

P1233 性能验证报告

实验数据 1: 取不同体积的 LB 培养过夜的菌液，按 P1233 进行操作并记录抽滤过柱时间，以及用 300ul 进行洗脱时，测量实得体积和核酸浓度。

实验流程细化为：取适量用 LB 培养过夜的菌液至 50ml 离心管中，离心收集细菌，倒弃培养液。加入适量的 Buffer E1/RNase 重悬细菌，加入适量的 Buffer E2 碱裂解细菌，加入适量的 Buffer E3 酸中和，离心去除基因组 DNA 和蛋白质沉淀，得上清至过滤器中过滤得到澄清滤液，加入 1/3 倍体积的 Buffer E4 混匀。把纯化大柱 FE5 装在抽滤盒中，倒入混合液进行抽滤，记录混合液过柱时间，加入 2.5ml Buffer ETR 清洗柱子，加入 2.5ml Buffer EWB 清洗柱子，加入 5ml Buffer PW2 清洗柱子，空甩干燥柱子，最后加入 300ul Elution Buffer 洗脱出 DNA，测量实得体积和 OD 浓度纯度；再加入 300ul Elution Buffer 进行第二次洗脱，测量实得体积和 OD 浓度和纯度。

菌液用量	样品裂解和中和	抽滤过柱时间	洗脱 ul	实得体积 ul	浓度 ug/ul	A260/280	A260/230	产量 ug	合并浓度 ug/ul	全部总量 (ug)
20ml 培养液过夜的菌液	收集，加入 5ml E1 重悬，5ml E2 裂解，5ml E3 中和，过滤得上清，加入 5ml E4 混匀，得 20ml 混合液。	2 分钟	300ul 第一次	255	505.8	1.93	2.27	129.0	298.5	161.2
			300ul 第二次	285	108.4	1.89	2.22	30.9		
		2 分钟	300ul 第一次	250	527.8	1.93	2.27	131.9	298.7	161.3
			300ul 第二次	290	101.0	1.89	2.25	29.3		
		2 分钟	300ul 第一次	250	489.2	1.93	2.25	122.3	301.8	161.5
			300ul 第二次	285	129.5	1.90	2.15	36.9		
60ml 培养液过夜的菌液	收集，加入 5ml E1 重悬，5ml E2 裂解，5ml E3 中和，过滤得上清，加入 5ml E4 混匀，得 20ml 混合液。	7 分钟	300ul 第一次	235	1811.6	1.93	2.29	425.7	1080.7	562.0
			300ul 第二次	285	491.9	1.93	2.28	140.2		
		7 分钟	300ul 第一次	215	1768.8	1.94	2.29	380.3	1106.2	558.7
			300ul 第二次	290	595.7	1.92	2.27	172.8		
		7 分钟	300ul 第一次	240	1875.4	1.94	2.29	450.1	1081.2	573.0
			300ul 第二次	290	114.2	1.86	2.19	33.1		
100ml 培养液过夜的菌液	收集，加入 5ml E1 重悬，5ml E2 裂解，5ml E3 中和，过滤得上清，加入 5ml E4 混匀，得 20ml 混合液。	14 分钟	300ul 第一次	260	1625.5	1.94	2.28	422.6	1704.0	937.2
			300ul 第二次	290	1628.7	1.94	2.28	472.3		
		15 分钟	300ul 第一次	250	2858.7	1.96	2.29	714.7	1837.7	1001.6
			300ul 第二次	295	795.3	1.94	2.22	234.6		
		14 分钟	300ul 第一次	255	2713.3	1.95	2.28	691.9	1835.8	1000.5
			300ul 第二次	290	785.3	1.94	2.22	227.7		
150ml 培养液过夜的菌液	收集，加入 8ml E1 重悬，8ml E2 裂解，8ml E3 中和，过滤得上清，加入 8ml E4 混匀，得 32ml 混合液。	过滤 20 分钟堵柱后转离心过柱	300ul 第一次	250	4113.6	1.95	2.30	1028.4	2782.4	1474.7
			300ul 第二次	280	885.8	1.94	2.27	248.0		
			300ul 第一次	260	4793.3	1.95	2.30	1246.3	2687.5	1451.2
			300ul 第二次	280	925.5	1.94	2.28	259.1		
			300ul 第一次	260	3883.8	1.94	2.30	1009.8	2709.9	1463.4
			300ul 第二次	280	1440.4	1.94	2.29	403.3		

实验数据 2: 取 600ml LB 培养过夜的菌液，加入按 P1233 进行操作，加入 32ml Buffer P1 重悬，32ml Buffer P2 裂解，32ml Buffer E3 进行中和，离心并过滤得到澄清的滤液，加入 30ml Buffer E4，混匀。然后取不同体积的混合液进行过柱，验证纯化大柱 FE5 的线性度。

柱子	混合液	抽滤时间	洗脱	得到 体积	浓度 ug/ul	A260/280	A260/230	产量 ug	合并浓 度 ug/ul	全部总量 (ug)
P1112 中的 EF Column	800ul		100ul		538.0	1.94	2.28	54		53
			100ul		521.7	1.93	2.29	52		
P1233 中的 纯化大柱 FE5	10 ml	5 分 30 秒	300ul 第一次	250	1631.5	1.94	2.32	408	1112	606
			300ul 第二次	295	664.3	1.94	2.30	196		
	10 ml	5 分 40 秒	300ul 第一次	255	1821.9	1.94	2.32	465	1099	605
			300ul 第二次	295	397.0	1.93	2.30	117		
	20 ml	30 分	300ul 第一次	240	2688.9	1.96	2.31	645	1945	1041
			300ul 第二次	295	1028.2	1.95	2.30	303		
	20 ml	28 分	300ul 第一次	240	2868.4	1.95	2.31	688	2025	1084
			300ul 第二次	295	908.9	1.95	2.30	268		
	30 ml	离心过柱	300ul 第一次	240	3880.1	1.93	2.29	931	3071	1643
			300ul 第二次	295	2357.0	1.96	2.32	695		
	30 ml	离心过柱	300ul 第一次	240	3278.1	1.93	2.29	787	2694	1441
			300ul 第二次	295	1709.3	1.94	2.31	504		

注：当产量载量超过 0.8mg 时，负压抽滤速度会变明显变慢至 15-20 分钟，若需要加快提取速度，可以把柱子转移至 50ml 离心管中，转成离心操作。