

美基 R4150 试剂盒性能验证报告

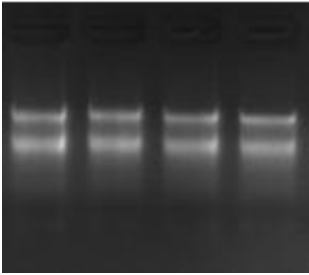
实验 1: 美基 R4150 用于常规/多糖/多酚植物样品的 RNA 提取性能验证

- 样品类型: 100mg 植物叶片
- 洗脱体积: 100ul
- 提取时间: 20 分钟(单个样品提取时间)
- 检测试剂盒: 美基 R4150 试剂盒
- 检测方法: nanodrop 和琼脂糖凝胶电泳

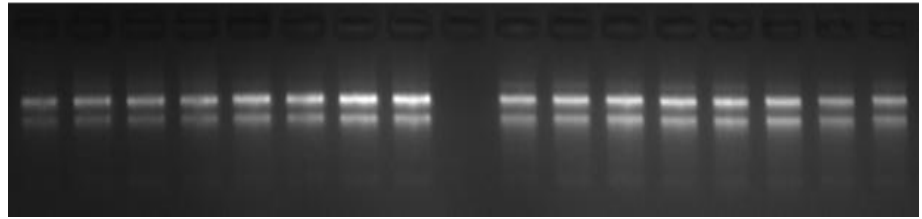
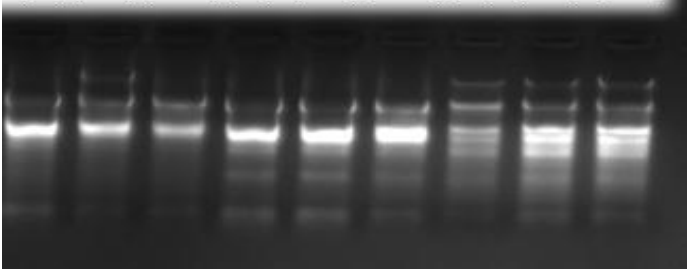
实验数据:

样品类型	样品	样品用量	抗氧化剂	RNA 浓度 (ng/ul)	核酸产量 ug	A260/280	A260/230
普通多酚样品	榕树 叶片	100mg	巯基乙醇	155	15.58	2.09	1.79
			TCEP	177	17.77	2.13	1.84
	芒果 叶片	100mg	巯基乙醇	364	36.42	2.19	1.23
			TCEP	453	45.35	2.11	2.1
	桉树 叶片	100mg	巯基乙醇	296	29.58	2.16	1.32
			TCEP	299	29.95	2.11	1.96
难提多酚样品	茶树 叶片	100mg	巯基乙醇	121	12.13	1.79	1.17
			TCEP	120	12.21	1.89	1.66
	枇杷 叶片	100mg	巯基乙醇	141	14.14	2.10	1.33
			TCEP	155	15.52	2.12	2.1
	葡萄 叶片	100mg	巯基乙醇	211	21.17	2.11	1.31
			TCEP	227	22.74	2.19	2.05
多糖植物	月季 叶片	100mg	巯基乙醇	233	23.34	2.10	1.30
			TCEP	267	26.73	2.19	2.11
	番薯 叶片	100mg	巯基乙醇	530	53.5	2.12	2.41
			TCEP	510	51.5	2.03	2.12
	构树 叶片	100mg	巯基乙醇	426	42.67	2.09	1.41
			TCEP	439	43.91	2.19	1.87
常规植物	辣椒 叶片	100mg	巯基乙醇	285	28.58	2.18	1.28
			TCEP	314	31.47	2.11	2.06
	番茄 叶片	100mg	巯基乙醇	307	30.76	2.11	1.48
			TCEP	296	29.64	2.12	1.84

| 月季 || 桉树 |



| 茶树 || 枇杷 || 葡萄 || 芒果 | | 辣椒 || 番茄 || 构树 || 榕树 |

| 构树 || 番薯 || 番茄 |
|5| |20| |NC| |5| |20| |NC| |5| |20| |NC|

实验结论：【一种通用无气味植物 RNA 提取试剂盒】

本次实验采用的难提多酚样品、易提多酚样品、多糖样品、以及常规植物叶片为作为样品，用液氮研磨法磨成细小粉末后，用美基多糖多酚植物 RNA 抽提试剂盒（R4150），进行提取，并同时对比了添加 5% 巯基乙醇或 20um TCEP（无毒无气味的巯基乙醇代替物）进行提取。样品用量约为 100mg，洗脱体积为 100ul，最后用 Nanodrop 2100 测量浓度和纯度，取 1-2ug 上样于 1% 的琼脂数凝胶进行电泳分析，从实验结果来看，可以得到以下结论。

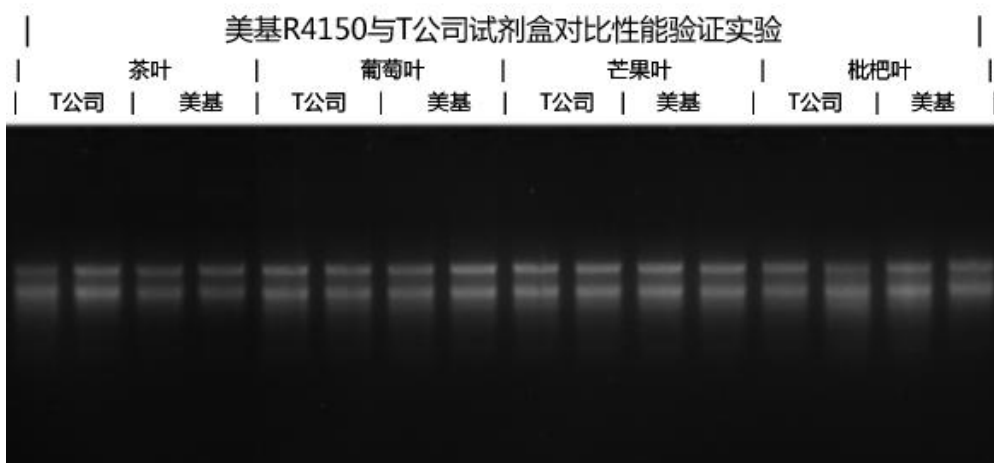
1. 美基的 R4150 试剂盒，可以采用无气味的 TCEP 代替强烈气味的巯基乙醇，与未添加 TCEP 和巯基乙醇的对比组来看，TCEP 和巯基乙醇可明显防止裂解液发生褐化反应，从电泳来看，添加 TCEP 和巯基乙醇还能防止 RNA 降解（与未添加组对比，结果未显示）。从 OD 值分析来看，在裂解液中添加 TCEP(20Mm)和添加 5% 巯基乙醇对比，TCEP 作为抗氧化剂，得到的 RNA 产量更高，A260/230 比值更好，比值更接近于 2.0，这是因为 TCEP 比巯基乙醇有更强的破坏蛋白质二硫键，提高裂解能力。
2. 从 OD 值来看，R4150 得到的 RNA 产量很高，100mg 不同的植物叶片，RNA 产量为 12-60ug。RNA 提取的纯度高，A260/280 在 2.0-2.1，A260/230 在 1.5-2.4。从电泳来看，不加入 DNase 处理，电泳图上也看不到 DNA 污染，表明 DNA 过滤柱能高效去除 DNA。
3. RNA 完整，从电泳来看，部分植物叶片，显示出理想的 18S 和 28S 条带（1: 2 亮度）表明 RNA 未发生降解。
4. 部分植物叶片（构树，番薯，番茄）则因物种特殊显示出多条型的条带，但也可以判断出未发生降解【图 3： RNA 上样量过多，电泳未充分跑开，大片段未充分染色，电泳图稍差】
5. 本产品 R4150 是从美基的 R4151 演化而来，采用更为温和的裂解方法，减少对部分细胞器破坏，所以能成功应用于各种类型的样品，包括多酚多糖的样品。但由于裂解液较为温和，过 RNA 柱时容易产生堵柱的风险，所以样品量建议在 50-100mg。【R4151 不适合于从多酚样品，不能用于葡萄、茶叶、桉树，但 R4151 处理易提样品时可以用到 200~300mg】。

实验 2：美基 R4150 与 T 公司多糖多酚试剂盒的提取性能对比

- 样品类型：100mg 植物叶片
- 洗脱体积：100ul
- 提取时间：30 分钟
- 检测试剂盒：美基 R4150、T 公司的多糖多酚提取试剂盒
- 检测方法：nanodrop 和琼脂糖凝胶电泳

实验数据：

样品	试剂盒	样品用量	抗氧化剂	核酸(ng/ul)	产量 (ug)	A260/A280	A260/A230
茶叶	T公司	100mg	5%巯基乙醇	119	11.95	2.12	0.98
		100mg		125	12.51	2.04	0.78
	美基R4150	100mg	无味的20mM	121	12.10	1.89	1.77
		100mg	TCEP	119	11.91	2.07	1.56
葡萄叶	T公司	100mg	5%巯基乙醇	179	17.89	2.16	1.21
		100mg		202	20.22	2.18	1.19
	美基R4150	100mg	无味的20mM	184	18.36	2.17	1.81
		100mg	TCEP	275	27.52	2.20	2.11
枇杷叶	T公司	100mg	5%巯基乙醇	202	20.19	2.18	1.39
		100mg		188	18.77	2.17	1.43
	美基R4150	100mg	无味的20mM	174	17.42	2.07	1.75
		100mg	TCEP	208	20.75	2.11	1.98
芒果叶	T公司	100mg	5%巯基乙醇	117	11.73	2.14	1.47
		100mg		110	11.03	2.17	1.52
	美基R4150	100mg	无味的20mM	111	11.13	2.16	1.77
		100mg	TCEP	125	12.49	2.13	1.61
辣椒叶	T公司	100mg	5%巯基乙醇	283	28.30	2.19	1.44
		100mg		300	29.97	2.17	1.84
	美基R4150	100mg	无味的20mM	285	28.51	2.18	2.28
		100mg	TCEP	314	31.35	2.21	2.06
番茄叶	T公司	100mg	5%巯基乙醇	401	40.08	2.20	1.74
		100mg		419	41.88	2.01	1.53
	美基R4150	100mg	无味的20mM	411	41.13	2.21	2.25
		100mg	TCEP	394	39.44	2.24	2.03
月季叶	T公司	100mg	5%巯基乙醇	211	21.12	2.19	1.00
		100mg		258	25.76	2.19	1.25
	美基R4150	100mg	无味的20mM	233	23.34	2.20	1.80
		100mg	TCEP	267	26.73	2.19	2.11
构树叶	T公司	100mg	5%巯基乙醇	269	26.95	2.21	0.58
		100mg		298	29.78	2.22	0.92
	美基R4150	100mg	无味的20mM	305	30.49	2.11	2.08
		100mg	TCEP	290	28.98	2.08	1.89



实验结论：

本次实验采用的难提多酚样品、易提多酚样品、多糖样品、以及常规植物叶片为作为样品，用液氮研磨法磨成细小粉末后，用美基多糖多酚植物 RNA 抽提试剂盒（R4150）和 T 公司的多糖多酚提取试剂盒进行提取，提取过程都省略 DNase I 消化步骤。美基 R4150 采用 TCEP 作为抗氧化剂，T 公司按说明书添加 5% 巯基乙醇作为抗氧化剂。样品用量约为 100mg，洗脱体积为 100ul，最后用 Nanodrop 2100 测量浓度和纯度，取 1-2ug 上样于 1% 的琼脂糖凝胶进行电泳分析，从实验结果来看，可以得到以下结论。

1. 美基 R4150 整个提取过程无气味，对实验室环境和操作人员友好。T 公司试剂盒添加大量的 2-巯基乙醇（5%），气味较其难闻，转移上清液、上柱离心、倒弃废液时都产生大量难闻气味，对操作人员不友好。
2. 从 OD 值来看，美基 R4150 提取的 A260/230 明显好于 T 公司，产量也稍高一些，但不算明显。
3. 从电泳来看，两个试剂盒完整性、DNA 污染程度没有明显差别。
4. 价格对比：R4150-02，50Preps，785 元，单人份为 15.7 元。T 公司多糖多酚，50Preps，1480 元，单人份为 29.6 元。价格相差一倍，所以推荐使用美基的 R4150。