

美基玻璃纤维滤膜 C 性能验证报告

实验 1：经典质粒小量提取试剂盒对比数据

实验流程：取 3ml/7ml/9ml 菌液，离心收集后，加入 400 μ l Buffer P1 重悬，400 μ l Buffer P2 裂解，560 μ l Buffer P3 中和，离心得上清液，转移 1300 μ l 上清液至小量柱中抽滤过柱吸附 DNA，用 PW1 清洗一次，用 PW2 清洗两次，空甩，最后用 150 μ l Elution Buffer 洗脱出 DNA，然后测量 OD 值。

玻纤滤膜与柱子	菌液用量	浓度(ng/ μ l)	产量(μ g)	A260/A280	A260/230
2 层美基玻纤膜 C	3ml 菌液	151.4	22.7	1.91	2.21
		165.8	24.9	1.89	2.12
3 层美基玻纤膜 C		166.6	25.0	1.91	2.30
		175.0	26.3	1.92	2.29
3 层美基玻纤膜 C，膜压得超紧		175.2	26.3	1.91	2.21
		176.7	26.5	1.91	2.25
3 层美基玻纤膜 A		170.0	25.5	1.92	2.28
		178.5	26.8	1.92	2.27
10 层美基玻纤膜 B		179.1	26.9	1.91	2.18
		179.9	27.0	1.91	2.27
4 层 Whatman GFB		176.5	26.5	1.92	2.17
		177.4	26.6	1.91	2.20
2 层美基玻纤膜 C	7ml 菌液	208.3	31.3	1.91	2.24
		185.9	27.9	1.91	2.24
3 层美基玻纤膜 C		347.9	52.2	1.92	2.29
		296.1	44.4	1.92	2.29
3 层美基玻纤膜 C，膜压得超紧		333.7	50.1	1.91	2.25
		329.4	49.4	1.92	2.16
3 层美基玻纤膜 A		315.8	47.4	1.93	2.26
		338.2	50.7	1.93	2.28
10 层美基玻纤膜 B		263.2	39.5	1.92	2.28
		248.7	37.3	1.92	2.26
4 层 Whatman GFB		273.0	41.0	1.91	2.30
		273.0	41.0	1.91	2.30
2 层美基玻纤膜 C	9ml 菌液	224.5	33.7	1.91	2.28
		210.1	31.5	1.89	2.03
3 层美基玻纤膜 C		300.5	45.1	1.91	2.25
		366.9	55.0	1.91	2.23
3 层美基玻纤膜 C，膜压得超紧		360.1	54.0	1.92	2.29
		364.2	54.6	1.92	2.27
3 层美基玻纤膜 A		329.5	49.4	1.90	2.09
		352.7	52.9	1.86	1.89
10 层美基玻纤膜 B		278.8	41.8	1.91	2.25
		270.9	40.6	1.90	2.18
4 层 Whatman GFB		345.8	51.9	1.91	2.18
		332.9	49.9	1.91	1.51

结论：

- 2 层玻纤滤膜 C 最高载量为 30 μ g。3 层玻纤滤膜 C 最高载量为 45 μ g，3 层玻纤滤膜 A 最高载量为 45 μ g，10 层玻纤滤膜 B 最高载量为 40 μ g。
- C 膜压紧与不压紧与产量相关不大，从抽滤效果来看，压紧 C3 与 4 层 121 抽滤速度相当。

实验 2：无内质粒小量提取试剂盒对比数据

实验流程：取 2.0ml/6.0ml/9ml 菌液，离心收集后，加入 500 μ l Buffer P1 重悬，500 μ l Buffer P2 裂解，500 μ l Buffer NS3 中和，离心得上清液，加入 0.3 倍异丙醇混匀，转移混合液至小量柱中抽滤过柱吸附 DNA，用 PW1 清洗一次，用 PW2 清洗两次，空甩，最后用 150 μ l Elution Buffer 洗脱出 DNA，然后测量 OD 值。

柱子名称	菌液用量	核酸(ng/ μ l)	产量 (μ g)	A260/A280	A260/A230
2 层美基玻纤膜 C	2.0ml 菌液	63.4	9.5	1.85	1.48
		61.1	9.2	1.87	1.89
3 层美基玻纤膜 C		61.3	9.2	1.86	1.59
		57.5	8.6	1.83	0.46
3 层美基玻纤膜 C, 膜压得超紧		68.5	10.3	1.86	1.43
		68.3	10.3	1.84	1.73
3 层美基玻纤膜 A		66.5	10.0	1.82	1.66
		73.2	11.0	1.81	1.16
10 层美基玻纤膜 B		68.3	10.3	1.82	1.54
		71.1	10.7	1.83	1.65
4 层 Whatman GFB		68.8	10.3	1.83	1.36
		69.2	10.4	1.85	1.48
2 层美基玻纤膜 C	6.0ml 菌液	205.8	30.9	1.89	2.24
		198.7	29.8	1.91	2.17
3 层美基玻纤膜 C		236	35.4	1.90	1.69
		232	34.8	1.9	2.28
3 层美基玻纤膜 C, 膜压得超紧		236.0	35.4	1.90	1.69
		198.7	29.8	1.91	2.17
3 层美基玻纤膜 A		228.2	34.2	1.90	2.22
		213.5	32.0	1.89	2.19
10 层美基玻纤膜 B		237.2	35.6	1.89	2.10
		227.4	34.1	1.89	2.17
4 层 Whatman GFB		222.1	33.3	1.89	2.19
		221.1	33.2	1.89	2.18
2 层美基玻纤膜 C	9.0ml 菌液	271.5	40.7	1.90	2.31
		286.3	43.0	1.91	2.35
3 层美基玻纤膜 C		323.6	48.5	1.91	2.35
		321.3	48.2	1.91	2.30
3 层美基玻纤膜 C, 膜压得超紧		322.0	48.3	1.90	2.38
		320.4	48.1	1.91	2.36
3 层美基玻纤膜 A		312.2	46.8	1.92	2.27
		310.2	46.5	1.91	2.25
10 层美基玻纤膜 B		271.5	40.7	1.90	2.31
		306.2	45.9	1.91	2.36
4 层 Whatman GFB		324.2	48.6	1.90	2.39
		315.4	47.3	1.90	2.38

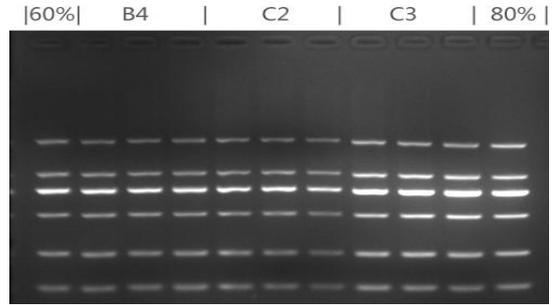
结论：

- 在醇类介导体系中，2 层玻纤滤膜 C 最高载量为 30 μ g。3 层玻纤滤膜 C 最高载量为 45 μ g，3 层玻纤滤膜 A 最高载量为 45 μ g，10 层玻纤滤膜 B 最高载量为 45 μ g。
- C 膜压紧与不压紧与产量相关不大，从抽滤效果来看，压紧 C3 与 4 层 121 抽滤速度相当。

实验 3：琼脂糖凝胶 DAN 纯化的对比数据

凝胶 DNA 回收效果(宏观):取 20 μ l DL2000 DNA Marker 至 1.5ml 离心管中, 加入 300mg 凝胶块混匀, 然后加入 320 μ l 溶胶液 GDP,55 温育 10 分钟溶化凝胶, 转移全部溶胶液至柱子中离心, 用 300 μ l 溶胶液 GDP 清洗一次, 用 Buffer DW2 清洗两次, 空甩, 最后用 40 μ l Elution Buffer 进行洗脱, 取 10 μ l 上样于 1%凝胶, 原始 Marker 分别上样 3 μ l(60%)和 4 μ l (80%)。测 OD 值。

柱子	核酸浓度 (ng/ μ l)	产量 ug	260/280	260/230
4 层 Whatman GFB	33.6	1.3	1.95	1.07
	36.9	1.5	1.98	1.11
	35.9	1.4	1.92	1.09
2 层美基玻纤膜 C	32.2	1.3	2.02	1.19
	26.9	1.1	2.02	0.28
	24.9	1.0	2.17	0.39
3 层美基玻纤膜 C	34.0	1.4	1.98	0.49
	31.0	1.2	2.03	1.22
	34.4	1.4	1.90	0.18



凝胶 DNA 回收效果(微量核酸):取 2 μ l DL2000 DNA Marker 至 1.5ml 离心管中, 加入 300mg 凝胶块混匀, 然后加入 320 μ l 溶胶液 GDP,55 温育 10 分钟溶化凝胶, 转移全部溶胶液至柱子中离心, 用 300 μ l 溶胶液 GDP 清洗一次, 用 Buffer DW2 清洗两次, 空甩, 最后用 100 μ l EB 洗脱, 测量 qubit, 计算回收率。

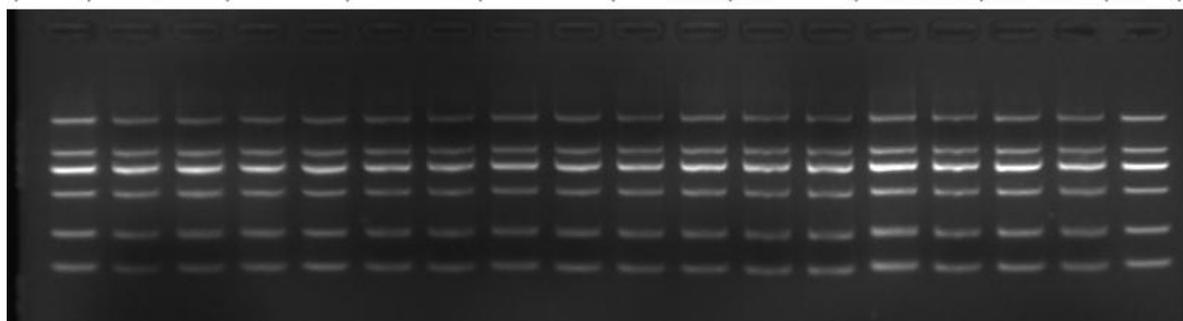
柱子	浓度	总量	回收率
4 层 Whatman GFB	1.94	194	88%
	1.96	196	89%
	1.79	179	81%
3 层美基膜 C	1.81	181	82%
	1.97	197	90%
	1.75	175	80%
2 层美基膜 C	1.78	178	81%
	2.14	214	97%
原始 Marker 的浓度	2.2	220	100%

实验 4: 琼脂糖凝胶 DNA 大体积纯化的对比数据

取在 500ml 瓶子中, 加入 100ml 电泳缓冲液, 2.0 克琼脂糖粉末, 微波炉加热煮沸让琼脂糖粉末完全溶解, 室温放置 10 分钟降低温度至 65 度左右, 加入 510ul DL2000 DNA Marker, 颠倒混匀 20 次, 然后再加入 150ml Buffer GDP 混匀, 55 度温育 10 分钟。取 15ml 混和液至柱子中进行抽滤, 记录抽滤时间, 用 1ml Buffer GDP 洗一次, 用 1ml Buffer DW2 清洗两次, 空甩 2 分钟, 最后用 50ul Elution Buffer 进行洗脱一次, 测 qubit, 测 OD 值, 电泳, 计算回收率。

柱子类型	抽滤时间	qubit 浓度	产量	回收率	260/280	260/230	OD 浓度
4 层 Whatmam GFB	33 分钟	26.00	1.56	81.3%	1.84	0.37	29.05
	27 分钟	27.50	1.65	85.9%	1.85	0.34	38.86
4 层 Whatmam GFF	55 分钟	23.00	1.38	71.9%	1.83	0.94	37.39
	55 分钟	28.50	1.71	89.1%	1.85	0.44	39.66
纯化柱 B10 (松) 1.7~2.0mm	18 分钟	25.70	1.54	80.3%	2.03	0.03	41.82
	20 分钟	27.50	1.65	85.9%	1.86	0.06	37.93
纯化柱 B10 (压紧) 1.0~1.3mm	21 分钟	23.70	1.42	74.1%	2.30	0.07	52.68
	23 分钟	22.30	1.34	69.7%	1.86	0.10	38.52
纯化柱 A3 (松) 1.7~2.0mm	21 分钟	26.50	1.59	82.8%	1.79	0.07	39.49
	21 分钟	24.60	1.48	76.9%	1.77	0.07	39.50
纯化柱 A3 (压紧) 1.0~1.3mm	22 分钟	28.00	1.68	87.5%	1.82	0.04	43.64
	25 分钟	29.00	1.74	90.6%	1.92	0.04	44.56
纯化柱 C3 (松) 1.7~2.0mm	23 分钟	29.00	1.74	90.6%	2.53	0.22	62.91
	24 分钟	29.50	1.77	92.2%	1.83	0.04	44.53
纯化柱 C3 (压紧) 1.0~1.3mm	27 分钟	29.00	1.74	90.6%	2.04	0.05	50.15
	26 分钟	27.00	1.62	84.4%	1.76	0.13	41.29

|60%| B4 | CF | B10松 | B10紧 | A3松 | A3紧 | C3松 | C3紧 |80%|



实验 5: 游离 DNA 大体积纯化的对比数据

大体积 ACL/ACB: 取在 500ml 瓶子中, 加入 85ml 纯净水和 68ml Buffer ACL 和 51ul DL2000 DNA Marker, 以及 153ml Buffer ACB, 颠倒混匀 20 次, -20 度冰箱放置 10 分钟, 取 18ml 混和液至柱子中进行抽滤, 记录抽滤时间, 用 1ml Buffer DCW1 清洗一次, 用 1ml Buffer DCW2 清洗两次, 空甩, 最后用 100ul Elution Buffer 进行洗脱一次, 测 qubit, 计算回收率.				
柱子类型	抽滤时间	qubit 浓度	产量 ng	回收率
原始: 3ul DL2000+97ul Elution Buffer,混匀后再测 qubit, 作为对照		2.10	210	100.0%
4 层 Whatmam GFB	23 分钟	1.67	167	79.5%
	22 分钟	1.91	191	91.0%
4 层 Whatmam GFF	28 分钟	2.10	210	100.0%
	29 分钟	1.96	196	93.3%
纯化柱 B10 (松) 1.7-2.0mm	17 分钟	1.96	196	93.3%
	16 分钟	1.81	181	86.2%
纯化柱 B10 (紧) 1.0~1.3mm	18 分钟	2.06	206	98.1%
	17 分钟	1.92	192	91.4%
纯化柱 A3 (松) 1.7-2.0mm	18 分钟	2.16	216	102.9%
	19 分钟	1.99	199	94.8%
纯化柱 A3 (紧) 1.0~1.3mm	20 分钟	1.96	196	93.3%
	20 分钟	1.68	168	80.0%
纯化柱 C3 (松) 1.7-2.0mm	19 分钟	2.04	204	97.1%
	21 分钟	2.14	214	101.9%
纯化柱 C3 (紧) 1.0~1.3mm	21 分钟	2.18	218	103.8%
	22 分钟	2.20	220	104.8%

实验 6: 血液和组织 DNA 提取对比应用

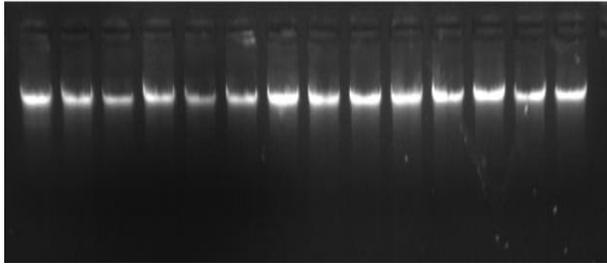
流程 (微量): 取 10 μ l 抗凝全血至 1.5ml 离心管, 加入 240 μ l 纯水至总体积为 250 μ l, 加入 250 μ l Buffer AL 和 25 μ l Proteinase K, 颠倒混匀 10 次, 涡旋混匀 10 秒, 55 度振荡温育 15 分钟, 加入 250 μ l 无水乙醇, 涡旋混匀 10 秒, 转移 750 μ l 混匀液至柱子中离心, 用 500 μ l Buffer GW1 清洗一次, 用 650 μ l Buffer GW2 清洗两次, 空甩, 最后用 60 μ l Elution Buffer 进行洗脱 (重复洗脱, 加入 Elution Buffer 至柱子后, 静置 3 分钟再离心), 然后电泳和测量 Qubit.

柱子	Qubit 值 ng/ μ l	洗脱体积	产量 (ng)	电泳
4 层 Whatmam GFB	3.06	60 μ l	183.6	
	2.46	60 μ l	147.6	
10 层美基膜 B	2.94	60 μ l	176.4	
	3.88	60 μ l	232.8	
3 层美基膜 C	3.80	60 μ l	228	
	3.94	60 μ l	236.4	
	3.92	60 μ l	235.2	
2 层美基膜 C	3.74	60 μ l	224.4	
	4.18	60 μ l	250.8	
	3.90	60 μ l	234	

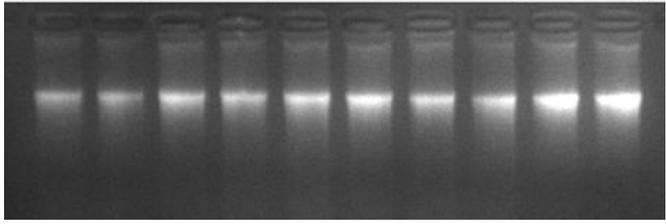
流程 (大量): 取 250 μ l 抗凝猪血至 1.5ml 离心管, 加入 250 μ l Buffer AL 和 25 μ l Proteinase K, 颠倒混匀 10 次, 涡旋混匀 10 秒, 70 度振荡温育 10 分钟, 加入 250 μ l 无水乙醇, 涡旋混匀 10 秒, 转移全部混匀液至柱子中离心, 用 500 μ l Buffer DW1 清洗一次, 用 650 μ l Buffer GW2 清洗两次, 空甩, 最后加入 100 μ l 预热至 65 度 Elution Buffer 进行洗脱 (重复洗脱, 加入 Elution Buffer 至柱子后, 静置 3 分钟再离心), 然后电泳和测量 OD.

柱子种类	核酸 (ng/ μ l)	产量 μ g	260/280	260/230	电泳检测
4 层 Whatmam GFB	30.70	3.07	1.75	0.91	
	25.53	2.55	1.68	0.82	
2 层美基膜 C	32.12	3.21	1.80	1.21	
	30.12	3.01	1.78	1.25	
3 层美基膜 C	30.32	3.03	1.75	0.98	
	31.68	3.17	1.77	0.87	
10 层美基膜 B	28.52	2.85	1.75	1.08	
	24.86	2.49	1.77	1.46	
3 层美基膜 A	40.09	4.01	1.75	0.91	
	30.91	3.09	1.77	0.83	

流程（大量）：取 250 μ l 抗凝羊血至 1.5ml 离心管，加入 250 μ l Buffer AL 和 25 μ l Proteinase K，颠倒混匀 10 次，涡旋混匀 10 秒，70 度振荡温育 10 分钟，加入 250 μ l 无水乙醇，涡旋混匀 10 秒，转移全部混匀液至柱子中离心，用 500 μ l Buffer DW1 清洗一次，用 650 μ l Buffer GW2 清洗两次，空甩，最后加入 100 μ l 预热至 65 度 Elution Buffer 进行洗脱（重复洗脱，加入 Elution Buffer 至柱子后，静置 3 分钟再离心），然后电泳和测量 OD。

柱子种类	核酸(ng/ μ l)	产量 μ g	260/ 280	260/ 230	电泳检测
4 层 Whatmam GFB	40.74	6.11	1.83	1.56	
	45.03	6.75	1.83	1.76	
2 层美基膜 C	54.77	8.22	1.84	1.51	
	49.58	7.44	1.82	1.40	
3 层美基膜 C 压紧	49.19	7.38	1.81	1.32	
	56.68	8.50	1.84	1.60	
3 层美基膜 C 不压紧	50.15	7.52	1.83	1.69	
	57.36	8.60	1.85	1.50	
4 层美基膜 C	53.18	7.98	1.84	1.59	
	55.70	8.36	1.84	1.76	
10 层美基膜 B	55.48	8.32	1.81	1.19	
	54.77	8.22	1.84	1.51	
3 层美基膜 A	49.58	7.44	1.82	1.40	
	49.19	7.38	1.81	1.32	
	56.68	8.50	1.84	1.60	

流程（大量）：取 30mg 鸡肉组织尽量剪碎，加入 250 μ l Buffer ATL 和 20 μ l Proteinase K，55 度振荡温育 2 小时，加入 10 μ l RNase A 混匀，室温放置 10 分钟，加入 250 μ l Buffer AL，涡旋混匀 10 秒，65 度温育 10 分钟，加入 250 μ l 无水乙醇，涡旋混匀 10 秒，转移全部混匀液至柱子中离心，用 500 μ l Buffer GW1 清洗一次，用 650 μ l Buffer GW2 清洗两次，空甩，最后加入 100 μ l 预热至 65 度 Elution Buffer 进行洗脱（重复洗脱，加入 Elution Buffer 至柱子后，静置 3 分钟再离心），然后电泳和测量 OD。

柱子种类	核酸(ng/ μ l)	产量 μ g	260/ 280	260/ 230	电泳检测
4 层 Whatmam GFB	30.19	3.02	1.81	1.39	
	31.03	3.10	1.81	1.42	
2 层美基膜 C	39.37	3.94	1.83	1.87	
	38.14	3.81	1.87	2.03	
3 层美基膜 C	43.98	4.40	1.86	1.73	
	39.02	3.90	1.92	2.19	
10 层美基膜 B	43.24	4.32	1.90	1.61	
	39.28	3.93	1.87	1.66	
3 层美基膜 A	39.49	3.95	1.93	2.16	
	38.38	3.84	1.89	1.97	