

AR416 性能验证报告

实验目的：AR416 试剂性在高低拷贝菌和低拷贝菌中提取质粒与柱法的差异

- 样品类型：含低拷贝载体的培养过夜菌液（每 ml 菌液只含 2ug 质粒 DNA），以及含高拷贝载体的培养过夜菌液（每 ml 菌液含 10.5ug 质粒 DNA）。
- 样品用量：25-50ml
- 提取方法：磁珠法 AR416、手工小提柱法（作为理论产量的对照）。AR416 验证两种清洗液对高拷贝数和低拷贝数载体的产量影响。
- 磁珠用量：100ul
- 提取时间：35 分钟
- 检测试剂盒：AR416
- 检测方法：Nanodrop

实验数据：

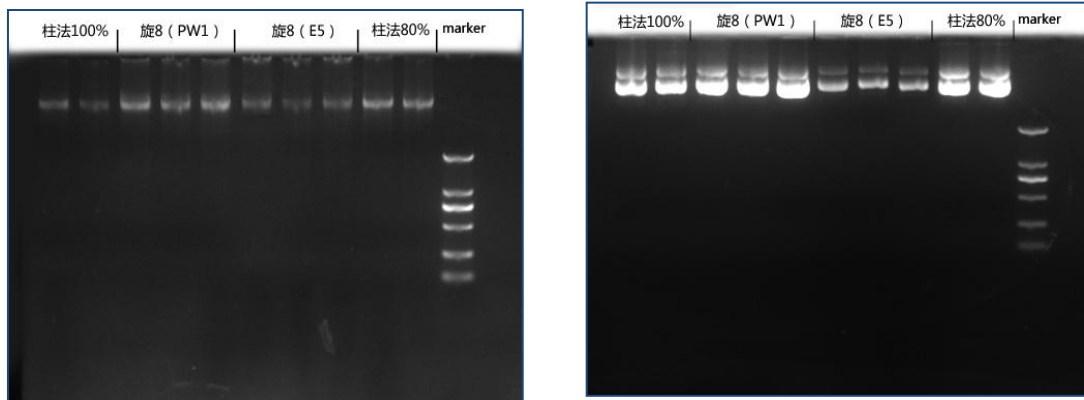
Nanodrop 数据：

	菌液用量	核酸 (ng/ul)	产量(ug)	A260/A280	A260/A230	理论产量 (ug)	清洗液条件	备注
AR416	50ml 低拷贝菌	634	190	1.86	2.24	100	Buffer E5	实际产量高于理论产量，表明有 RNA 污染。
		618	186	1.86	2.24			
		629	189	1.87	2.24			
		338	102	1.83	2.23	100	Buffer PW1	
		352	106	1.87	2.23			
		344	103	1.85	2.22			
	25ml 低拷贝菌	430	129	1.9	2.4	50	Buffer E5	实际产量高于理论产量，表明有 RNA 污染。
		429	128	1.9	2.3			
		410	123	1.9	2.3			
	50ml 高拷贝菌	1425	428	1.92	2.32	520	Buffer E5	实际产量低于理论产量，磁珠已饱和（最多只吸附 420ug 的质粒。（重结合时还能再吸附 100ug，下表）
		1408	422	1.92	2.31			
		1404	421	1.91	2.32			
		385	116	1.91	2.35	520	Buffer PW1	
		394	118	1.92	2.38			
		392	118	1.90	2.39			
25ml 高拷贝菌	926	278	1.91	2.35	260	Buffer E5	实际产量与理论产量相当。	
	950	285	1.92	2.43				
	1860	280	1.85	2.31				
柱法 (对照)	3ml 低拷贝菌	64	6	1.88	2.56	/	/	柱法小提，1ml 菌液可以得到 2ug 质粒 DNA
		61	6	1.86	2.57	/	/	
	2ml 高拷贝菌	203	20	1.89	2.28	/	/	
		215	21	1.89	2.32	/	/	

重结合	核酸(ng/ul)	产量 (ug)	A260/A280	A260/A230	备注
50ml 高拷贝菌 (对应上表标红组)	460	138	1.89	2.44	高拷贝 E5 方案，第一轮提取完毕后，再进行第二轮重结合，结果还能吸附 130ug 的质粒 DNA。
	473	142	1.88	2.29	
	463	139	1.87	2.23	

(该实验是指：经第一轮提取后，把试剂条再转移至仪器中，加入新的洗脱液进行再提取，本次实验只做了 50ml 高拷贝菌，Buffer E5 方案。)

电泳图：



结论：

本次实验用 MagRotex 8 核酸提取仪，对 AR416 进行了性能验证。做了 50ml/25ml 低拷贝菌和 50ml/25ml 高拷贝菌的质粒提取，并验证两种清洗液的差别。理论产量是用柱法小提得到的产量进行计算。

结果表明：

1. 当处理的低拷贝数载体时，我们建议用 Buffer PW1 代替 Buffer E5 进行清洗。使用 Buffer PW1 清洗时，该产品的最高产量只有 100ug，多余的质粒 DNA(超过 100ug)会在这一步被清洗去除。但 Buffer PW1 能有效去除 RNA 污染，使用 OD 读数更加真实。

2. 当处理高拷贝数载体时，我们建议用 Buffer E5 进行清洗。使有该方案时，本产品的最高产量可以达到 400ug。超过产量时，还可进行重结合（抽提完毕后再上机进行操作）提取得到残留质粒 DNA。若使有 Buffer PW1 清洗时，最终产量只能达到 100ug，多余的质粒在 PW1 清洗时被洗去。进行再重结合时，可以在 Buffer PW1 孔中加入 300ul 异丙醇，可以把这洗掉的质粒 DNA 更结合回来。