

# 1: 柱法试剂盒中, Proteinase K, Magen Protease(冻干粉), Magen Protease(液体) 对比效果。

- 样品类型: 动物血浆, 添加 HBV 病毒和新城疫活疫苗。
- 对照: Qiagen Protease K, Magen Protease (干粉), Magen Protease (液体), 以及 Proteinase K
- 实验流程: 200ul 接种病毒的动物血浆样品, 加入 200u Buffer AL/5.6ug Carrier RNA, 混匀后, 加入 20ul Proteinase K, 20ul magen Protease (干粉)、或 20ul Magen Protease(液体酶), 55 度或 70 度水浴 10min, 最后加入 250ul 无水乙醇, 涡旋混匀, 过柱, 洗涤三次, 最后用 100ul RNase Free Water 洗脱。

## RNA 病毒 (活疫苗) 实验数据 (70 度温育数据) :

病毒浓度	条件	Ct	扩增曲线图
稀释 1000 倍	20ul Proteinase K (20mg/ml)	24.12 23.86	
	20ul magen Protease 冻干粉, 8AU/ml	23.58 23.77	
	20ul Magen Protease 液体酶, 8AU/ml	23.54 23.51	
稀释 10000 倍	20ul Proteinase K (20mg/ml)	27.15 26.87	
	20ul magen Protease 冻干粉, 8AU/ml	26.09 26.59	
	20ul Magen Protease 液体酶, 8AU/ml	26.58 26.72	
<b>实验结论:</b> 1: magen Protease (干粉)、Magen Protease(液体酶) 在 RNA 病毒提取中, 与对照 pk 提取效果一致, 而且性能更佳。 2: 55 度与 70 度温育时, 70 度稍为稳定一些, 但结果差异不明显。			

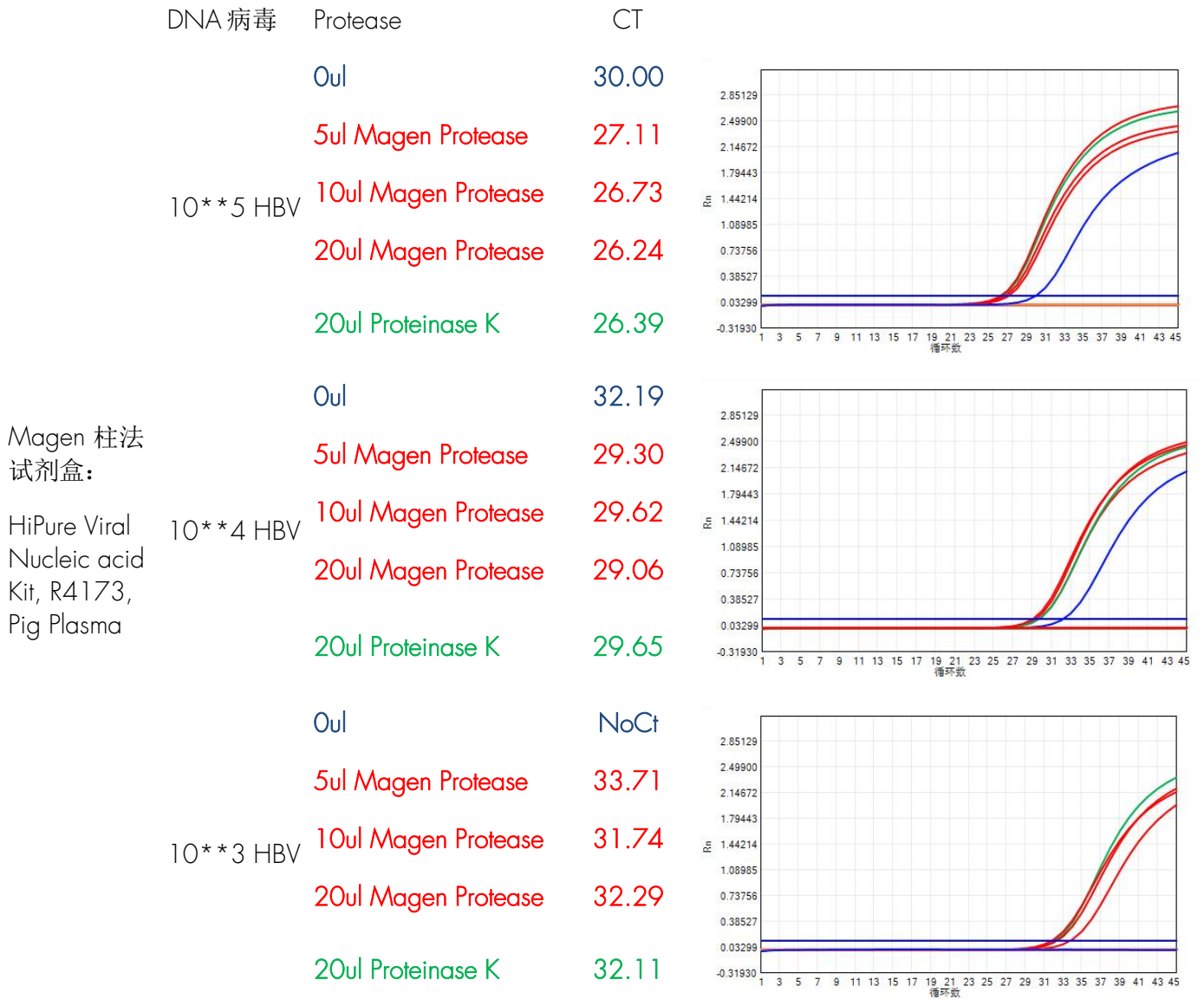
DNA 病毒(HBV)实验数据:

病毒浓度	条件	Ct	扩增曲线图
10 的 5 次方	20ul Proteinase K (20mg/ml)	26.76	
		27.05	
	20ul Magen Protease 冻干粉, 8AU/ml	26.44	
		26.62	
	20ul Magen Protease 液体酶, 8AU/ml	26.13	
		26.08	
10 的 4 次方	20ul Proteinase K (20mg/ml)	29.67	
		29.54	
	20ul Magen Protease 冻干粉, 8AU/ml	29.69	
		29.45	
	20ul Magen Protease 液体酶, 8AU/ml	28.99	
		28.71	
实验结论:			
1: Magen Protease (干粉)、Magen Protease(液体酶) 在 RNA 病毒提取中, 与对照 pk 提取效果一致, 而且性能更佳。			
2: 55 度与 70 度差异不明显, 但 70 度温育更为稳定。			

## 2: 柱法/磁珠法试剂盒中, Proteinase K, Magen Protease(液体) 不同用量的对比效果。

Magen Protease/Proteinase K 在柱法试剂盒的差异(HBV,DNA 病毒)

(在大部分病毒提取中, HBV 对蛋白酶最为敏感)

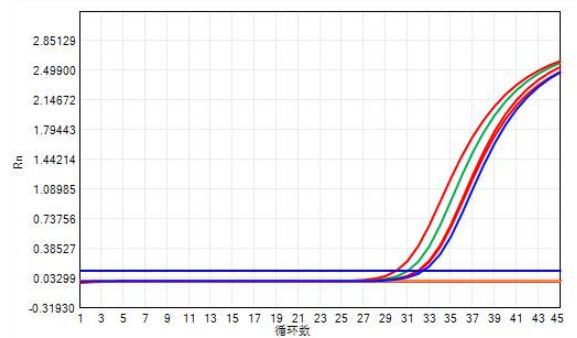
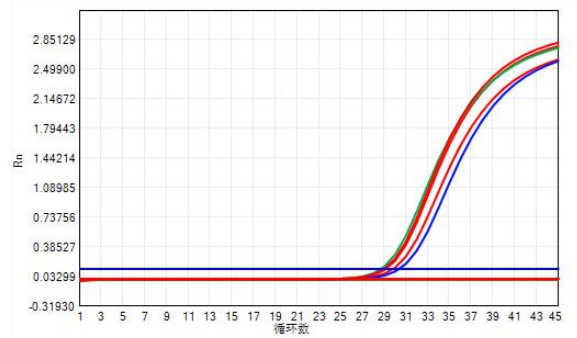
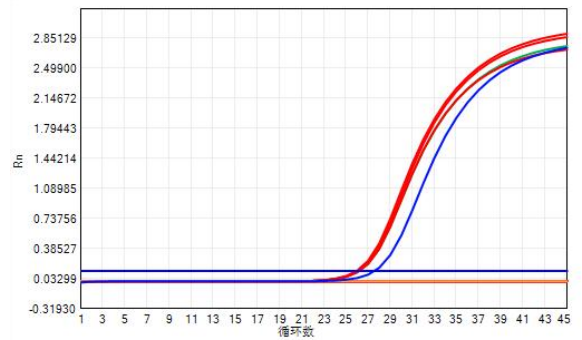


结论: 在柱法试剂盒, HiPure Viral RNA/DNA Kit 中, 不添加蛋白酶对实验有明显的影 响。在高浓度和中浓度实验中, 显著落后, 且在低浓度中无扩增。Magen Protease 用量在高浓度 HBV 中有差别, 达至 10ul 以上较好, 在中低浓度中, 10ul, 20ul magen Protease 用量与 20ul Proteinase K 无显著差异。

## Magen Protease/Proteinase K 在磁珠法试剂盒的差异(HBV,DNA 病毒)

(在大部分病毒提取中, HBV 对蛋白酶最为敏感)

DNA 病毒	Protease	CT
10**5 HBV	0ul	27.52
	5ul Magen Protease	26.16
	10ul Magen Protease	26.07
	20ul Magen Protease	25.93
	20ul Proteinase K	26.14
	0ul	30.31
MagPure Viral Nucleic acid Kit, IVD5412 Pig Plasma	5ul Magen Protease	29.76
	10ul Magen Protease	29.12
	20ul Magen Protease	28.99
	20ul Proteinase K	28.63
10**3 HBV	0ul	32.39
	5ul Magen Protease	32.04
	10ul Magen Protease	31.95
	20ul Magen Protease	29.97
	20ul Proteinase K	31.03



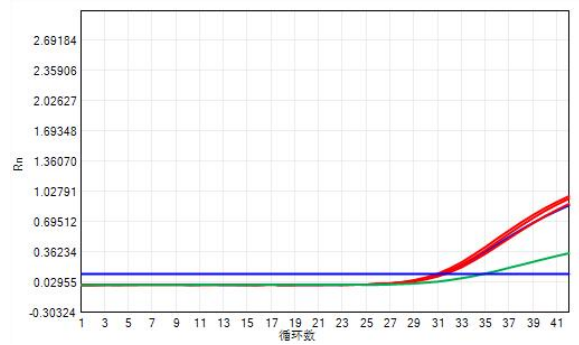
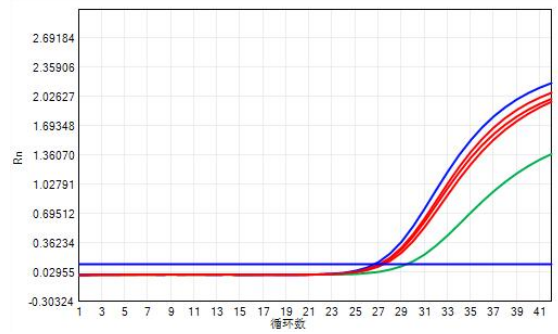
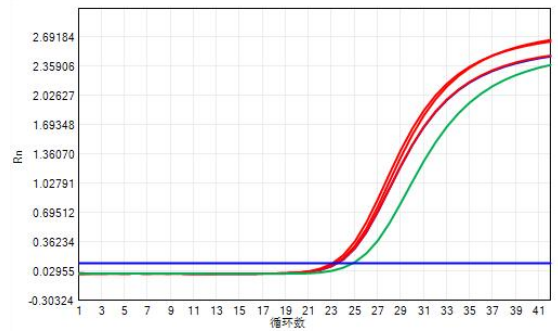
### 结论:

1: 在磁珠法试剂盒, MagPure Viral RNA/DNA Kit中, 不添加蛋白酶对实验有影响, 但差异性明显好于过柱法。可能的原因是无蛋白酶时, 蛋白析出引起柱子堵塞而造成回收率显著下降。在磁珠法, 过量的磁珠以及无堵塞现象, 所以磁珠法产品对蛋白酶的敏感性下降, 在低浓度样品中已经无显著差异。

2: 在磁珠法产品中, Magen Protease, 10ul 和 20ul 在各个梯度中, 已达到 20ul Proteinase K 的效果。

## Magen Protease/Proteinase K在柱法试剂盒的差异(新城疫疫苗, RNA 病毒)

RNA 病毒	Protease	CT
1000 倍 新城疫疫苗	0ul	24.84
	5ul Magen Protease	23.40
	10ul Magen Protease	23.07
	20ul Magen Protease	23.31
	20ul Proteinase K	23.46
Magen 柱法试剂盒: HiPure Viral Nucleic acid Kit, R4173, Pig Plasma	0ul	29.43
	5ul Magen Protease	27.16
	10ul Magen Protease	27.43
	20ul Magen Protease	27.09
20000 倍 新城疫疫苗	0ul	34.84
	5ul Magen Protease	31.61
	10ul Magen Protease	31.27
	20ul Magen Protease	30.90
100000 倍 新城疫疫苗	20ul Proteinase K	31.26



### 结论:

- 1: 在柱法试剂盒, HiPure Viral RNA/DNA Kit 中, 不添加蛋白酶对实验有影响。在高浓度和中浓度实验中, 显著落后。
- 2: 在柱法试剂盒中, RNA 病毒与 HBV 相比, 敏感性下降。

Magen Protease/Proteinase K 在**磁珠法**试剂盒的差异(新城疫疫苗, RNA 病毒)

HBV	Protease	CT	
1000 倍 新城疫疫苗	0ul	23.18	
	5ul Magen Protease	23.11	
	10ul Magen Protease	23.08	
	20ul Magen Protease	22.94	
	20ul Proteinase K	23.05	
Magen 磁珠法试剂盒: MagPure Viral Nucleic acid Kit, IVD5412 Pig Plasma	0ul	26.53	
	5ul Magen Protease	26.48	
	10ul Magen Protease	27.02	
	20ul Magen Protease	26.67	
	20ul Proteinase K	26.59	
100000 倍 新城疫疫苗	0ul	31.16	
	5ul Magen Protease	31.26	
	10ul Magen Protease	30.80	
	20ul Magen Protease	28.73	
	20ul Proteinase K	30.27	

结论:

1: 在磁珠法试剂盒, MagPure Viral RNA/DNA Kit 中, 蛋白酶对 RNA 病毒的实验无明显影响。

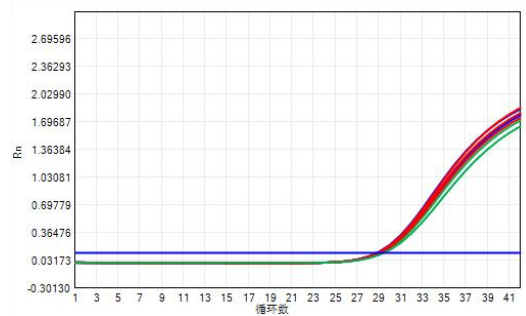
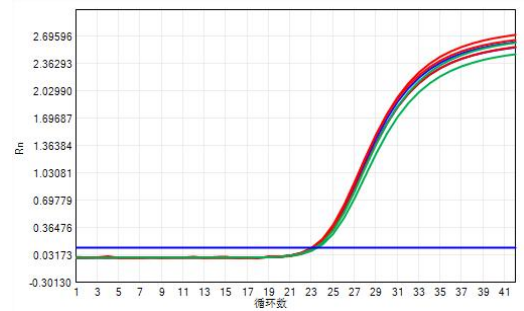
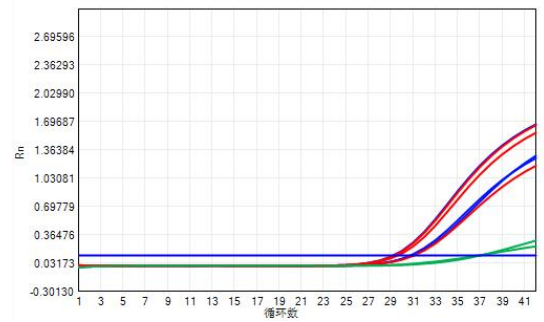
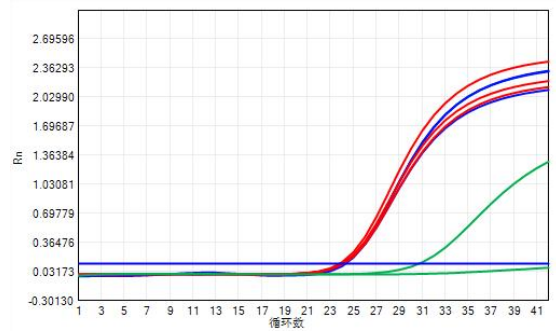
### 3. Magen Protease VS Qiagen Protease

Magen Protease VS Qiagen Protease

RNA 病毒	Protease	CT	
1000 倍 新城 疫疫苗	0ul	NoCt	
	5ul Magen Protease	24.11	
	10ul Magen Protease	23.99	
	20ul Magen Protease	23.73	
	0ul	30.68	
	5ul Qiagen Protease	24.12	
	10ul Qiagen Protease	24.28	
	20ul Qiagen Protease	24.02	
	50000 倍 新城 疫疫苗	0ul	36.79
		5ul Magen Protease	31.06
10ul Magen Protease		29.24	
20ul Magen Protease		29.57	
0ul		36.96	
5ul Qiagen Protease		29.18	
10ul Qiagen Protease		30.69	
20ul Qiagen Protease		30.90	
1000 倍 新城 疫疫苗		0ul	23.25
		5ul Magen Protease	23.20
	10ul Magen Protease	22.98	
	20ul Magen Protease	23.01	
	0ul	23.47	
	5ul Qiagen Protease	23.17	
	10ul Qiagen Protease	23.09	
	20ul Qiagen Protease	23.07	
	50000 倍 新城 疫疫苗	0ul	29.39
		5ul Magen Protease	29.08
10ul Magen Protease		28.82	
20ul Magen Protease		28.96	
0ul		29.18	
5ul Qiagen Protease		28.74	
10ul Qiagen Protease		28.92	
20ul Qiagen Protease		29.01	

柱法试剂盒  
猪血浆样品

磁珠法试剂盒  
猪血浆样品



结论:

- 1: 在磁珠法试剂盒, MagPure Viral RNA/DNA Kit 中, 蛋白酶对 RNA 病毒的实验无明显影响。
- 2: Magen Protease 与 Qiagen Protease 在两种产品表现相当, 柱法产品中, magen Protease 稍好于 qiagen Protease.