	62.1	1.81	1.67	100ul	6.21
1	84.6	1.95	2.25	100ul	8.46
2	109	1.98	2.16	100ul	10.9
3	100	1.99	2.21	100ul	10
4	112.2	1.99	2.21	100ul	11.22
5	96.6	1.98	2.06	100ul	9.66
6	82	1.98	2.19	100ul	8.2
7	107.5	1.99	2.2	100ul	10.75
8	118.3	1.98	2.21	100ul	11.83

取出纯化后 DNA，对 1-8 样品进行电泳检测

|1| |2| |3| |4| |5| |6| |7| |8|



B: 血片 DNA 提取

手工法:

1. 从成都博奥得到 12 个干血片样品, 每个离心管中含有 1 个 3mm 大小血片。
2. 加入 20 μ l Proteinase K 和 300 μ l Buffer ATL。55 $^{\circ}$ C 振荡温育 60 分钟。加入 150 μ l Buffer AL 至样品中, 涡旋混匀。70 $^{\circ}$ C 振荡温育 15 分钟。
3. 短暂离心, 转移所有的消化液至新的 1.5ml 离心管中。
4. 加入 20 μ l MagBind Particles 和 400 μ l Buffer BD 至样品中。颠倒混匀 20~30 次。室温静置 5 分钟, 其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 5 分钟。倒弃或吸弃溶液。
5. 加入 50 μ l Buffer BW1, 涡旋 15 秒重悬磁珠。转移至磁力架上吸附 2 分钟。倒弃或吸弃溶液。
6. 加入 600 μ l 70%乙醇, 涡旋 15 秒重悬磁珠。转移至磁力架上吸附 3 分钟。倒弃或吸弃溶液。
7. 重复第 5 步一次。
8. 短暂离心收集管壁上的液滴, 转移至磁力架上吸附 1 分钟, 吸弃所有溶液。
9. 打开管盖, 空气干燥 3 分钟。
10. 加入 30 μ l Elution Buffer, 涡旋打散磁珠。60 $^{\circ}$ C 振荡温育 10 分钟。若无振荡温匀, 在涡旋 1~2 次加速 DNA 的溶解。转移至磁力架上吸附 5 分钟, 把 DNA 转移至新的离心管中。

取出纯化后 DNA, 测量 OD 值

样品编号	浓度 (ng/ μ l)	A260/280	A260/230	洗脱体积	产量 (μ g)
1	14.41	2.14	2.71	30 μ l	0.43
2	15.62	1.91	2.38	30 μ l	0.47
3	9.97	1.87	2.45	30 μ l	0.30
4	11.82	1.95	3.09	30 μ l	0.35
5	21.65	2.38	0.86	30 μ l	0.65
6	18.21	2.06	0.81	30 μ l	0.55
7	19.73	1.97	0.80	30 μ l	0.59
8	21.98	2.16	0.98	30 μ l	0.66
9	27.05	2.47	0.96	30 μ l	0.81
10	22.50	1.79	0.72	30 μ l	0.67
11	19.03	2.19	0.95	30 μ l	0.57
12	21.09	1.86	1.04	30 μ l	0.63

机器做法:

1. 样品的消化

1. 用打孔器在 FTA Card 或干血片上打出 2 个 3mm 直径的血片, 并转移至离心管中。加入 20 μ l Proteinase K 和 300 μ l Buffer ATL, 55 $^{\circ}$ C 振荡温浴 60 分钟。短暂离心收集管壁的液滴, 加入 150 μ l Buffer AL 至样品中。70 $^{\circ}$ C 振荡温浴 10 分钟。
2. 短暂离心收集管壁的液滴, 转移 400 μ l 处理后的样品至 96 孔板中。

2. 试剂的分装

按下表把洗涤液和洗脱液加到深孔板的对应的孔中。

孔的位置	试剂的名称和用量
第 2 或 8 排孔	Buffer BXW1: 500 μ l
第 3 或 9 排孔	Buffer BXW1: 500 μ l
第 4 或 10 排孔	80%乙醇: 500 μ l
第 5 或 11 排孔	80%乙醇: 700 μ l
第 6 或 12 排孔	Elution Buffer: 50 μ l

孔的位置	试剂的名称和用量
第 1 或 7 排孔	1. 样品: 400ul 经过处理的样品 2. 加入 20ul MagBind Particles 和 400ul Buffer BD (已加无水乙醇)

3. 仪器参数设置

按下表设置 smart32 的运行程序的参数

结合程序:

孔位	等待时间	混合时间	速度	吸磁	温度
1	0	8 min	快	5 次	55°C
2	0	1 min	快	4 次	
3	0	1 min	快	3 次	
4	0	1 min	快	3 次	
5	0	1 min	快	3 次	
6	3 min	10 min	快	4 次	55°C
5	0	1 min	快		

取出纯化后 DNA, 测量 OD 值

样品编号	浓度 (ng/ul)	A260/280	A260/230	洗脱体积	产量 (ug)
81	15	1.79	1.2	30ul	0.45
112	9	1.71	0.83	30ul	0.27
435	18.6	1.8	1	30ul	0.558
3201	21.7	1.84	1.56	30ul	0.651
225	10.1	1.93	1.44	30ul	0.303
493	32.3	1.81	1.69	30ul	0.969
162	14	1.89	1.05	30ul	0.42
37	20.4	1.85	1.66	30ul	0.612
78	18.9	1.91	1.47	30ul	0.567
94	20.8	1.87	1.49	30ul	0.624
181851	22.1	1.86	1.61	30ul	0.663
181891	21.5	1.91	1.51	30ul	0.645
181900	20.7	1.91	1.52	30ul	0.621
181903	21	1.92	1.51	30ul	0.63