

## 美基玻璃纤维滤膜 D 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 100ml 菌液，离心收集后，加入 6ml Buffer P1 重悬，6ml Buffer P2 裂解，8.4ml Buffer P3 中和，离心得上清液，转移不同体积的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 100 $\mu$ l Elution Buffer 洗脱出 DNA，然后测量 OD 值。

玻纤滤膜与柱子	上清液用量	浓度(ng/ $\mu$ l)	产量( $\mu$ g)	A260/A280	A260/230
3 层美基玻纤膜 C	600ul	159.4	15.9	1.90	2.26
		147.5	14.8	1.89	2.24
4 层美基玻纤膜 D		175.5	17.6	1.90	2.27
		149.7	15.0	1.89	2.30
3 层美基玻纤膜 C	1280ul	303.8	30.4	1.91	2.28
		258.8	25.9	1.90	2.31
4 层美基玻纤膜 D		343.3	34.3	1.90	2.30
		268.5	26.9	1.89	2.28
3 层美基玻纤膜 C	1700ul	397.6	39.8	1.90	2.29
		436.0	43.6	1.91	2.30
4 层美基玻纤膜 D		392.3	39.2	1.90	2.31
		417.6	41.8	1.91	2.30

结论：4 层玻纤滤膜 D 与 3 层玻纤滤膜 C 相当，最为载量为 40 $\mu$ g。

### 实验 2：质粒快提试剂盒对比数据

实验流程：取 100ml 8 号菌液，8000rpm 离心 3 分钟收集细菌，倒弃培养液，加入 5ml Buffer P1 重悬，5ml Buffer P2 裂解，10ml Buffer BP3 中和，离心得上清液，转移不同体积的上清液至柱子中，然后用 500ul PW1 清洗一次，用 PW2 清洗两次，用 100  $\mu$ l Elution Buffer 洗脱出 DNA，然后测量 OD 值。

柱子名称	上清液用量	核酸(ng/ $\mu$ l)	产量 ( $\mu$ g)	A260/A280	A260/A230
3 层美基玻纤膜 C	600ul	130.1	13.0	1.90	2.19
		127.8	12.8	1.89	2.20
4 层美基玻纤膜 D		133.7	13.4	1.90	2.23
		167.3	16.7	1.90	2.11
3 层美基玻纤膜 C	1500ul	299.3	29.9	1.89	2.21
		343.6	34.4	1.90	2.13
4 层美基玻纤膜 D		319.5	32.0	1.90	2.20
		353.0	35.3	1.90	2.14
3 层美基玻纤膜 C	2000ul	451.0	45.1	1.91	2.30
		430.5	43.1	1.91	2.28
4 层美基玻纤膜 D		468.1	46.8	1.91	2.27
		412.4	41.2	1.91	2.21

结论：在快提低胍盐体系中，4 层玻纤滤膜 D 与 3 层玻纤滤膜 C 相当，最为载量为 40 $\mu$ g。

### 实验 3：无内质粒提取试剂盒对比数据

实验流程：取 100ml 8 号菌液，8000 rpm 离心 3 分钟收集细菌，倒弃培养液。加入 5ml Buffer P1 重悬，5ml Buffer P2 裂解，5ml Buffer NS3 中和，离心得上清液，加入 0.1 倍滤液体积 Buffer ER2 和 1/3 倍滤液体积的异丙醇混匀，转移不同体积混合液至柱子中，用 500ul GWP 清洗一次，用 PW2 清洗两次，最后用 100ul Elution Buffer 洗脱出 DNA，然后测量 OD 值。

柱子名称	上清液用量	核酸(ng/μl)	产量 (μg)	A260/A280	A260/A230
3 层美基玻纤膜 C	600ul	115.3	11.5	1.91	2.08
		95.9	9.6	1.90	2.06
4 层美基玻纤膜 D		100.1	10.0	1.90	2.18
		102.7	10.3	1.91	2.31
3 层美基玻纤膜 C	1800ul	284.0	28.4	1.88	2.23
		275.7	27.6	1.88	2.07
4 层美基玻纤膜 D		319.6	32.0	1.88	2.00
		313.3	31.3	1.87	1.98
3 层美基玻纤膜 C	2400ul	407.7	40.8	1.91	2.30
		438.3	43.8	1.91	2.32
4 层美基玻纤膜 D		434.7	43.5	1.91	2.33
		459.7	46.0	1.90	2.30

结论：在快提低胍盐体系中，4 层玻纤滤膜 D 与 3 层玻纤滤膜 C 相当，最为载量为 40ug。

## 实验 4: 凝胶 DNA 回收对比数据

**凝胶 DNA 回收效果 (宏观):** 取 25 $\mu$ l DL2000 DNA Marker 至 1.5ml 离心管中, 加入 300mg 2% 琼脂糖凝胶块, 加入 320 $\mu$ l Buffer GDP 混匀, 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 $\mu$ l Buffer GDP 清洗一次, 用 Buffer DW2 清洗两次, 空甩, 最后用 50 $\mu$ l Elution Buffer 进行洗脱, 测 OD 值和 qubit, 并计算回收率。

柱子的类型	核酸浓度	产量 (ug)	260/280	260/230	回收率
4 层 Whatman GFB	36.0	1.82	1.84	0.181	75%
	39.3	1.96	1.87	0.084	82%
	33.8	1.68	1.84	0.181	70%
4 美基玻纤膜 D	42.5	2.12	1.84	0.237	89%
	41.4	2.07	1.84	0.237	87%
	39.5	1.97	1.95	0.045	83%

**凝胶 DNA 回收效果 (微观):** 取 2 $\mu$ l DL2000 DNA Marker 至 1.5ml 离心管中, 加入 300mg 凝胶块混匀, 然后加入 320 $\mu$ 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 $\mu$ l 溶胶液 GDP 清洗一次, 用 Buffer DW2 清洗两次, 空甩, 最后用 100 $\mu$ l Elution Buffer 进行洗脱, 测 qubit。

柱子的类型	Qubit 浓度 ng/ul	产量 (ng)	回收率
4 层 Whatman GFB	1.36	136	86%
	1.12	112	69%
	1.12	112	69%
4 美基玻纤膜 D	1.30	130	82%
	1.32	130	83%
	1.20	120	75%

**结论:** 取玻纤滤膜 D 和 Whatman GFB 生产 4 层小量柱, 然后采用 D2111 凝胶回收试剂盒对比不同滤膜的回收率, 实验采用了在 300mg 2% 琼脂糖凝胶块中, 添加 2.0ug 或 150ng DNA, 然后再按 D2111 的流程进行回收, 结果表明, 美基玻纤滤膜 D 的回收率更高, 明显高于竞品 Whatman GFB.

## 实验 5: 产物 DNA 回收对比数据

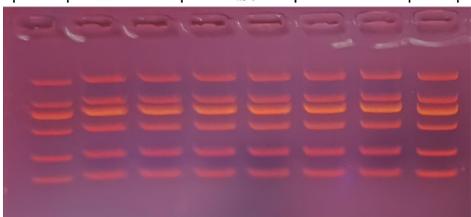
**DNA 回收效果 (异硫氰酸胍体系, 大体积):** 在 10ml 灭菌水中, 加入 30ul DL2000 DNA Marker 混匀, 加入 10ml Buffer GDP, 颠倒混匀, 放置 5 分钟。转移 20ml 混和液至柱子中抽滤, 用 1ml Buffer DW2 清洗两次, 空甩, 最后用 60ul Elution Buffer 进行洗脱, 取 10ul 上样于 1%凝胶, 原始 Marker 分别上样 3ul(60%)和 4ul (80%),测 OD 值。

柱子	核酸浓度	产量 (ug)	260/280	260/230	抽滤时间
4 层 Whatman GFB	30.203	1.812	1.927	0.486	4min
	31.493	1.890	1.93	0.149	4min
4 美基玻纤膜 D	28.900	1.734	1.955	0.363	2min
	28.492	1.710	1.837	0.195	2min
4 层美基玻纤膜 MGB	28.459	1.708	1.883	0.1	7min
	28.845	1.731	1.814	0.164	7min



**DNA 回收效果 (盐酸胍体系, 大体积):** 在 5 ml 灭菌水中, 加入 30ul DL2000 DNA Marker 混匀, 加入 15ml Buffer DP, 颠倒混匀, 放置 5 分钟。转移 20ml 混和液至柱子中抽滤, 用 1ml Buffer DW2 清洗两次, 空甩, 最后用 60ul Elution Buffer 进行洗脱, 取 10ul 上样于 1%凝胶, 原始 Marker 分别上样 3ul(60%)和 4ul (80%),测 OD 值。

柱子	核酸浓度	产量 (ug)	260/280	260/230	抽滤时间
4 层 Whatman GFB	29.905	1.794	1.891	2.888	7min
	28.055	1.683	1.859	1.886	7min
4 美基玻纤膜 D	28.397	1.704	1.974	2.91	4min
	29.224	1.753	1.886	1.385	4min
4 层美基玻纤膜 MGB	27.352	1.641	1.937	1.861	7min
	26.759	1.606	1.895	1.941	7min



**结论:** 取美基生产的玻纤膜 MGB, 玻纤滤膜 D 或 Whatman GFB 生产 4 层小量柱, 然后采用 D2121, PCR 产物回收试剂盒对比不同滤膜的回收率, 实验采用了在大体积 5-10ml 灭菌水, 添加 30ul DL2000 DNA Marker(~2ug DNA), 然后再按 D2121 的流程进行回收, 结果表明, 3 种滤膜, 在超大体积样品都可以高效回收 DNA.

## 实验 6: 游离 DNA 回收对比数据

**大体积 DNA 回收率:** 取 5ml 猪血浆至 50ml 离心管中, 加入 4ml Buffer ACL, 0.4 ml Proteinase K, 和 30ul DL2000 DNA Marker, 颠倒混匀 20 次, 55 度温育 30 分钟, 加入 9 ml Buffer ACB2, 颠倒混匀 20 次, -20 度冰箱放置 10 分钟, 取 18ml 混合液至柱子中进行抽滤, 用 1ml Buffer DCW1 清洗一次, 用 1ml Buffer DCW2 清洗两次, 空甩, 最后用 60ul Elution Buffer 进行洗脱 (重复洗脱)。取 10ul 上样于 1% 凝胶, 原始 Marker 分别上样 3ul(60%) 和 4ul(80%), 测量 Qubit, 计算回收率。

柱子类型	抽滤时间	核酸浓度	260/280	260/230	Qubit	qubit 总量	回收率
4 层 Whatman GFB	20min	38.041	1.723	0.262	6.34	380.4	76%
	21min	39.612	1.803	0.697	6.60	396	79%
	20min	36.776	1.713	0.076	6.13	367.8	74%
4 美基玻纤膜 D	14min	43.037	1.685	0.078	7.17	430.2	86%
	13min	40.503	1.583	0.04	6.75	405	81%
	13min	40.007	1.625	0.046	6.67	400.2	80%
4 层美基玻纤膜 MGB	18min	46.252	1.627	0.038	7.71	462.6	93%
	17min	37.593	1.71	0.072	6.27	376.2	75%
	17min	43.955	1.605	0.035	7.33	439.8	88%
原始 Marker 浓度: 10ul+10ul 水混匀后, 再测浓度。					8.32	499.2	100%

