

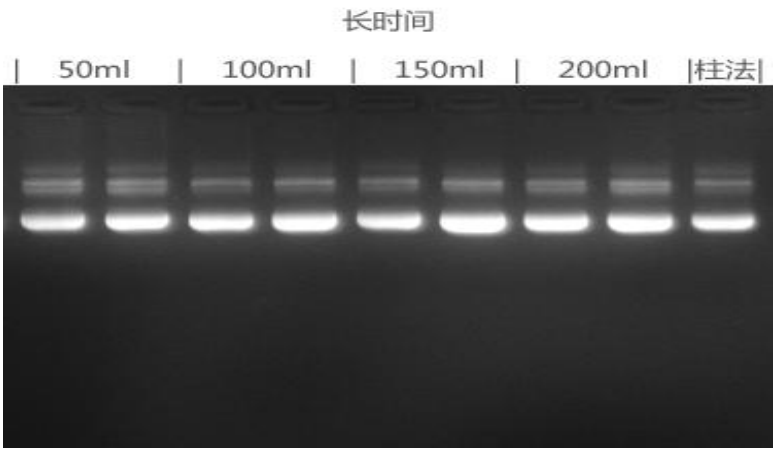
P1815 无内质粒试剂盒系列性能验证报告

实验 1：4 通道核酸提取仪的性能验证（P1815-M4）

样品与上清液制备：取 50ml, 100ml, 150ml 和 200ml 菌液，加入 7ml Buffer E1/RNase 重悬，7ml Buffer E2 裂解，7 ml Buffer E3 中和，离心得上清液并用中量过滤器过滤得到~20ml 清滤液，按下表转移至 24 孔高板中，转移至 MagMix 4 提取仪中，进行全自动提取。

孔位	预装试剂	加入样品
第 1 孔	2ml Buffer E4 Plus/160ul MagPure Particles	加入 6.5ml 滤液
第 2 孔	2ml Buffer E4 Plus/160ul MagPure Particles	加入 6.5ml 滤液
第 3 孔	2ml Buffer E4 Plus/160ul MagPure Particles	加入 6.5ml 滤液
第 4 孔	8ml Buffer ETR	
第 5 孔	8ml Buffer SW2	
第 6 孔	800ul Elution Buffer	

菌液用量	磁珠用量	洗脱体积	实得洗脱体积	核酸浓度 ng/ul	产量 ug	260/280	260/230	仪器运行时间	理论产量 ug
50ml 菌液	160ul 每孔	800ul	665ul	296.90	197.44	1.91	2.48	50 分钟	183
100ml 菌液		800ul	665ul	526.39	350.05	1.93	2.48		366
150ml 菌液		800ul	665ul	713.64	474.57	1.94	2.44		550
200ml 菌液		800ul	665ul	915.91	609.08	1.94	2.44		733



实验 2：4 通道核酸提取仪的性能验证(对比萃取除内毒素步骤)

转染级质检提取：取 100ml 和 200ml 菌液，加入 7ml Buffer E1/RNase 重悬，7ml Buffer E2 裂解，7 ml Buffer E3 中和，离心得上清液并用中量过滤器过滤得到~20ml 清滤液，按下表转移至 24 孔高板中，转移至 MagMix 4 提取仪中，进行全自动提取。

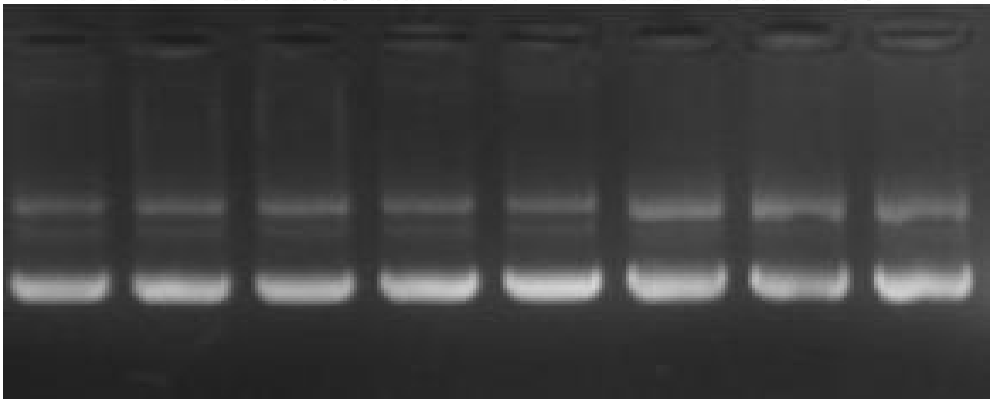
无毒素质检提取：取 100ml 和 200ml 菌液，加入 7ml Buffer E1/RNase 重悬，7ml Buffer E2 裂解，7 ml Buffer E3 中和，离心得上清液并用中量过滤器过滤得到 20ml 滤液，加入 2ml Buffer ER2 颠倒混匀，冰上放置 10 分钟，加入 2ml Buffer BCP，涡旋混匀 15 秒，8000xg 离心 5 分钟，得上清液，按下表转移至 24 孔高板中，转移至 MagMix 4 提取仪中，进行全自动提取。

理论产量对照：取 4ml 菌液，用 P1001 进行操作，计算出每 ml 菌液的质粒含量。

孔位	预装试剂	加入样品
第 1 孔	2ml Buffer E4 Plus/160ul MagPure Particles	加入 6.5ml 滤液
第 2 孔	2ml Buffer E4 Plus/160ul MagPure Particles	加入 6.5ml 滤液
第 3 孔	2ml Buffer E4 Plus/160ul MagPure Particles	加入 6.5ml 滤液
第 4 孔	8ml Buffer ETR	
第 5 孔	8ml Buffer SW2	
第 6 孔	800ul Elution Buffer	

菌液	试剂盒	ER2	洗脱体积	实得体积	260/280	260/230	浓度 ug/ul	产量 ug
150ml	P1815-M4 MagMix 4 通道 提取仪	上清液不处理	800ul	650ul	1.91	2.14	1457	947
					1.89	2.18	1569	1020
		上清液经 Buffer ER2 萃取除内毒 素	800ul	650ul	1.90	2.32	1639	1065
					1.90	2.28	1648	1071
					1.90	2.30	1686	1096
					1.91	2.32	1685	1095

对照 | P1815-M4预分装，MagMix 4提取
P1001C | 上清不处理 | ER2萃取除内毒

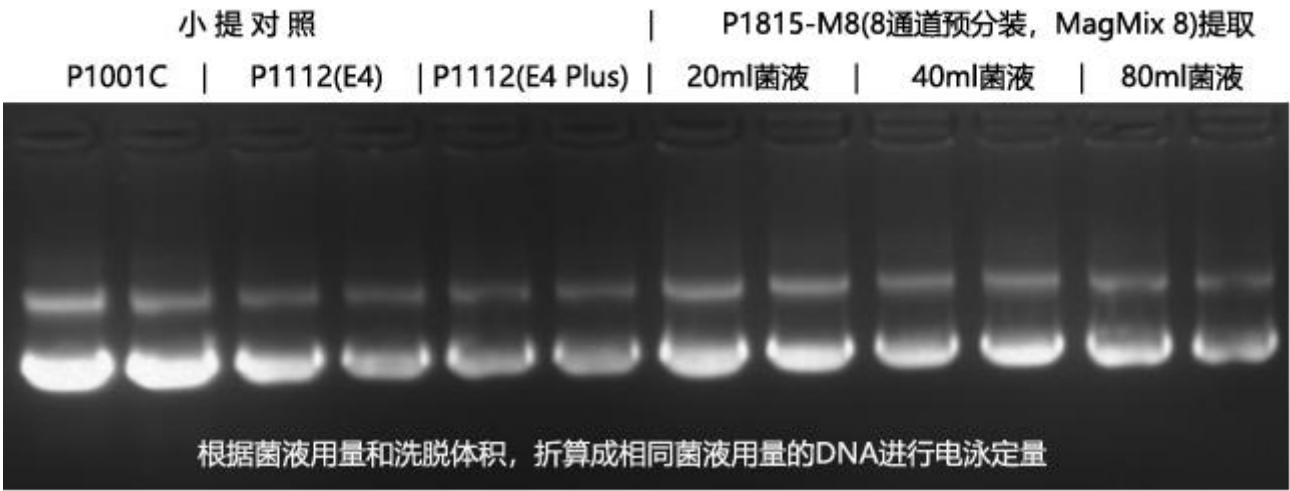


实验 3：8 通道核酸提取仪的性能验证 P1815-M8 系列

转染级质检提取：取 50ml 和 80ml 菌液，加入 2.7ml Buffer E1/RNase 重悬，2.7ml Buffer E2 裂解，2.7 ml Buffer E3 中和，离心得上清液并用中量过滤器过滤得到 6.6ml 滤液，按下表转移至 48 孔板中，转移至 MagMix 8 提取仪中，进行全自动提取。理论产量对照：取 4ml 菌液，用 P1001 进行操作，计算出每 ml 菌液的质粒含量。分析：取产量进行电泳，测量 OD 值。

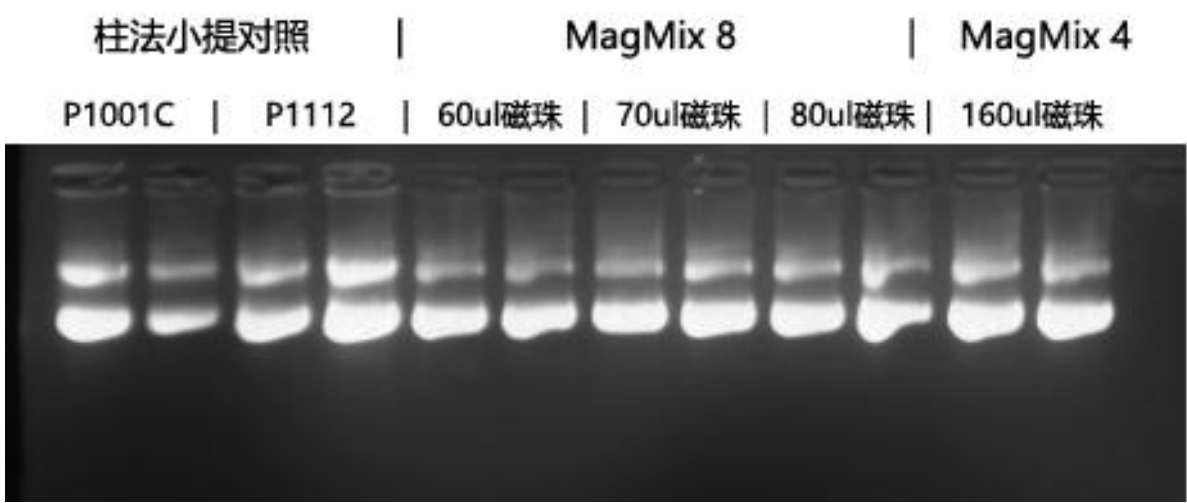
孔位	预装试剂	加入样品
第 1 孔	0.7ml Buffer E4 Plus/MagPure Particles (60ul)	加入 2.2ml 滤液
第 2 孔	0.7ml Buffer E4 Plus/MagPure Particles (60ul)	加入 2.2ml 滤液
第 3 孔	0.7ml Buffer E4 Plus/MagPure Particles (60ul)	加入 2.2ml 滤液
第 4 孔	2.5ml Buffer ETR	
第 5 孔	2.5 ml Buffer EWVB	
第 6 孔	2.5 ml Buffer PW2	
第 7 孔	400ul Elution Buffer	

试剂盒	菌液	洗脱 体积	实得 体积	260/2 80	260/ 230	浓度 ug/ul	产量 ug/ul	得率	备注
P1001C	2ml	100ul	/	1.90	2.27	236	24	100%	对照试剂 1
			/	1.90	2.25	230	23		
P1112		100ul	/	1.91	2.26	203	20	85%	对照试剂 2
			/	1.90	2.27	203	20		
P1815-M8	20ml	100ul	350	1.93	2.16	613	245	104%	/
			350	1.93	2.19	631	253		
P1815-M8	40ml	100ul	350	1.93	2.25	1000	400	85%	/
P1815-M8			350	1.93	2.28	992	397		
	80ml	100ul	350	1.93	2.31	1344	537	57%	超载
			350	1.93	2.31	1318	527		



实验 4：相同菌液，8 通道和 4 通道核酸提取仪同时对比验证

仪器	菌液	洗脱体积	磁珠量	260/280	260/230	浓度	产量	每 ml 菌液得率
对照	4ml	100 ul	/	1.92	1.75	244	24	6.1
			/	1.92	1.77	240	24	6.0
			/	1.91	1.77	217	22	5.4
			/	1.92	1.76	221	22	5.5
MagMix 8 通道提取仪	80ml	500 ul	60ul	1.93	2.26	1003	502	6.3
				1.91	2.23	938	469	5.9
			70ul	1.91	2.24	1003	502	6.3
				1.91	2.25	1009	505	6.3
			80ul	1.91	2.30	1101	550	6.9
				1.90	2.29	1129	565	7.1
MagMix 4 通道提取仪	160ml	800 ul	160ul	1.92	2.39	1580	1264	7.9
				1.92	2.40	1480	1184	7.4



实验 5：50ml 菌液的手工法提取数据

转染级质检提取：取 50ml 菌液，加入 2.6ml Buffer E1/RNase 重悬，2.6ml Buffer E2 裂解，2.6 ml Buffer E3 中和，离心得上清液并用中量过滤器过滤得到 7.0ml 滤液，然后按手工操作提取转染级质粒 DNA。

无内毒素质检提取：取 50ml 菌液，加入 2.6ml Buffer E1/RNase 重悬，2.6ml Buffer E2 裂解，2.6 ml Buffer E3 中和，离心得上清液并用中量过滤器过滤得到 7.0ml 滤液，加入 0.7ml Buffer ER2 混匀，冰上放置吸附 10 分钟，再加入 0.7ml Buffer BCP 混匀离心分层，然后按手工操作提取无内毒素质粒 DNA。

手工操作：

- 1. 加入 1/3 倍体积 Buffer E4 Plus (~2.4ml)和 200ul MagPure Particles，颠倒混匀 6~8 次，室温放置 5 分钟，其间颠倒混匀数次。4,000 x g 离心 1 分钟收集磁珠或磁力架静置 1 分钟收集磁珠，小心倒弃或吸弃上清液
- 2. 加入 2.5ml Buffer E5，涡旋 10 秒重悬磁珠，颠倒混匀数次，4,000 x g 离心 1 分钟收集磁珠或磁力架静置 1 分钟收集磁珠，小心倒弃或吸弃上清液。
- 3. 加入 2.5ml Buffer EVB 至样品中，涡旋 10 秒重悬磁珠，颠倒混匀数次，4,000 x g 离心 1 分钟收集磁珠或磁力架静置 1 分钟收集磁珠，小心倒弃或吸弃上清液。
- 4. 加入 2.4ml Buffer PW2(已加乙醇稀释)至磁珠中，涡旋 10 秒重悬磁珠，颠倒混匀数次，4,000 x g 离心 1 分钟收集磁珠或磁力架静置 1 分钟收集磁珠，小心倒弃或吸弃上清液。
- 5. 加入 2.4ml Buffer PW2(已加乙醇稀释)至磁珠中，涡旋 10 秒重悬磁珠，颠倒混匀数次，4,000 x g 离心 1 分钟收集磁珠或磁力架静置 1 分钟收集磁珠，小心倒弃或吸弃上清液。
- 6. 短暂离心收集残液，吸尽所有的残液，55 度干燥 10 分钟。
- 7. 加入 200~300ul Buffer TE，涡旋重悬磁珠，室温放置 10 分钟，其间混匀数次。转 4,000 x g 离心 1 分钟收集磁珠或磁力架静置 1 分钟收集磁珠，转移上清液至新的离心管中。

		菌液用量	核酸(ng/ul)	洗脱体积	A260/A280	A260/A230	产量 (ug)	50ml 菌液理论总量
P1001-02C, 小量提取 作为产量对照		1.6ml	136.46	100ul	1.92	2.25	13.65	406ug (用小提产量推算)
		1.6 ml	128.54	100ul	1.91	2.25	12.85	
手工	转染级质粒 DNA	50 ml	2006.33	200ul	1.94	2.38	401.27	
		50 ml	2077.03	200ul	1.94	2.38	415.41	
	无内毒素质粒 DNA	50 ml	2129.09	200ul	1.96	2.43	425.82	
		50 ml	2087.24	200ul	1.96	2.43	417.45	

结果表明，P1815 手工操作处理 50ml 菌液，产量高达 406ug，质粒产量得率达到小提的理论值，表明试剂盒的得率高。