

P1811S-F-4800 性能验证报告

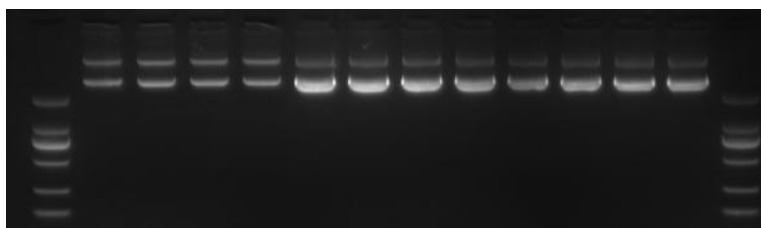
实验 1: 高拷贝载体的菌液梯度与产量

- 菌液上清的制备: 取 1ml、3ml 或 5ml 培养过夜的 LB 培养液, 离心收集后, 加入 0.2ml Buffer P1/RNase A 混合液重悬, 加入 0.2ml Buffer P2 裂解, 加入 0.2ml Buffer N3 中和, 10000 xg 离心 10 分钟, 取 500ul 上清液上机抽提。
- 96 孔板预装和 MagMix 96 运作参数

96 孔预装板		序号	名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
						时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
样品板	500ul 上清	1	吸磁	3	850	10	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
	250ul Bind Beads	2	结合	1	750	300	8	0	0	90	0	0	自动	/	/
清洗板 1	250ul 洗涤液 GWP 或 PW2	3	清洗 1	2	250	60	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
		4	清洗 2	3	850	60	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
清洗板 2	850ul 洗涤液 PW2	5	干燥	6	80	0	8	3min/晾干		0	0	0	自动	/	/
		6	洗脱	6	80	300	8	0	0	90	0	40	自动	/	/
洗脱板	80ul 洗脱液 EB	7	弃磁	3	850	10	8	0	0	0	0	0	自动	/	/

● 实验结果

菌液量	清洗液	核酸(ng/ul)	产量 (ug)	A260/A280	A260/A230
1ml 培养过夜的 LB 培养液	清洗 1: GWP 清洗 2: PW2	58.7	4.7	1.91	2.16
		60.8	4.9	1.90	2.18
		56.0	4.5	1.91	2.02
		57.0	4.6	1.90	2.10
	清洗 1: PW2 清洗 2: PW2	71.3	5.7	1.93	2.32
		69.5	5.6	1.98	2.38
		66.3	5.3	1.95	2.02
		64.1	5.1	1.98	2.03
3ml 培养过夜的 LB 培养液	清洗 1: GWP 清洗 2: PW2	159.8	12.8	1.94	2.26
		154.0	12.3	1.95	2.30
		149.9	12.0	1.91	2.00
		150.4	12.0	1.92	1.95
	清洗 1: PW2 清洗 2: PW2	219.3	17.6	1.95	2.35
		215.2	17.2	1.98	2.51
		208.1	16.7	1.95	2.24
		208.8	16.7	1.95	2.24
5ml 培养过夜的 LB 培养液	清洗 1: GWP 清洗 2: PW2	276.8	22.1	1.93	2.30
		274.9	22.0	1.94	2.27
		261.9	21.0	1.94	2.16
		262.6	21.0	1.94	2.19
	清洗 1: PW2 清洗 2: PW2	378.9	30.3	1.96	2.35
		380.1	30.4	1.96	2.43
		400.5	32.0	1.96	2.35
		375.9	30.1	1.95	2.35



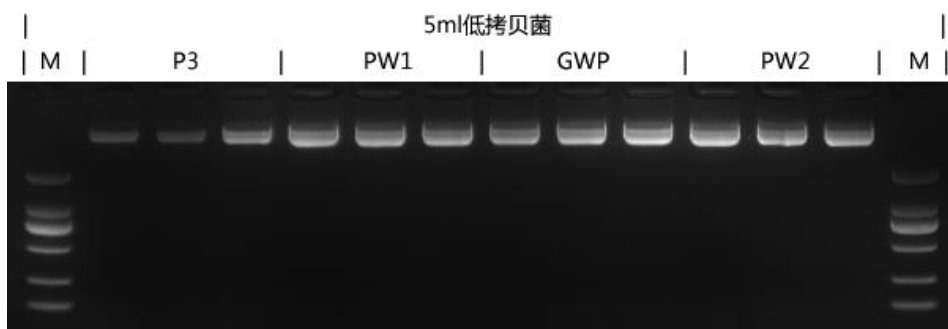
实验 2：低拷贝载体的产量与 RNA 污染

- 菌液上清的制备：取 5ml 培养过夜的 LB 培养液，离心收集后，加入 0.2ml Buffer P1/RNase A 混合液重悬，加入 0.2ml Buffer P2 裂解，加入 0.2ml Buffer N3 中和，10000 xg 离心 10 分钟，取 500ul 上清液上机抽提。
- 96 孔板预装和 MagMix 96 运作参数

96 孔预装板		序号	名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			加热		
						时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部	吸磁	板位	温度
样品板	500ul 上清	1	吸磁	3	850	10	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
	250ul Bind Beads	2	结合	1	750	300	8	0	0	90	0	0	自动	/	/
清洗板 1	250ul 洗涤液 P3、PW1、GWP 或 PW2	3	清洗 1	2	250	60	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
		4	清洗 2	3	850	60	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
清洗板 2	850ul 洗涤液 PW2	5	干燥	6	80	0	8	3min/晾干		0	0	0	自动	/	/
		6	洗脱	6	80	300	8	0	0	90	0	40	自动	/	/
洗脱板	80ul 洗脱液 EB	7	弃磁	3	850	10	8	0	0	0	0	0	自动	/	/

● 实验结果

菌液量	清洗液	核酸(ng/ul)	产量 (ug)	A260/A280	A260/A230
5ml 培养过夜的 LB 培养液	清洗 1: P3 清洗 2: PW2	75.3	6.0	1.92	2.31
		76.1	6.1	1.92	2.29
		70.3	5.6	1.91	2.11
		70.3	5.6	1.91	2.08
	清洗 1: PW1 清洗 2: PW2	85.7	6.9	1.94	2.41
		84.5	6.8	1.93	2.38
		78.5	6.3	1.89	1.90
		78.5	6.3	1.92	2.21
	清洗 1: GWP 清洗 2: PW2	82.3	6.6	1.91	2.18
		84.6	6.8	1.91	2.18
		74.5	6.0	1.91	2.11
		77.4	6.2	1.91	2.07
	清洗 1: PW2 清洗 2: PW2	239.7	19.2	1.97	2.35
		225.0	18.0	1.96	2.33
		199.7	16.0	1.95	2.25
		207.7	16.6	1.95	2.17



结果表明：

- 1、再低拷贝载体或富含 RNA 菌液中，使用 PW1 或 GWP 作为清洗 1，可以高效洗脱 RNA 污染。
- 2、在高拷贝载体中，使用 GWP 清洗时，最高载量为~20ug；若直接用 PW2 清洗时，最高载量为 30ug。