

旋八 GDP 胶回收测试报告

实验目的:

为了实现 GDP 胶回收的机提，优化胶回收类型试剂盒的提取流程和操作步骤，特意开发了本方案

实验程序:

孔位	名称	干燥时间	混合时间	混合速度	吸磁次数	体积	温度
5	取磁	0	1	快速 (1450)	2	1000	关闭
1	结合	0	10	快速 (1450)	3	1500	关闭
2	消化	0	0	快速 (1450)	0	0	关闭
3	Wash1	0	2	快速 (1450)	2	1000	关闭
4	Wash1	0	1	快速 (1450)	1	1000	关闭
5	Wash2	0	1	快速 (1450)	1	1000	关闭
6	Wash2	0	1	快速 (1450)	1	1000	关闭
7	Elute	8	5	慢速 (600)	3	80	55°

操作流程:

1、预装试剂表:

孔位	试剂
第 1 孔	1000ul Buffer GDP; <=500mg 待回收胶
第 3 孔	1000ul Buffer GW1
第 4 孔	1000ul Buffer GW1
第 5 孔	1000ul Buffer GW2
第 6 孔	1000ul Buffer GW2; 50ul MaPure RNA Particles
2ml 离心管	100ul RNase Free Water

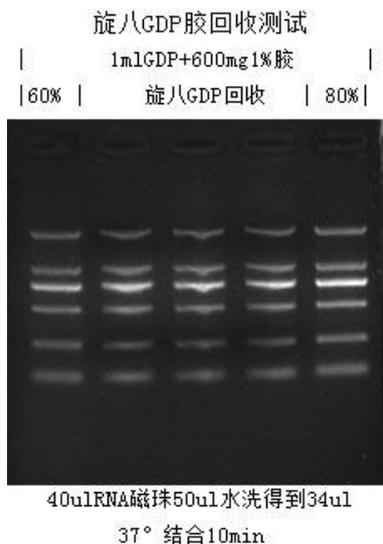
2、按上表加入试剂，以及待回收的样品，装入仪器中。在旋八上面设置好实验程序，点击运行至程序运行完毕。

3、取出 2ml 离心管，测 OD 值，跑电泳进行分析。

实验数据:

1、Marker 胶回收实验:

A260/230	A260/280	Result(ng/ul)	产量	用样	洗脱体积	实得体积
0.83	1.82	46.71	2.34	600mg1% 胶: 20ulmarker	50ul	34ul
0.71	1.84	59.31	2.97			
0.89	1.79	44.40	2.22			



实验现象：在 37° 快速旋转的情况下，600mg 1%胶能在 2min 内完全溶解。洗液孔吸磁一次无磁珠残留，洗脱前晾干 8min 能使磁珠彻底干燥。

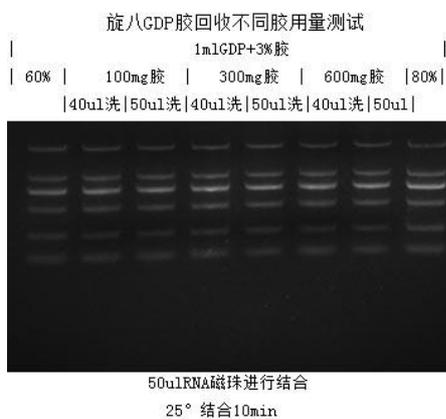
实验结论：从左图可以看出，marker 回收效率处于 60%至 80%之间，证明了旋八 GDP 胶回收 marker 没有问题。

2、高浓度胶不同用量 marker 回收测试：

A260/23	A260/28	Result(ng/ul)	条件	产量	用样	实得体积	洗脱体积
0	0						
0.68	1.87	81.70	100mg3%胶	3.27	20ulmarker; 3%胶回收	25~30ul	40ul
0.77	1.81	83.81	1mlGDP	4.19		35~40ul	50ul
0.81	1.89	85.94	300mg3%胶	3.44		25~30ul	40ul
0.80	2.00	42.29	1mlGDP	2.11		35~40ul	50ul
0.93	1.90	60.02	600mg3%胶	2.40		25~30ul	40ul
0.79	1.90	49.03	1mlGDP	2.45		35~40ul	50ul

实验现象：25° 快速旋转情况下，600mg 3%胶溶胶时间大概需要 4min。40ul 水洗仅有微量磁珠偶尔粘壁，其余现象均无异常。

实验结论：从右图可知，不同的胶用量对回收效率无影响，40ul 水洗与 50ul 水洗基本无差别。在高浓度胶中，回收效率依旧能达到~70%，且 40ul 水洗能得到~25ul 产物，处于可接受范围内。

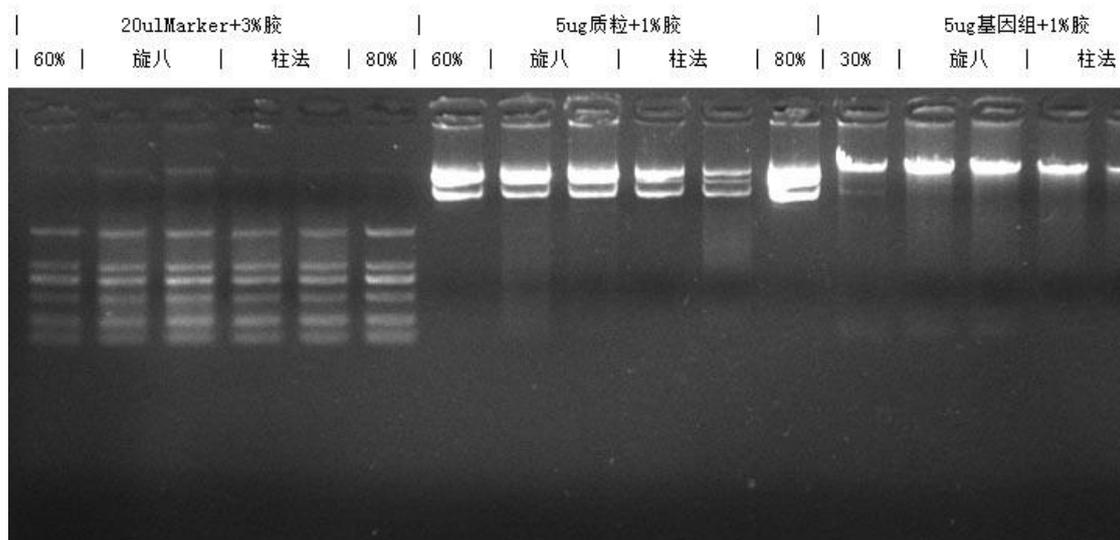


3、不同样品回收率测试:

取 5ug 质粒、5ug 基因组，及 20ul marker 三种不同样品进行回收率测试，以 GDP 柱法回收作为对照，得到以下数据:

A260/230	A260/280	Result(ng/ul)	条件		产量	回收率
1.30	1.94	36.05	20ul Marker 回收	旋八	3.61	
1.20	1.63	35.49			3.55	
0.07	2.93	34.15		柱法	3.42	
0.08	3.03	36.60			3.66	
0.94	1.68	40.43	20ul 质粒回 收	旋八	4.04	70%
1.24	1.68	47.11			4.71	81%
0.08	3.29	34.06		柱法	3.41	59%
0.08	2.86	34.24			3.42	59%
0.42	1.58	34.07	40ul 基因组 回收	旋八	3.41	58%
1.04	1.67	31.99			3.20	54%
0.07	1.81	22.26		柱法	2.23	38%
0.06	2.15	15.18			1.52	26%
1.34	1.53	147.93	基因组样品		5.92	
2.37	1.51	289.37	质粒样品		5.79	

不同样品旋八GDP胶回收测试



实验结论:

- 1、从三种样品的回收效果来看，旋八机提的条带亮度均强于柱法，证明了机提法优于柱法。
- 2、在 marker 回收中，机提的效率接近 80%，柱法约为 70%；质粒中机提效率约为 70%，柱法约为 60%；基因组中机提的效率约为 50%，柱法约为 35%。

综述:

1、从操作性来看，手工法操作繁琐且不好把控条件，而机提只需要加入待提取样品，开启程序即可，相当的便捷。

2、从各种样品的回收效率上看，机提法的回收效率优于手工法。

3、从浓度要求上来看，机提可以将洗脱体积压缩为 40ul，得到 25ul 产物，属于可接受范围。

4、对于不同浓度，不同量的胶，机提溶胶速度相当快，且能室温溶胶，不会对核酸造成损伤，而手工法需要 55° 温浴溶胶，耗时较长。