

P1301 质粒浓缩试剂盒性能验证报告

实验 1：不同质粒 DNA 的回收率。

- **实验步骤：**取不同的质粒 DNA，加入适量的灭菌水稀释成低浓度质粒 DNA (30~400ng/ul)，加入 0.1 倍体积的 Buffer ERS2 和 0.7 倍异丙醇，混匀，静置 10 分钟后，分次转移至 DNA 浓缩柱中离心，750ul 80%乙醇清洗一次，空甩干燥，最后加入适量的洗脱液洗脱出 DNA。

编号	质粒 ug	浓缩方式	洗脱体积	洗脱次数	浓度 ug/ul	260/280	260/230	产量 ug	回收率
1	30ug	30ug 质粒 DNA，加入灭菌水至 1ml，加入 0.1ml ERS2 和 0.7ml 异丙醇。	30ul	第一次洗脱	959	1.94	2.29	29	90%
				第二次洗脱	1007	1.92	2.23	30	94%
2				第一次洗脱	1036	1.92	2.31	31	97%
				第二次洗脱	1023	1.93	2.29	31	96%
3	120ug	120ug 质粒 DNA，加入灭菌水至 1ml，加入 0.1ml ERS2 和 0.7ml 异丙醇。	50ul	第一次洗脱	1612	1.92	2.31	81	63%
				第二次洗脱	2466	1.95	2.33	123	96%
4				第一次洗脱	1219	1.94	2.31	61	48%
				第二次洗脱	2495	1.94	2.32	125	97%
5	500ug	500ug 质粒 DNA，加入灭菌水至 2.0ml，加入 0.2ml ERS2 和 1.4ml 异丙醇。	200ul	第一次洗脱	2296	1.94	2.32	459	87%
				第二次洗脱	2602	1.95	2.32	520	98%
6				第一次洗脱	1749	1.94	2.32	350	66%
				第二次洗脱	2603	1.95	2.32	521	98%
7	1000ug	取 1000ug 质粒 DNA，加入灭菌水至 2.0ml，加入 0.2ml ERS2 和 1.4ml 异丙醇。	2 次 300ul 共 600ul	第一次洗脱	937	1.95	2.31	281	26%
				第二次洗脱	1322	1.92	2.30	793	75%
8				第一次洗脱	1161	1.94	2.31	348	33%
				第二次洗脱	1521	1.93	2.31	913	86%
9	2000ug	取 2000ug 质粒 DNA，加入灭菌水至 5.0ml，加入 0.5ml ERS2 和 3.8ml 异丙醇。	2 次 500ul 共 1000ul	第一次洗脱	2954	1.96	2.32	1477	74%
				第二次洗脱	1879	1.94	2.33	1879	94%
10				第一次洗脱	2808	1.95	2.32	1404	70%
				第二次洗脱	1919	1.93	2.32	1919	96%

结论：P1301 质粒 DNA 浓缩试剂盒可以高效回收率质粒 DNA，质粒浓度高达 2ug/ul 时，仍可以高效洗脱出质粒 DNA，回收率高达 90%。

实验 2：异丙醇用量与回收率的关系。

- **实验步骤：**取不同用量的质粒 DNA(100ug 和 1000ug)，加入适量的灭菌水稀释成低浓度质粒 DNA (30~400ng/ul)，加入 0.1 倍体积的 Buffer ERS2 和 0.5~0.7 倍异丙醇，混匀，静置 10 分钟后，分次转移至 DNA 浓缩柱中离心，750ul 80%乙醇清洗一次，空甩干燥，最后加入适量的洗脱液洗脱出 DNA。

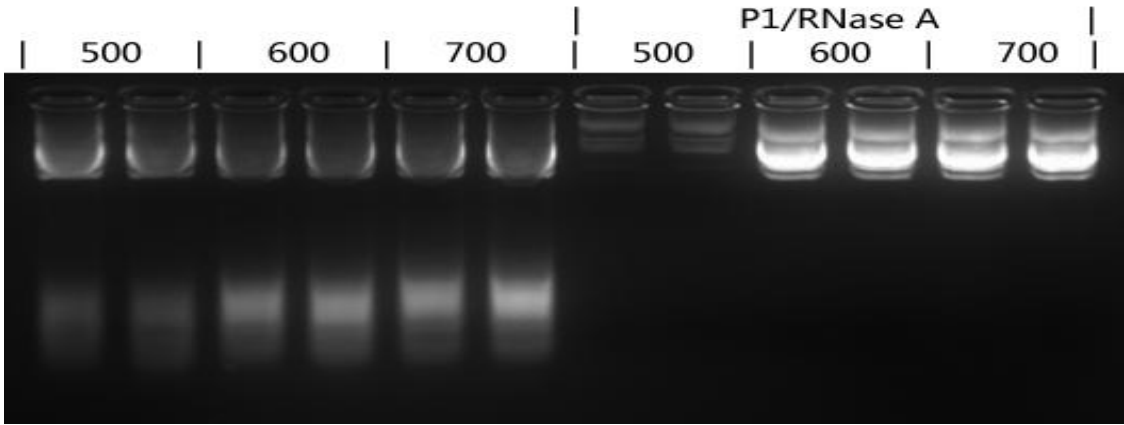
编号	质粒 ug	浓缩方式	异丙醇体积	洗脱体积	核酸浓度	260/280	260/230	产量 ug	回收率
1	100ug	把质粒稀释至 1000ul, 加入 100ul Buffer ERS2	500ul	100ul	907	1.92	2.25	91	91%
					891	1.89	2.15	89	89%
2			600ul	100ul	959	1.92	2.26	96	96%
					960	1.92	2.27	96	96%
3			700ul	100ul	981	1.93	2.27	98	98%
					999	1.93	2.28	100	100%
4	1000ug	把质粒稀释至 2000ul, 加入 200ul Buffer ERS2	1000ul	500ul	1881	1.93	2.30	940	94%
					1876	1.93	2.30	938	94%
5			1200ul	500ul	1997	1.93	2.30	998	100%
					1992	1.93	2.30	996	100%
6			1400ul	500ul	1775	1.93	2.31	887	89%
					1789	1.92	2.30	895	89%

结论：异丙醇添加量在 0.6-0.7 倍就可以高效回收率 DNA.

实验 3：去除 RNA 污染

实验步骤：取不同用量的质粒 DNA(100ug 和 1000ug)，加入适量的灭菌水稀释成低浓度质粒 DNA（30~400ng/ul），加入 0.1 倍体积的 Buffer ERS2 和 0.5~0.7 倍异丙醇，混匀，静置 10 分钟后，分次转移至 DNA 浓缩柱中离心，750ul 80%乙醇清洗一次，空甩干燥，最后加入适量的洗脱液洗脱出 DNA。

编号	质粒量 ug	浓缩方式	异丙醇体积	核酸浓度	260/280	260/230	产量
1	100ug 质粒和 RNA	用灭菌水将质粒(含大量 RNA 污染) 稀释至 1000ul，加入 100ul Buffer ERS2。	500ul	2727	2.15	2.41	273
				2426	2.14	2.37	243
2			600ul	3235	2.13	2.42	324
				3284	2.11	2.40	328
3			700ul	3403	2.11	2.41	340
				3317	2.11	2.42	332
4	100ug 质粒和 RNA	用灭菌水将质粒(含大量 RNA 污染) 稀释至 900ul，加入 100ul Buffer P1/RNase A (100ug/ml)，静置 15 分钟消化 RNA，加入 100ul Buffer ERS2。	500ul	149	1.88	1.90	15
				149	1.90	2.12	15
5			600ul	1009	1.90	2.24	101
				1019	1.92	2.21	102
6			700ul	1106	1.92	2.25	111
				1092	1.91	2.25	109



结论：由图可知，在质粒溶液中添加 0.1 倍体积的 Buffer P1/RNase，RNA 酶终浓度为 10ug/ml，可以高效降解 RNA，并试剂盒浓缩后，可高效去除 RNA。