

P1114 性能验证报告

实验 1: 验证 P1114 试剂盒提取质粒效果

- 样品类型: 高拷贝载体的培养液 (100ml)
- 洗脱体积: 2ml
- 提取时间: 70 分钟
- 检测试剂盒: P1114
- 检测方法: nanodrop

实验数据:

Nanodrop 数据:

P1114 提取试剂用 1ml Buffer TE 洗脱出质粒, 再加入 1ml Buffer TE 第二次洗脱, 测得洗脱产物体积, 并测量 OD。

菌液编号	试剂盒名称	核酸(ng/ul)	产量 (ug)	折算 1ml 菌液产量 (ug)	A260/A280	A260/A230	加入洗脱体积 (ul)	得到的洗脱体积
4	P1001C 参照 (1ml 菌液)	53.25	5.33		1.90	1.97	100ul	100ul
		55.19	5.52		1.88	1.89	100ul	100ul
	P1114 提取 (100ml 菌液)	278.16	472.86	4.73	1.93	1.86	2ml	1.70ml
		278.72	462.68	4.63	1.93	1.86	2ml	1.66ml
		291.35	495.29	4.95	1.94	1.91	2ml	1.70ml
		283.11	467.12	4.67	1.94	1.91	2ml	1.65ml
6	P1001C 参照 (1ml 菌液)	60.35	6.03		1.89	1.93	100ul	100ul
		60.93	6.09		1.90	2.02	100ul	100ul
	P1114 提取 (100ml 菌液)	308.33	524.15	5.24	1.93	1.90	2ml	1.70ml
		300.65	505.09	5.05	1.94	1.90	2ml	1.68ml
		302.62	493.27	4.93	1.93	1.91	2ml	1.63ml
		304.51	517.66	5.18	1.94	1.92	2ml	1.70ml

本次实验, 用 P1001C 作小提对照, 验证用 P1114 试剂盒提取质粒 DNA 以及核酸纯度。提取的质粒 DNA 用 Nanodrop 进行分析, 结果以下:

1. P1114 提取的质粒, 其 A260/280 在 1.8-2.0, A260/230 在 1.7-2.2, 表明该试剂盒提取的的质粒 DNA 纯度是达标的。
2. P1114 是大量柱, 用 2ml 进行洗脱时, 最终得到 1.6ml~1.7ml, 有 300ul 被滤膜吸附, 无法洗脱。
3. P1114 处理高拷贝数载体培养液 (4 号菌, 6 号菌) 来看, 并用常规质粒小提试剂盒作为参照 (4 号菌每 ml 菌液平均得 5.4ug, 6 号菌每 ml 菌液平均得 6.04ug)。P1114 处理 4 号菌时, 二次洗脱的总量为:~474ug, P1114 处理 6 号菌时, 二次洗脱的总量为:~510ug; 与常规质粒小提试剂盒的效率无明显差异。

实验 2：验证 P1114 试剂盒水平离心机与角度离心机提取效果对比

- 样品类型：高拷贝载体菌液（50m）。
- 洗脱体积：2ml
- 提取方法：手工法
- 提取时间：70 分钟
- 检测方法：Nanodrop
- 实验数据：

Nanodrop 数据：

洗脱次数及体积	离心机名称	核酸(ng/ul)	产量 (ug)	A260/A280	A260/A230	洗脱体积	得到产物体积	柱子溶液残留量
第一次 1ml 洗脱	水平离心机	211.06	147.74	1.92	2.15	1000ul	700ul	/
		224.11	156.87	1.92	2.03	1000ul	700ul	/
	角度离心机	48.72	34.10	1.51	10.25	1000ul	700ul	1000ul
		80.52	56.37	1.37	2.97	1000ul	700ul	1000ul
第二次再加 1ml 洗脱	水平离心机	178.37	303.24	1.92	2.13	2000ul	1700ul	/
		175.30	298.02	1.92	2.06	2000ul	1700ul	/
	角度离心机	119.46	203.09	1.87	2.80	2000ul	1700ul	1000ul
		120.59	205.00	1.90	3.60	2000ul	1700ul	1000ul

实验结论：

- 1、P1114 提取质粒，使用角度离心机离心，柱子中有高达 1ml 洗液残留，水平离心机测基本没有洗液残留；
- 2、第一次 1ml 洗脱液洗脱，两种离心机都损失 300ul 洗脱液被柱膜吸收，角度离心机基本提取不出质粒且 A260/280 和 A260/230 完全不达标；再加入 1ml 洗脱液进行洗脱，角度离心机可以洗脱质粒，产量只有水平离心机的 2/3，且 A260/230 比较差；
- 3、P1114 试剂盒提取质粒中，离心机的选择十分关键，水平离心机能一次性洗脱出质粒，二次洗脱能彻底洗脱质粒，角度离心机第一次洗脱无法洗脱质粒，需要进行二次洗脱（洗脱液需要达到 2ml 以上）才能洗脱出质粒，但是不能完全洗脱质粒，且由于角度离心机在提取清洗过程会残留高达 1ml 残液，残液会导致质粒清洗过程丢失，从而导致产量低，提取纯度不佳；
- 4、综合数据，P1114 试剂盒在水平离心机提取效果最好。