P1912 磁珠法噬菌体 DNA 性能验证报告

实验一：DNA 提取效果

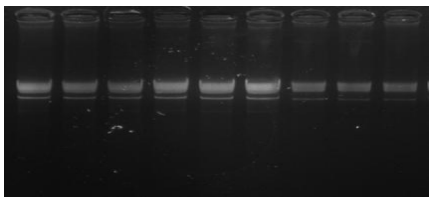
- **菌液上清的制备：**按标准流程培养 50ml M13 噬菌体，取 1.8ml 培养液至 2.0ml 离心管，12,000xg 离心 1 分钟去除细菌，转移 1.6ml 上清液，用 P1912-TL-06 进行提取，用 MagMix32 核酸提取仪上机提取。

板孔	试剂	添加样品
孔 1	200µl Buffer UC	在孔 1 和孔 2，加入 800µl 上清液和 10µl Proteinase K
孔 2	200µl Buffer UC	
孔 3	600µl洗涤液GXP & 2µl Reagent DX	
孔 4	30µl磁珠液MPN & 600 µl 洗涤液 GW2	
孔 5	600µl洗涤液GW2	
孔 6	100µl洗脱液EB	

- 提取后，测 OD 分析

	核酸(ng/uL)	产量 ug	A260/A280	A260/A230
M13 噬菌体 DNA 提取	47.49	7.12	1.92	1.56
	44.29	6.64	1.93	1.64
	47.15	7.07	1.92	1.52
	43.08	6.46	1.91	1.63
	42.53	6.38	1.91	1.52
	43.95	6.59	1.92	1.73
	42.47	6.37	1.92	1.87
	43.58	6.54	1.93	1.25
	43.67	6.55	1.95	1.24

- 提取后电泳分析



实验二：DNase 预处理的效果 1

- **菌液上清的制备：**按标准流程培养 50ml Lambda 噬菌体，取 1.8ml 培养液至 2.0ml 离心管，12,000xg 离心 1 分钟去除细菌，转移 1.6ml 上清液，加入 0/10ul DNase I 和 80ul DNase Buffer 混匀，室温放置 20 分钟消化去除细菌 DNA，然后再用 P1912-TL-06 提取 DNA，提取后用 QPCR 验证细菌 DNA 的残留和噬菌体 DNA。

板孔	**试剂**	**添加样品**
孔 1	200μl Buffer UC	在孔 1 和孔 2，加入 800μl 上清液和 10μl Proteinase K
孔 2	200μl Buffer UC	
孔 3	600μl洗涤液GXP & 2μl Reagent DX	
孔 4	30μl磁珠液MPN & 600 μl 洗涤液 GW2	
孔 5	600μl洗涤液GW2	
孔 6	100μl洗脱液EB	

- QPCR 检测

预处理	噬菌体 DNA QPCR	细菌 DNA QPCR
0ul DNaseI	12.64	10.64
	12.11	11.11
	12.98	10.98
	12.64	10.64
10ul DNaseI	13.04	16.22
	13.11	16.62
	12.98	16.49
	13.14	16.86

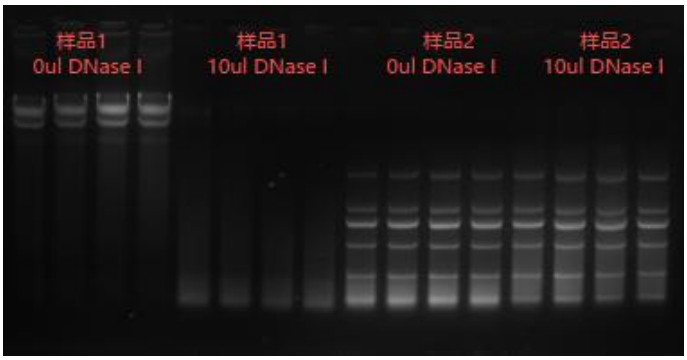
- 结果分析：用 DNase I 处理上清液可以大幅度降解宿主细胞 DNA（100 倍），对噬菌体 DNA 没有明显影响。

实验三：DNase 预处理的效果 2

- **样品制备 1：**转移 1.6ml Elution Buffer，加入 10ug gDNA 混匀，加入 0/10ul DNase I 和 80ul DNase Buffer 混匀，室温放置 20 分钟，然后再用 P1912-TL-06 提取 DNA，提取后电泳检测 DNA Marker 是否降解。
- **样品制备 2：**转移 1.6ml，加入 0/10ul DNase I 和 80ul DNase Buffer 混匀，室温放置 20 分钟，然后再用 P1912-TL-06 提取 DNA，提取时再加入 20ul DL2000 DNA Marker，提取后电泳检测 DNA Marker 是否降解。

板孔	试剂	添加样品
孔 1	200μl Buffer UC	在孔 1 和孔 2，加入 800μl 上清液和 10μl Proteinase K，样品 2 中再加入 20ul DL2000 DNA Marker
孔 2	200μl Buffer UC	
孔 3	600μl洗涤液GXP & 2μl Reagent DX	
孔 4	30μl磁珠液MPN & 600 μl 洗涤液 GW2	
孔 5	600μl洗涤液GW2	
孔 6	50μl洗脱液EB	

- 电泳分析



- 结果分析， DNase I 预处理可以高效降解游离在溶液中的 DNA，Buffer UC 和 Proteinase K 可以高效灭活反应的 DNase I，不会造成再添加的 DNA Marker 的降解。

实验条件二：Buffer PW1 清洗时间对产量的影响。

- **菌液上清的制备：**10,000xg 离心 3 分钟，收集 100ml 菌液。倒弃培养基，在吸水纸上轻轻拍打以吸尽残液，加入 5 ml Buffer P1/RNase A（预先加入 20ul Blue Plus）混和液至菌体中，高速涡旋重悬细菌。重悬液中加入 5mlP2，颠倒混匀 8-10 次加入 5ml Buffer N3 至裂解液，颠倒混匀 15-20 次或直至样品充分混匀。10,000 x g 离心 10 分钟。小心转移上清液至新的离心管中备用。

- 自动化上机提取

板孔	**试剂**	**测试条件**
结合板	500ul 上清液	250ul Bind Beads
清洗板 1	300ul Buffer PW1	清洗时间：1 分钟， 4min 分钟，8 分钟。
清洗板 2	500ul Buffer PW2	
洗脱板	60ulEB	

	放置时间	核酸(ng/uL)	产量（ug）	A260/A280	A260/A230
有 PW1 清洗	8min	385.81	23.15	1.93	2.28
		392.95	23.58	1.93	2.30
		414.71	24.88	1.93	2.32
	4min	379.78	22.79	1.93	2.29
		399.79	23.99	1.94	2.29
		413.89	24.83	1.94	2.31
	1min	396.85	23.81	1.93	2.28
		421.84	25.31	1.94	2.30
		427.66	25.66	1.94	2.30

结果分析：Bufer PW1 清洗时间，不会对产量带有很大的影响。

实验条件三：测试服务时，不同的菌种提取效果。

- **菌液上清的制备：来自于服务端的菌种，在 96 孔板中培养 1ml 2 X YT 培养液，然后按 P1811B 进行提取。**

样品检测号	试剂盒	位置	260/280	260/230	ng/μL		样品检测号	位置	260/280	260/230	ng/μL
1	P1811B, 0.5 倍 Bind Beads 作为结合条件，直接用 PW2 清洗一次。	A2	1.965	2.484	349.4	P1811B, 0.5 倍 Bind Beads 作为结合条件，用 300ul Buffer PW1 清洗一次，用 PW2 清洗一次。	17	A2	1.94	2.422	174
2		A3	1.962	2.521	429.4		18	A3	1.914	2.539	190.8
3		B2	1.944	2.594	284.4		19	B2	1.886	2.229	120.7
4		B3	1.981	2.589	281.5		20	B3	1.966	2.583	115.6
5		C2	1.972	2.597	211.8		21	C2	1.961	2.71	100.4
6		C3	1.984	2.636	252.9		22	C3	1.965	2.59	105.3
7		D2	1.974	2.654	276.4		23	D2	1.973	2.79	114.8
8		D3	1.979	2.648	319		24	D3	1.958	2.744	101.4
9		E2	1.966	2.643	252.8		25	E2	1.958	2.637	102.2
10		E3	1.969	2.646	252.8		26	E3	1.97	2.69	111.5
11		F2	1.952	2.672	242.2		27	F2	1.938	2.689	112.8
12		F3	1.974	2.645	228.4		28	F3	1.959	2.592	100.7
13		G2	1.989	2.575	279.5		29	G2	1.954	2.463	113.9
14		G3	1.981	2.624	254.7		30	G3	1.946	2.679	104.9
15		H2	1.971	2.54	274.2		31	H2	1.936	2.661	112.7
16		H3	1.98	2.631	238.2		32	H3	1.945	2.687	110.3