

## 无核酸水性能验证报告

### 实验 1：验证经独特核酸降解和去除工艺处理后的无核酸酶水降解大肠杆菌的能力

- 实验条件：在 12 瓶 1L 超纯水分别添加  $1 \times 10^{10}$  大肠杆菌（10ml 培养过夜的大肠杆菌），颠倒混匀。其中 4 瓶于 90°C 温育 20 分钟（阳性对照组），4 瓶经高温高压灭菌（121 度，25 分钟，灭菌对照组），4 瓶经独特工艺处理后再高温高压灭菌（处理组）。阴性对照组，取 4 瓶 1L 超纯水经高温高压灭菌（121 度，25 分钟）。得到的上述处理后的水，取 10ul 进行荧光定量 PCR，16S 通用引物进行扩增，结果如下。

实验组	添加模板	处理条件	Ct 值
阳性对照组	1L 超纯水中添加 10ml 大肠杆菌	90°C 温育 20 分钟	15.66
			15.77
			15.45
			15.36
灭菌对照	1L 超纯水中添加 10ml 大肠杆菌	高温高压灭菌： 121°C，25 分钟	17.29
			17.18
			17.36
			17.39
处理组	1L 超纯水中添加 10ml 大肠杆菌	独特的处理工艺， 再高温高压灭菌 121°C，25 分钟	33.19
			32.89
			32.89
			32.58
阴性对照组	1L 超纯水	高温高压灭菌： 121°C，25 分钟	33.09
			32.79
			31.89
			31.68

由结果可知，超纯水添加大肠杆菌，然后进行高温高压灭菌时并不能完全降解核酸，与阳性对照对比只下降了 2 个 CT，相当于 DNA 只降解了 5.0-6.0%。添加纯净 DNA 也不能完全降解（结果未显示）。添加大肠杆菌的超纯水经独特工艺处理再高温高压灭菌后（处理组），CT 值大幅提升，达到和阴性对照组一样的 CT，说明 DNA 几乎完全降解。与阳性对照相比，CT 下降了 15 个 CT，相当于降低了至少 10 万倍以上。由于本次实验室采用了 16S 通用引物，受 PCR Mix 中残留核酸影响，CT 并不能达到 35 以上。本次实验说明，处理组经独特的处理工艺再进行高温高压处理可以高效降解水中的 DNA。

## 实验 2：验证经独特核酸降解和去除工艺处理后的无核酸酶水是否影响 PCR

- 实验条件：取 8 瓶 5mM Tris,pH7.5，4 瓶直接进行高温高压灭菌（灭菌组），4 瓶经特殊工艺处理后高温高压灭菌（处理组），然后测量 pH、电导率和 OD 值，并进行 PCR，结果如下。

实验条件	成分	处理后的 pH	电导率	OD 值	是否抑制 PCR
灭菌组	5mM Tris,pH7.5	pH7.3~7.5	0.16ms/cm	无	不抑制
	5mM Tris,pH7.5	pH7.3~7.5	0.16ms/cm	无	不抑制
	5mM Tris,pH7.5	pH7.3~7.5	0.18ms/cm	无	不抑制
	5mM Tris,pH7.5	pH7.3~7.5	0.19ms/cm	无	不抑制
处理组	5mM Tris,pH7.5	pH7.3~7.5	0.18ms/cm	无	不抑制
	5mM Tris,pH7.5	pH7.3~7.5	0.17ms/cm	无	不抑制
	5mM Tris,pH7.5	pH7.3~7.5	0.17ms/cm	无	不抑制
	5mM Tris,pH7.5	pH7.3~7.5	0.16ms/cm	无	不抑制

注：测 OD 值用超纯水进行调零。

PCR 实验：在 PCR 管中，加入 10ul 2 x qPCR Mix、1ul DNA 和 9ul 灭菌组或处理组的水，进行 PCR。

由结果可知，经独特工艺得到的无核酸水（5mM Tris, pH7.4），在 230nm、260nm、280nm 处没有读数，处理后的无核酸水（5mM Tris, pH7.4）不抑制 PCR，电导率与灭菌组（5mM Tris, pH7.5）相当。说明经独特工艺处理后的水不会引入盐离子和其他有机物的污染，可直接用于二代测序试剂、核酸提取试剂、酶促反应液的配制。