

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利说明书

C12N 15/10 (2006.01)

C07H 21/00 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

专利号 ZL 200410104900.7

[45] 授权公告日 2009年6月3日

[11] 授权公告号 CN 100494373C

[22] 申请日 2004.12.27

[21] 申请号 200410104900.7

[73] 专利权人 财团法人工业技术研究院

地址 台湾省新竹县竹东镇中兴路4段195号

[72] 发明人 黄栋梁 林上琪

[56] 参考文献

WO02090539A2 2002.11.14

WO03072830A1 2003.9.4

US6265168B1 2001.7.24

Preparation and purification of..... A. V. Heydenreich, ET AL. International Journal of Pharmaceutics, Vol. 254 No. 1. 2003

The Relationship of..... LAWRENCE LEVINE, ET AL. Biochemistry (Moscow, Russian Federation), Vol. 2. 1963

审查员 林琳

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司

代理人 周长兴

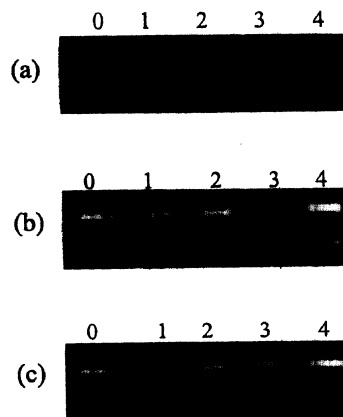
权利要求书3页 说明书9页 附图3页

[54] 发明名称

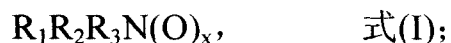
保存核酸样本的方法

[57] 摘要

本发明是有关于一种稳定或保存生物检体中核酸方法，将生物检体与一含有胺类界面活性剂的试剂进行接触，使生物检体中RNA与胺类界面活性剂形成一络合物，其中胺类界面活性剂具备如式(I)的通式： $R_1R_2R_3N(O)_x$ ，式中 R_1 与 R_2 分别为氢，含1-6个碳的烷基，含6-12个碳的芳香烃基或是含6-12个碳的烃基芳香烃基； R_3 为含1-20个碳的烷基、含6-26个碳的芳香烃基或是含6-26个碳的烃基芳香烃基；且x为0或1；胺类界面活性剂存在于试剂中的含量不限，较佳为0.001%至20%的浓度百分比；本发明还包括一种稳定或保存生物检体中核酸的试剂。



1. 一种稳定或保存生物检体中核酸的方法, 将该生物检体与一含有胺类界面活性剂的试剂进行接触, 使该生物检体中核酸与该胺类界面活性剂形成一络合物, 其中该试剂中包括羧酸、无机酸或其混合物, 其浓度范围为0.01M至1M, 且该胺类界面活性剂具备如式(I)的通式:



其中, R_1 与 R_2 分别为氢, 含1-6个碳的烷基, 含6-12个碳的芳香烃基或是含6-12个碳的烃基芳香烃基; R_3 为含1-20个碳的烷基、含6-26个碳的芳香烃基或是含6-26个碳的烃基芳香烃基; 且 x 为0或1。

2. 如权利要求1所述的方法, 其特征在于, 其中该 x 为1, R_1 与 R_2 分别为含1-6个碳的烷基, 且 R_3 为含1-20个碳的烷基。

3. 如权利要求1所述的方法, 其特征在于, 其中该 x 为0。

4. 如权利要求1所述的方法, 其特征在于, 其中该胺类界面活性剂选自下列物质所组成的群组: 十二烷胺, N-甲基十二烷胺, N,N-二甲基十二烷胺, 氧化氮N,N-二甲基十二烷胺以及4-十四烷胺。

5. 如权利要求1所述的方法, 其特征在于, 其中该试剂中所含的该胺类界面活性剂为0.001%至20%的浓度百分比。

6. 如权利要求1所述的方法, 其特征在于, 其中该试剂中还包括至少一种其它非离子界面活性剂。

7. 如权利要求6所述的方法, 其特征在于, 其中该非离子界面活性剂为聚氧化乙烯类界面活性剂。

8. 如权利要求6所述的方法, 其特征在于, 其中该非离子界面活性剂为0.01%至20%的浓度百分比。

9. 如权利要求6所述的方法, 其特征在于, 其中该非离子界面活性剂为Tween 20或Triton X-100。

10. 如权利要求1所述的方法, 其特征在于, 其中该羧酸选自下列物质所组成的群组: 顺丁烯二酸、酒石酸、柠檬酸以及草酸。

11. 如权利要求1所述的方法, 其特征在于, 其中该试剂为一液态水溶液。

12. 如权利要求11所述的方法, 其特征在于, 其中该液态水溶液的pH值为7以下。

13. 如权利要求11所述的方法, 其特征在于, 其中该液态水溶液的pH值为5以下。

14. 如权利要求1所述的方法, 其特征在于, 其中该试剂为一固态基质。

15. 如权利要求1所述的方法, 其特征在于, 其中该生物检体选自由下列物质所组成的群组: 全血液、血浆、血清、尿液、组织与细胞。

16. 一种稳定或保存生物检体中核酸的试剂, 包括一具备如式(I)的胺类界面活性剂以及浓度范围为0.01M至1M的羧酸、无机酸或其混合物,



其中, R_1 与 R_2 分别为氢, 含1-6个碳的烷基, 含6-12个碳的芳香烃基或是含6-12个碳的烃基芳香烃基; R_3 为含1-20个碳的烷基、含6-26个碳的芳香烃基或是含6-26个碳的烃基芳香烃基; 且 x 为0或1。

17. 如权利要求16所述的试剂, 其特征在于, 其中该 x 为1, R_1 与 R_2 分别为含1-6个碳的烷基, 且 R_3 为含1-20个碳的烷基。

18. 如权利要求16所述的试剂, 其特征在于, 其中该 x 为0。

19. 如权利要求16所述的试剂, 其特征在于, 其中该胺类界面活性剂选自由下列物质所组成的群组: 十二烷胺, N-甲基十二烷胺, N,N-二甲基十二烷胺, 氧化氮N,N-二甲基十二烷胺以及4-十四烷胺。

20. 如权利要求16所述的试剂, 其特征在于, 其中该胺类界面活性剂为0.001%至20%的浓度百分比。

21. 如权利要求16所述的试剂, 其特征在于, 其中还包括至少一种其它非离子界面活性剂。

22. 如权利要求21所述的试剂, 其特征在于, 其中该非离子界面活性剂为聚氧化乙烯类界面活性剂。

23. 如权利要求21所述的试剂, 其特征在于, 其中该非离子界面活性剂为0.01%至20%的浓度百分比。

24. 如权利要求21所述的试剂, 其特征在于, 其中该非离子界面活性剂为Tween 20或Triton X-100。

25. 如权利要求16所述的试剂, 其特征在于, 其中该羧酸选自由下列物质所组成的群组: 顺丁烯二酸, 酒石酸, 柠檬酸以及草酸。

26. 如权利要求16所述的试剂, 其特征在于, 其中该试剂为一液态水溶液。

27. 如权利要求26所述的试剂, 其特征在于, 其中该试剂的pH值为7以下。

28. 如权利要求26所述的试剂, 其特征在于, 其中该试剂的pH值为5以下。

保存核酸样本的方法

技术领域

本发明是关于一种保存核酸样本的试剂与方法，尤指一种适用于稳定或保存RNA样本的试剂与方法。

背景技术

目前已知，以细胞内核酸为分析标的的医学检验方式，可以预测疾病产生的可能性，并达到早期发现的目的，故核酸检验技术已成为临床生化检验发展的重要趋势。然而，进行核酸分子检测所需的核酸分子的样本准备极为不易，尤其是极具活性的RNA核酸分子。一般公知萃取纯化RNA核酸分子的方式，主要是将抽出的全血加入抗凝血剂(如EDTA)后，放在4℃环境中保存，并必须在24小时内分离出白血球完成RNA萃取；由于RNA表现量会因抗凝血剂的加入、环境温度的改变、保存时间的长短，以及白血球分离的流程，而造成改变，使得预测疾病产生可能性的困难度增加；使用目前常用的方法，最佳状况是必须在24小时内完成RNA萃取，因此临床上，医检人员将无法负荷临时大增的检体量。

目前市面上虽有Qiagen公司提出解决方案，以其发展的PAXgene RNA stabilization buffer搭配PAXgene Blood RNA Isolation Kit来稳定及萃取全血液中的核酸分子。然而从整体核酸分子检验技术的发展上，Qiagen公司提供的套组由于售价过于昂贵，使得其技术的推广有所限制。

WO2004013155一案中公开了一种稳定核酸的方法，其主要是以化学物质，于核酸分子上第2'、3'或5'的羟基形成一保护基，来修饰、保护核酸分子，使得核酸酶无法分解核酸，由此使核酸分子稳定存在于细胞中，最后再以一级胺试剂移除保护基，以利后续萃取的进行；此时所提供的一级胺试剂，主要作用在移除保护基。

在US2004048384一案中所公开的方法与装置，主要对象为一生物性样本，所公开的收集装置中含有基因诱导阻断剂(gene induction blocking

agent), 可使收集入该收集装置中的生物性样本与该阻断剂接触, 而达成稳定检体内核酸的效果; 其中所公开的阻断剂主要以四级胺类为主。

而在CA2299119一案中, 是公开一种稳定或萃取核酸的方法, 其使用含至少两个四级胺或含磷结构的阳离子聚合物来沉淀并保护核酸; US2004014703一案中同样使用含有四级胺或含磷结构的阳离子界面活性剂来沉淀并保护核酸; 上述方法所使用的试剂多以四级胺或含磷结构的阳离子聚合物来进行。

发明内容

本发明的目的在于提供一种保存核酸样本的方法。

本发明稳定核酸的方法有别于以抗凝血剂或4°C冰存的保存方法, 是利用一级、二级、三级胺界面活性剂、或不同比例的三种胺类界面活性剂混合液, 与核酸分子以离子键方式结合, 并包裹住DNA及RNA形成疏水性沉淀物, 同时可使RNA不受溶液中所含丰富RNase的破坏, 并使DNA无法复制出RNA, 以稳定进而保存全血液中核酸分子; 相对于传统保存方式, 本发明方法的稳定保存时间可大幅拉长, 且易于操作, 更容易与自动化仪器搭配以达成自动化操作的目的, 增进核酸分子检测的技术发展与应用推广。

本发明稳定或保存生物检体中RNA方法, 是将生物检体与一含有胺类界面活性剂的试剂进行接触, 使生物检体中RNA与胺类界面活性剂形成一络合物, 其中胺类界面活性剂具备如式(I)的通式: $R_1R_2R_3N(O)_x$, 式(I); 其中, R_1 与 R_2 分别为氢, 含1-6个碳的烷基, 含6-12个碳的芳香烃基或是含6-12个碳的烃基芳香烃基; R_3 为含1-20个碳的烷基、含6-26个碳的芳香烃基或是含6-26个碳的烃基芳香烃基; 且x为0或1。

本发明亦提供了一种稳定生物检体中核酸的试剂, 包括一具备如式(I)的胺类界面活性剂:



其中, R_1 与 R_2 分别为氢, 含1-6个碳的烷基, 含6-12个碳的芳香烃基或是含6-12个碳的烃基芳香烃基; R_3 为含1-20个碳的烷基、含6-26个碳的芳香烃基或是含6-26个碳的烃基芳香烃基; 且x为0或1。

当生物检体与本发明试剂进行接触后,将使生物检体中核酸与胺类界面活性剂形成一络合物,使核酸因为被包覆住形成疏水性沉淀物,而使RNA不受RNase的破坏,且使DNA无法复制出RNA,同时达到保存RNA及稳定RNA表现量的双重效果。

于本发明中,胺类界面活性剂结构的较佳情况是, x 为0时, R_1 与 R_2 分别为含氢,或含1-6个碳的烷基,且 R_3 为含1-20个碳的烷基。同时,本发明方法与试剂中所适用的成分不限制,较佳为含有十二烷基胺(dodecylamine),N-甲基十二烷基胺(N-methyldodecylamine),N,N-二甲基十二烷基胺(N,N-dimethyldodecylamine),氧化氮N,N-二甲基十二烷基胺(N,N-dimethyldodecylamine N oxide)以及4-十四烷基胺(4-tetradecylaniline)的胺类界面活性剂者;且本发明中所使用的试剂其型态不限,可以是一液状型态使用,也可以以一固态方式与生物检体相接触,而为使检体中核酸与试剂的成分充分混合,本发明最佳实施方式是以液态方式呈现。

本发明中,胺类界面活性剂存在于试剂中的含量不限,在液态介质中的含量较佳为0.001%至20%的浓度百分比,或是在固态基质中含量为10%至90%的重量百分比。

于本发明中,含有至少一种上述的胺类界面活性剂以及至少一种酸性盐类的试剂即可适用于核酸的稳定与保存,而为使试剂发挥保存核酸的最佳状况,本发明中所使用的试剂更包括至少一种非离子界面活性剂;而其中,非离子界面活性剂的种类不限制,较佳为聚氧化乙烯类(polyoxyethylene)的非离子性界面活性剂,如Tween 20或Triton X-100;最佳为Triton X-100;非离子界面活性剂的使用量或浓度不限制,在液态介质中的含量较佳为0.01%至20%的浓度百分比或在固态基质中含量为0.01%至40%的重量百分比。

试剂中所使用的酸性盐类可以是本领域具通常知识者常用的任何一种,较佳是选自由下列物质所组成的群组:顺丁烯二酸(maleic acid),酒石酸(tartaric acid),柠檬酸(citric acid),草酸(oxalic acid),羧酸(carboxylic acids)以及无机酸(mineral acid);且所使用的浓度不限,较佳的浓度是低于1M;最佳为0.01至0.5M;同时,本发明方法中使用的稳定核酸试剂于水溶液中的酸碱值不限制,较佳为pH7以下,最佳为pH5以下。

适用于本发明的含核酸生物检体可为不含细胞的检体、血浆、体液如全血、血清、细胞、白血球细胞、血液黄层、痰液、尿液、精液、粪便、样本抹片、抽吸物、或任何一种组织样本，如部分组织或器官的活检组织、或食物样本中所含的游离态或结合态的核酸或含核酸的细胞，如单细胞或多细胞有机物(如昆虫等)、或是植物或植物的一部分组织、细菌、病毒、酵母菌与其它种类真菌，或真核细胞，原核细胞等等。

本发明中提到的「核酸」，所代表的意义为广义的核酸，包括了各种长度或构型的核糖核酸(ribonucleic acids, RNA)、脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acids, DNA)，如双股，单股，环状，直链状，支链状，或是结合上述型态的任何一种可能的次单元，如寡核酸单体，质体，病毒或细菌的DNA或RNA，来自动物、植物或其它真核细胞的基因体或非基因体的DNA或RNA，修饰前后的mRNA、tRNA、异核RNA(heterogeneous nuclear RNA, hnRNA)、rRNA、cDNA或任何一种常见的核酸；较佳的是，本发明方法中适用的核酸为DNA或RNA。

附图说明

图1为本发明实施例1-3的RNA电泳图。

图2为本发明较佳实施例5-6的RNA电泳图。

图3为本发明较佳实施例7-9的不同保存时间所萃取出的RNA其中基因表现量变化结果。

具体实施方式

本发明实施例是以RNA萃取的量与浓度，来比较经过数天以三种不同方式保存的全血中RNA质量差异。

实施例1

首先全血的收集是利用10ml的Vacutainer血液收集管(EDTA K3, Becton Dickinson)收集后，直接冰存于4℃0-4天。经过不同时间的保存后，接着进行RNA的萃取。

依照使用者手册，于500 μ l全血中加入1ml的红血球溶解液(Roche Diagnostics GmbH)，以纯化出白血球细胞；接着再将白血球细胞以150 μ l

的RLT液(QIAGEN GmbH)进行溶解；接着加入90 μ l的乙醇，再将处理后反应液加到含有硅质过滤膜的离心管(QIAGEN GmbH)内，进行离心；接着以350 μ l的RW1液(QIAGEN GmbH)冲洗硅质过滤膜，再利用不含RNA分解酶的DNA分解套组(RNase-free DNase Set, QIAGEN GmbH)去掉DNA分子；再以350 μ l的RW1液(QIAGEN GmbH)冲洗硅质过滤膜一次，500 μ l的RPE液(QIAGEN GmbH)冲洗2次，最后以2次40 μ l的去离子水将硅质过滤膜上的RNA冲提出来。

实施例2

本实施例中全血的收集与RNA萃取，是利用PAXgene Blood RNA Validation Kit (QIAGEN GmbH)进行，血液收集后，直接冰存于4 $^{\circ}$ C，0-4天。经过不同时间的保存后，接着进行RNA的萃取，所有血液收集与RNA萃取步骤均依照使用者手册进行。

实施例3

于本实施例中，在欲进行萃取RNA的血液中，加入N-甲基十二烷胺(N-methyldodecylamine)一起进行保存，以稳定全血中RNA的活性。首先取333 μ l的新鲜血液，加入1ml含有3%(w/v) N-甲基十二烷胺、5% (v/v) Triton X-100以及100 mM酒石酸(tartaric acid)的溶液，再将混合液直接冰存于4 $^{\circ}$ C 0-4天。经过不同时间的保存后，接着进行RNA的萃取。

由于RNA会与N-甲基十二烷胺形成一络合物，因此可由5000xg离心10分钟的方式将RNA沉淀下来，接着以50 μ l的去离子水将沉淀物回溶；加入100 μ l的RLT液 (QIAGEN GmbH)与10 μ l的K蛋白酶(Proteinase K, QIAGEN GmbH)，置于55 $^{\circ}$ C中10分钟；接着于反应液中加入200 μ l的1,3-溴氯丙烷(1-bromo-3-chloropropane)，并以剧烈震荡方式使药剂与反应液充分混合，再以10000xg离心5分钟；接着将离心后上清液移至另一新的1.5ml离心管中，加入90 μ l的乙醇，再将处理后反应液加到含有硅质过滤膜的离心管内，进行离心；接着以350 μ l的RW1液(QIAGEN GmbH)冲洗硅质过滤膜，再利用不含RNA分解酶的DNA分解套组(RNase-free DNase Set, QIAGEN GmbH)去掉DNA分子；再以350 μ l的RW1液(QIAGEN GmbH)冲洗硅质过滤膜一次，500 μ l的RPE液(QIAGEN GmbH)冲洗2次，最后以2次40 μ l的去离子水将硅质过滤膜上的RNA冲提出来。

实施例4

于本实施例中，在欲进行萃取RNA的血液中，加入十二烷基胺(dodecylamine)一起进行保存，以稳定全血中RNA的活性。首先取1 ml的新鲜血液，加入3 ml含有0.3%(w/v) 十二烷基胺、1% (v/v) Triton X-100以及250 mM酒石酸的溶液，以NaOH调整至pH 3，再将混合液直接冰存于4°C 0-2天。经过不同时间的保存后，接着进行RNA的萃取。

将形成一络合物的RNA以及十二烷基胺一起藉由离心方式进行沉淀，接着以150 μ l的去离子水将沉淀物回溶；加入300 μ l的RLT液 (QIAGEN GmbH)与30 μ l的K蛋白酶(Proteinase K, QIAGEN GmbH)，置于55°C中10分钟；接着于反应液中加入200 μ l的1,3-溴氯丙烷(1-bromo-3-chloropropane)，并以剧烈震荡方式使药剂与反应液充分混合，再以10000xg离心5分钟；接着将离心后上清液移至另一新的1.5ml离心管中，加入270 μ l的乙醇，接下来的RNA萃取方式请参考实施例3。

实施例5

于本实施例中，在欲进行萃取RNA的血液中，加入N,N-二甲基十二烷基胺(N,N-dimethyldodecylamine)一起进行保存，以稳定全血中RNA的活性。首先取333 μ l的新鲜血液，加入1ml含有5%(w/v) N,N-二甲基十二烷基胺、2% (v/v) Triton X-100以及140 mM 酒石酸的溶液，再将混合液直接冰存于-20°C中0-14天。经过不同时间的保存后，接着参考实施例3进行RNA的萃取。

实施例6

于本实施例中，在欲进行萃取RNA的血液中，加入氧化氮N,N-二甲基十二烷基胺(N,N-dimethyldodecylamine N oxide)一起进行保存，以稳定全血中RNA的活性。首先取333 μ l的新鲜血液，加入1ml含有3%(w/v) 氧化氮N,N-二甲基十二烷基胺、1% (v/v) Triton X-100以及125 mM酒石酸的溶液，再将混合液直接冰存于-20°C 0-14天。经过不同时间的保存后，接着依实施例3所述步骤进行RNA的萃取。

实施例7

利用Agilent 2100 Bioanalyzer(Agilent Technologies)分析依照实施例1-3所萃取出RNA中28S/18S rRNA的比值，进行比较。依照本领域具通常

知识者可认同的标准，当28S/18S rRNA的比值高于1.5，表示RNA分子尚未被降解；而当比值在2附近，则表示所萃取出的RNA分子质量良好；此外，利用分光光度计测定RNA的OD260/OD280的比值，质量好的RNA样品260/280比值应介于1.9~2.1。利用上述分析方法，分别将不同保存时间萃取后的RNA质量结果整理如下表1。

表1、不同实施方式萃取得的RNA质量比较

实施方式	RNA产量 ($\mu\text{g/ml}$)	RNA品质 (OD 260/280)	28S/18S rRNA比值
实施例1	2.39 \pm 0.69	2.00 \pm 0.07	0.77 \pm 0.08
实施例2	4.68 \pm 0.68	1.94 \pm 0.03	1.57 \pm 0.13
实施例3	7.20 \pm 0.48	1.98 \pm 0.14	1.83 \pm 0.17

由表1结果可看出本发明稳定RNA的试剂(实施例3)，不仅可萃取出比其它2种常用方法更高量的RNA，每1ml血液可收集到7.20 \pm 0.48 μg ；且代表RNA质量的OD 260/280比值1.98 \pm 0.14也接近高标准的2；此外，28S/18S rRNA比值也是三种实施方法中最接近2的标准。

同时，请参考图1，是实施例1-3的电泳结果图，其中(a)为实施例1方法萃取出的RNA，(b)为实施例2，(c)为实施例3；而电泳图上方的0-4数字代表保存天数；于电泳结果图中，每一行的第一条条带代表为28S rRNA，第二条条带代表为18S rRNA；由结果图可以清楚看到，由本发明最佳实施例的方法所萃取出的RNA(实施例3所述)，可以得到质与量均佳的RNA。且一直到保存第4天的结果，仍与新鲜取得血液(保存0天)的萃取结果相近。

图2为实施例4-6的RNA电泳图，其中图2(a)为实施例4保存0-2天的结果，图2(b)为实施例5保存0-14天的结果，图2(c)为实施例6保存0-14天的结果；而利用Agilent 2100 Bioanalyzer(Agilent Technologies)分析的结果则整理于表2；观察图2与表2所呈现的结果，可发现在全血保存到第14天，所萃取出的RNA质量仍然在可接受的范围内。

表2、不同实施方式萃取得的RNA质量比较

实施方式	保存天数	28S/18S rRNA比值
实施例4	0天	1.60 \pm 0.14

	1天	1.60±0.00
	2天	1.50±0.00
实施例5	0天	1.90±0.26
	7天	1.80±0.35
	14天	2.00±0.36
实施例6	0天	1.70±0.44
	7天	1.53±0.15
	14天	2.10±0.26

实施例7

操作过程同实施例1，但血液的保存为在4℃冰藏0-2天。

实施例8

操作过程同实施例2，但血液的保存为在4℃冰藏0-2天。

实施例9

于本实施例中，在欲进行萃取RNA的血液中，加入N,N-二甲基十二烷胺(N,N-dimethyldodecylamine)一起进行保存，以稳定全血中RNA的活性。首先取1 ml的新鲜血液，加入3 ml含有5%(w/v) 氧化氮N,N-二甲基十二烷胺以及225 mM酒石酸的溶液(以NaOH调整pH值到3.0)，再将混合液直接冰存于4℃0-2天。经过不同时间的保存后，接着依实施例4所述步骤进行RNA的萃取。

实施例10

将实施例7-9所萃取出的RNA以SuperScript II RNase H- Reverse Transcriptase (Invitrogen)进行单股cDNA合成，所有合成步骤均依照使用者手册进行。完成的单股cDNA接续以TaqMan Universal PCR master mix (Applied Biosystems)以及 Assays-on-Demand Gene Expression Products (Applied Biosystems)在ABI Prism 7000 Sequence Detection System基因定量仪(Applied Biosystems)进行实时基因表现量定量(real-time PCR)测定。利用上述分析方法，分别测量不同保存时间萃取后RNA中的ADORA2A、CREB5、NFKB1以及IFNGR1等四种基因变化结果，如图3所示。

图3中相对表现量(Relative expression fold)的意义为将在4°C保存24 hr与48 hr后的基因表现量,与保存0 hr的表现量相比较,数值等于1时表示基因表现量与0 hr的一样;图3中,A1-A4为依照实施例7步骤进行后所得的结果,其中A1为ADORA2A基因、A2为CREB5基因、A3为IFNGR1基因以及A4为NFkB1基因;B1-B4为实施例8的结果,B1为ADORA2A基因、B2为CREB5基因、B3为IFNGR1基因以及B4为NFkB1基因;C为实施例9的结果,C1为ADORA2A基因、C2为CREB5基因、C3为IFNGR1基因以及C4为NFkB1基因;由图3可知在三种保存方式当中,以实施例9的保存试剂所测得的基因表现量数值较接近1,且所测试四种基因的变化程度最小,因此保存效果最好。

由本发明较佳实施例的说明,可达到本发明欲稳定生物检体中核酸的目的,且经由实施例结果可知,利用本发明试剂与方法来保存生物检体,其保存时间可大幅拉长达2周,在临床使用上非常具有实用价值,且易于操作,更容易与自动化仪器搭配以达成自动化操作的目的,增进核酸分子检测的技术发展与应用推广。

上述实施例仅为了方便说明而举例而已,本发明所主张的权利范围自应以申请专利范围所述为准,而非仅限于上述实施例。

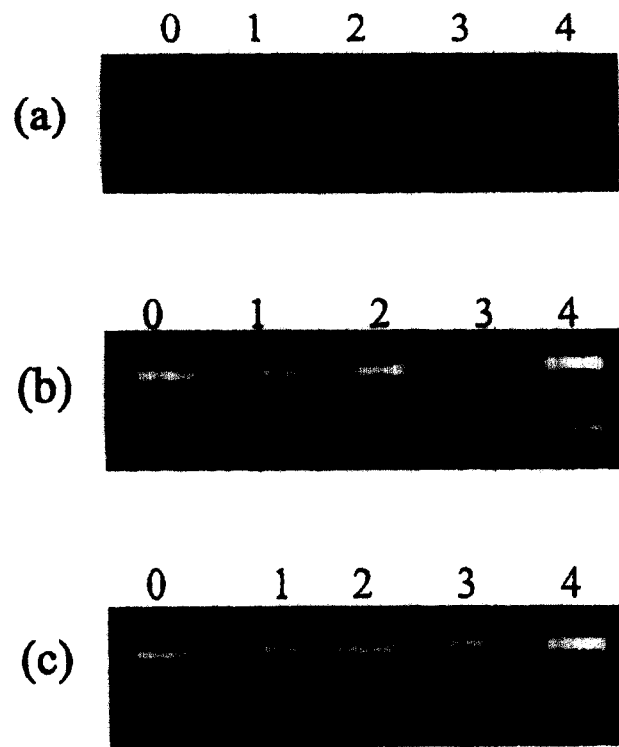


图 1

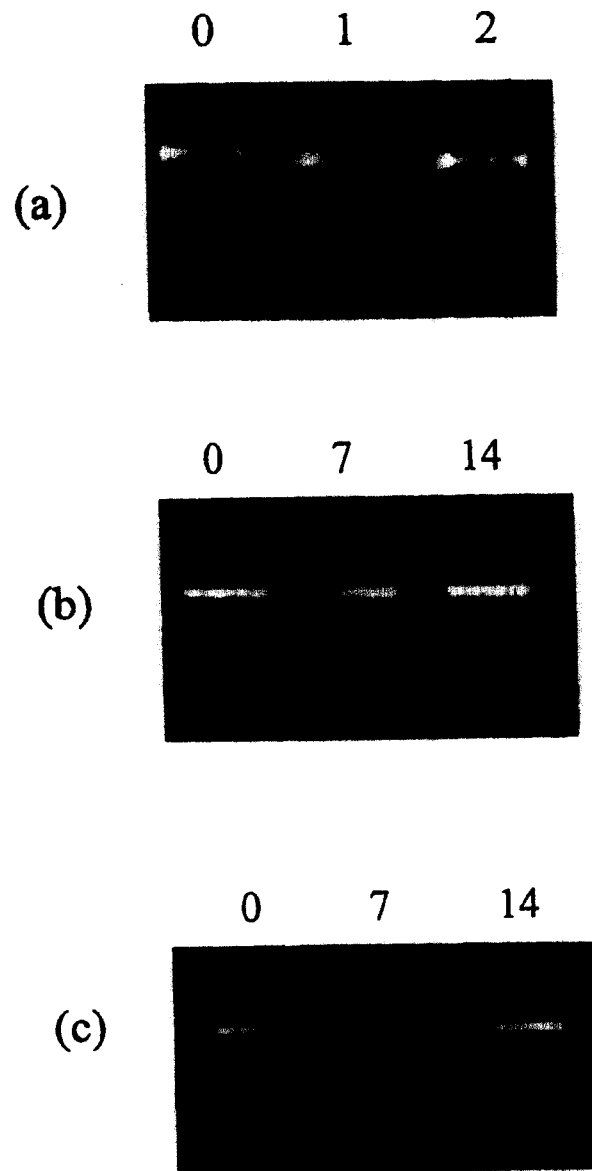


图 2

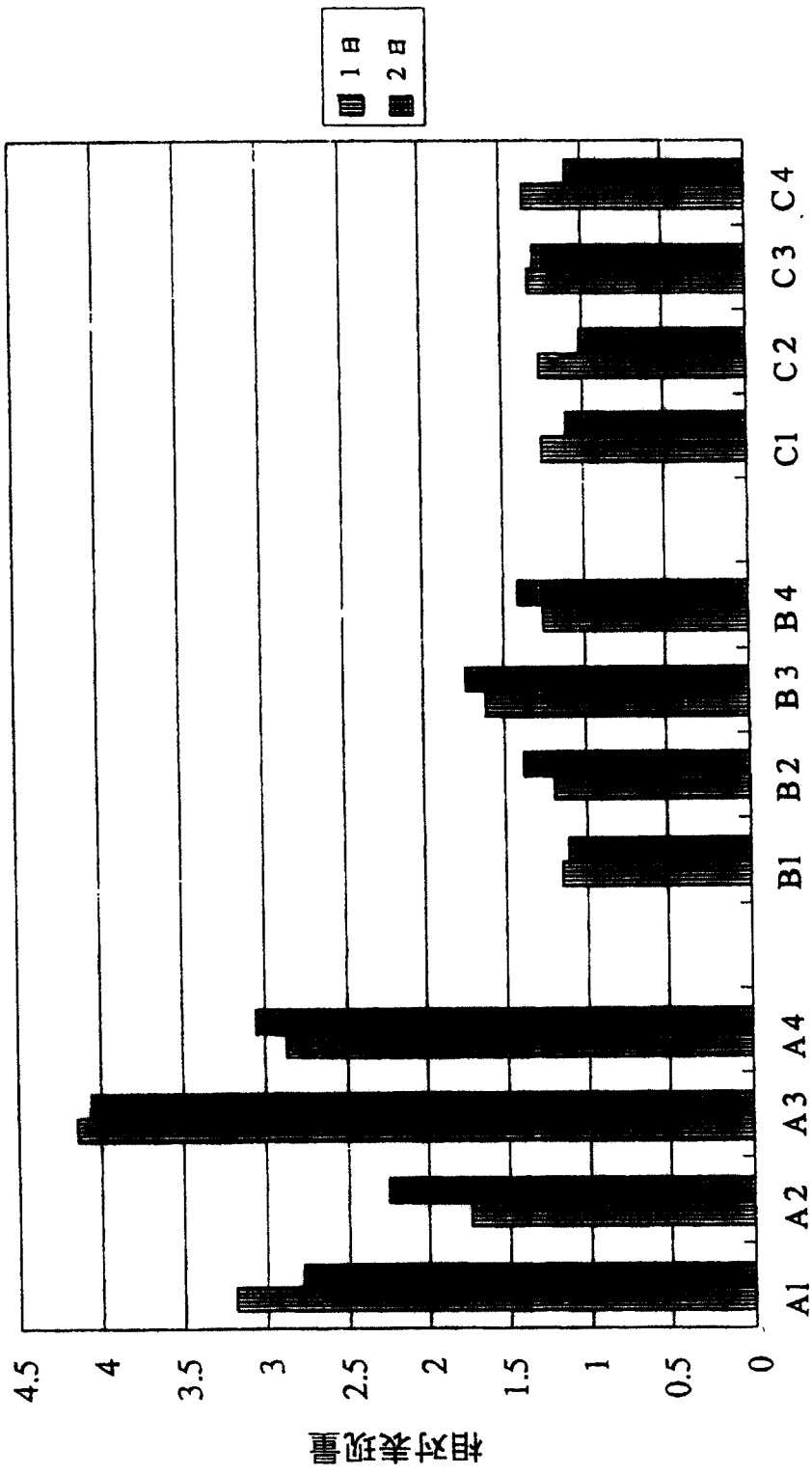


图 3