

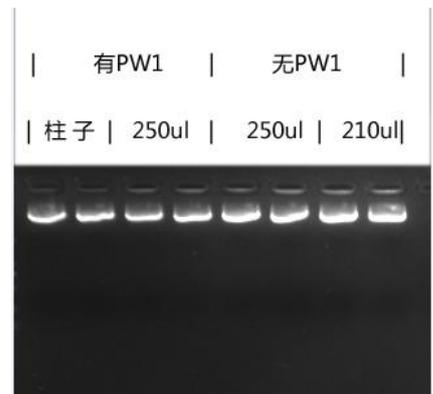
# P1811 高通量质粒小量提取性能验证报告

## 实验一：验证 Bind Beads 加入量对产量的影响，以及 Buffer PW1 清洗对产量的影响。

- **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 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	添加不同的 Binds Beads 体积对质粒产量的影响。210ul, 230ul, 250ul, 280ul, 300ul
清洗板 1	300ul Buffer PW1 或 500ul Buffer PW2	清洗板 1：用 PW1 清洗， 或直接用 PW2 清洗
清洗板 2	500ul Buffer PW2	
洗脱板	60ul EB	

试剂盒	结合条件	清洗条件	核酸浓度 (ng/ul)	产量 (ug)	A260/A280	A260/A230
柱法	P1001-02C, 相同菌液 相同洗脱液体积进行 对照		359	22	1.9	2.2
			369	22	1.92	2.2
			347	21	1.92	2.2
磁珠法 P1811	210ul Bind Beads	无 PW1 清洗	481	29	1.93	2.3
			454	27	1.96	2.27
			452	27	1.97	2.27
			480	29	1.96	2.21
			477	29	1.96	2.27
			484	29	1.97	2.29
	230ul Bind Beads		468	28	1.97	2.3
			553	33	1.98	2.33
			535	32	1.98	2.32
			635	38	1.99	2.36
			668	40	1.99	2.4
			652	39	1.97	2.37
	250ul Bind Beads		729	44	1.99	2.4
			703	42	1.98	2.38
			667	40	1.98	2.38
			395	24	1.95	2.38
			390	23	1.93	2.29
			412	25	1.94	2.33
280ul Bind Beads	426	26	1.93	2.35		
	421	25	1.94	2.34		
	437	26	1.94	2.35		
	431	26	1.94	2.36		
	437	26	1.95	2.36		
	425	26	1.95	2.36		
300ul Bind Beads	用 PW2 清洗					



结果分析：在 P1811 中，上清液与磁珠结合液 Binds Beads 比例很重要。与上清液的比例为 0.4-0.6 倍都可以高效吸附质粒 DNA，随着 Beads Beads 越高，产量和浓度越高，并远超过对照柱子试剂盒产量。从电泳结果来看，这个增高的产量都是 RNA 污染导致的。Bind Beads 超高，RNA 污染越多。增加 Buffer PW1 清洗，能有效洗去 RNA 污染。当使用中低拷贝载体时，因载体表达不多，反而胞内 RNA 更为丰富。这时 PW1 清洗就显得极为重要。

## 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 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 P1811 进行提取。

样品检测号	试剂盒	位置	260/280	260/230	ng/ $\mu$ L		样品检测号	位置	260/280	260/230	ng/ $\mu$ L
1	P1811, 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	P1811, 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