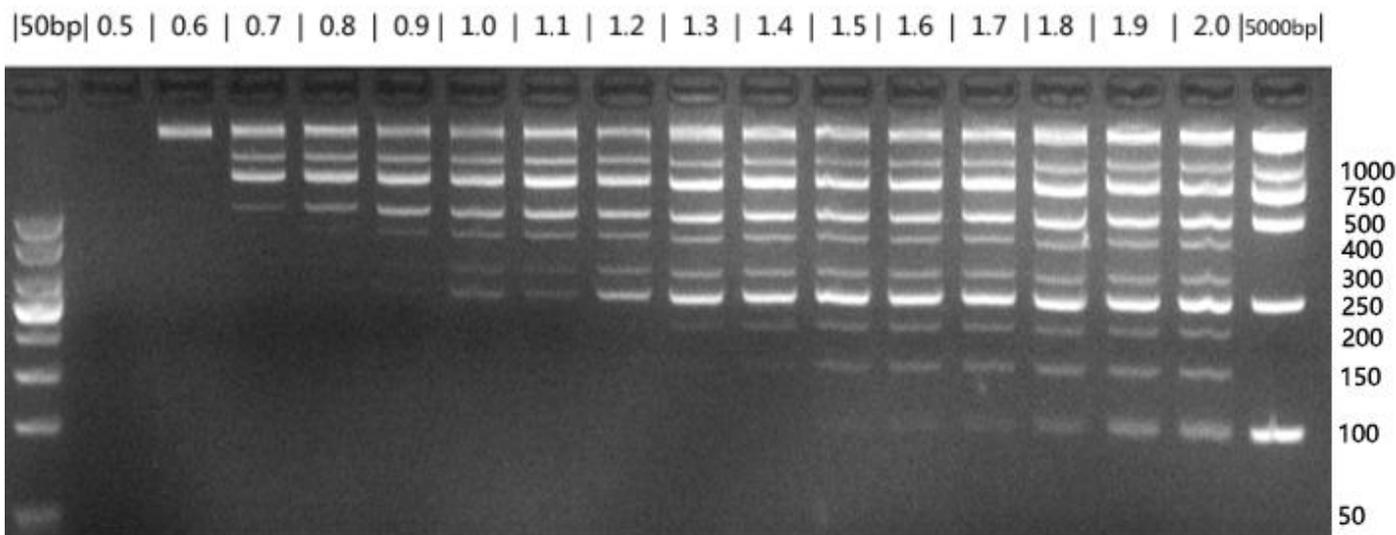


Buffer DXP DNA 中幅 DNA 分选试剂性能验证报告

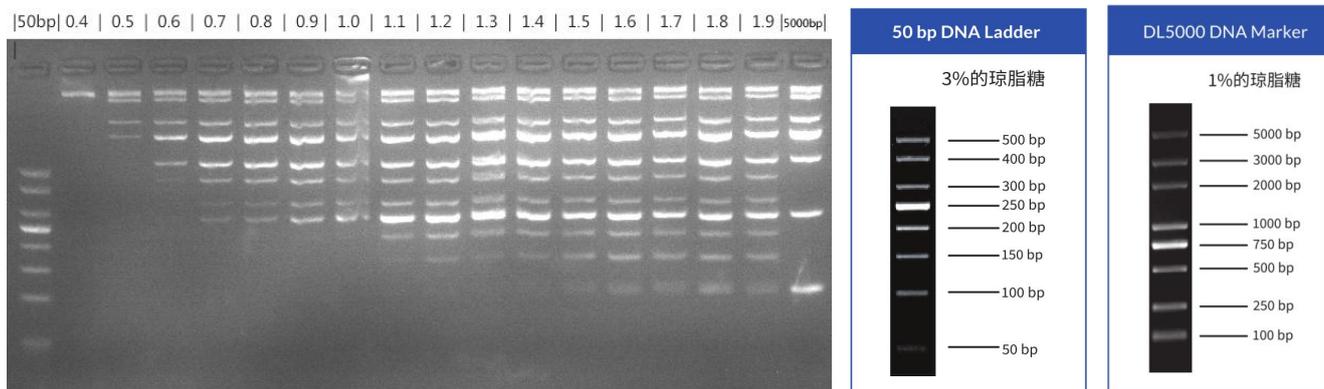
实验 1: Buffer DXP 一步法分选效果 VS AmPure XP

DXP 一步法纯化的实验流程:取 15ul 50bp DNA Marker 和 15ul 5000bp DNA Marker 至 1.5ml 离心管中,用 1 x PCR Buffer 补足至 300ul,加入 0.5-2.0 倍样品体积的 Buffer DXP 混匀,室温放置 5 分钟,磁力架收集磁珠弃溶液,用 80%乙醇清洗磁珠两次,空气干燥 5 分钟,加入 30ul Elution Buffer 洗脱 DNA,磁力架静置后,取 10ul 上样于 2.0%琼脂糖凝胶。

DXP一步法纯化效果



AmPure XP 一步法纯化实验流程:取 15ul 50bp DNA Marker 和 15ul 5000bp DNA Marker 至 1.5ml 离心管中,用 1 x PCR Buffer 补足至 300ul,加入 0.4-1.9 倍样品体积的 AmPure XP 混匀,室温放置 10 分钟,磁力架收集磁珠弃溶液,用 80%乙醇清洗磁珠两次,空气干燥 5 分钟,加入 30ul Elution Buffer 洗脱出 DNA,磁力架静置后取 10ul 上样于 2.0%琼脂糖凝胶。



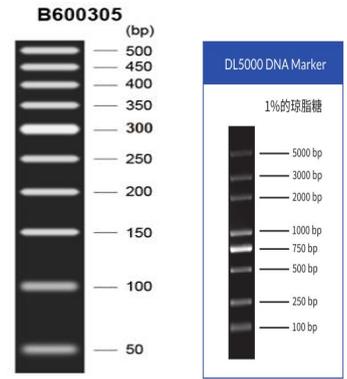
对比分析:与电泳图可知, Buffer DXP 和 Ampure XP 的逐度加入结合液实验, DXP 在 100~500bp 有更宽的分选逐步, DXP 在 0.7-1.9 倍中, 100-500bp 变化更为缓慢; 而 AmpPure 在 150-500bp 变化较为快速, 变化落围 0.6-1.6 倍。

实验 2: Buffer DXP 两步法分选数据 (100~750bp)

DXP 两步法纯化的实验流程, 重复两次。

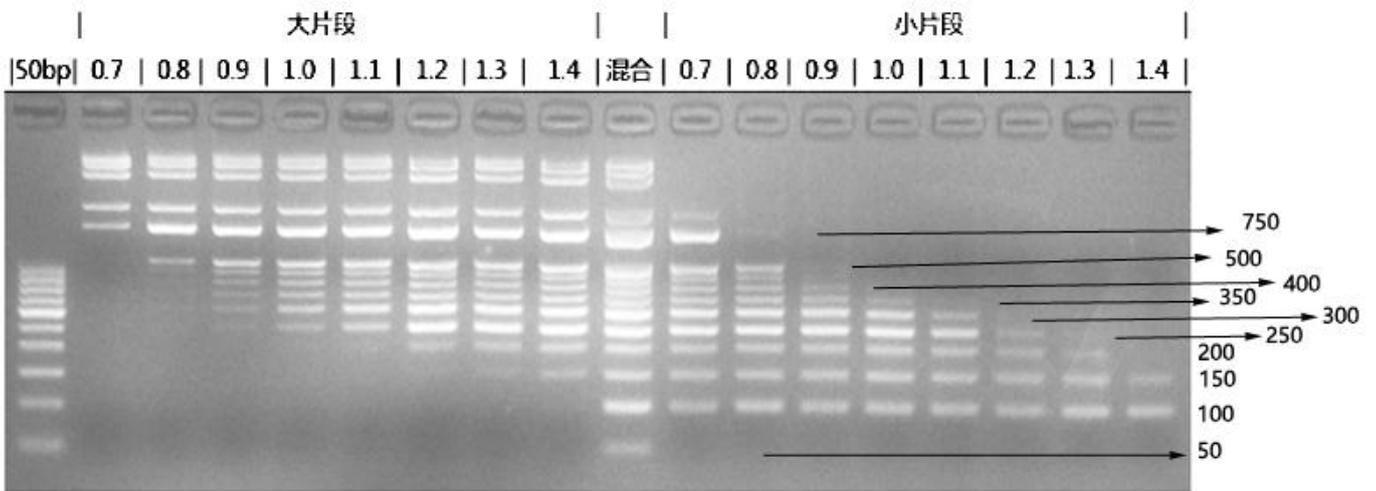
大片段纯化: 取 15ul 50bp DNA Plus Marker 和 10ul 5000bp DNA Marker 至 1.5ml 离心管中, 用 1 x PCR Buffer 补足至 300ul, 加入 0.6~1.4 倍体积的 Buffer DXP 混匀, 室温放置 5 分钟, 磁力架收集磁珠(含大片段 DNA), 保留上清液用于小片段富集, 用 80%乙醇清洗磁珠两次, 空气干燥 5 分钟, 加入 30ul Elution Buffer 洗脱 DNA, 取 10ul 上样于 2.0%琼脂糖凝胶。

小片段纯化: 取吸完大片段的上清液, 加入总体积为 2.2 倍的 Buffer DXP 混匀, 室温放置 5 分钟, 磁力架收集磁珠(含小片段 DNA), 用 80%乙醇清洗磁珠两次, 空气干燥 5 分钟, 加入 30ul Elution Buffer 洗脱 DNA, 取 10ul 上样于 2.0%琼脂糖凝胶。



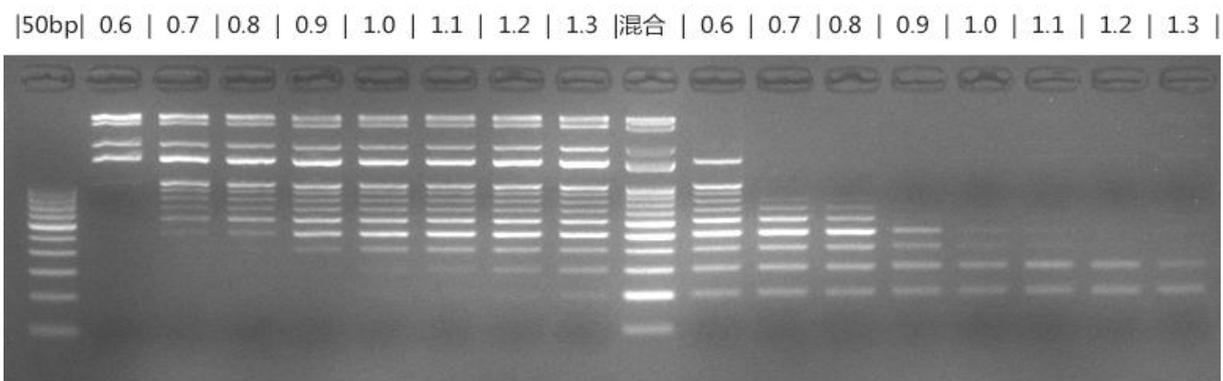
大片段磁珠得到的 DNA 片段电泳结果: 大片段, 0~1.4 倍

100~750bp 区间分选效果



对照 AmPure XP: 取 15ul 50bp DNA Plus Marker 和 15ul 5000bp DNA Marker 至 1.5ml 离心管中, 用 1 x PCR Buffer 补足至 300ul, 加入 0.7-1.3 倍 AmPure XP 混匀, 收集磁珠保留上清液用于小片段 DNA 纯化, 取吸完大片段的上清液, 加入总体积为 1.8 倍 AmPure XP 混匀, 收集磁珠(含小片段 DNA), 最后大片段和小片段磁珠都用 80%乙醇清洗磁珠两次, 空气干燥 5 分钟, 加入 30ul Elution Buffer 洗脱 DNA。

AmPure XP 分选得到的大片段和小片段 DNA 电泳结果 (对照): 大片段: 0.6~1.3 倍; 小片段: 2.0 倍。



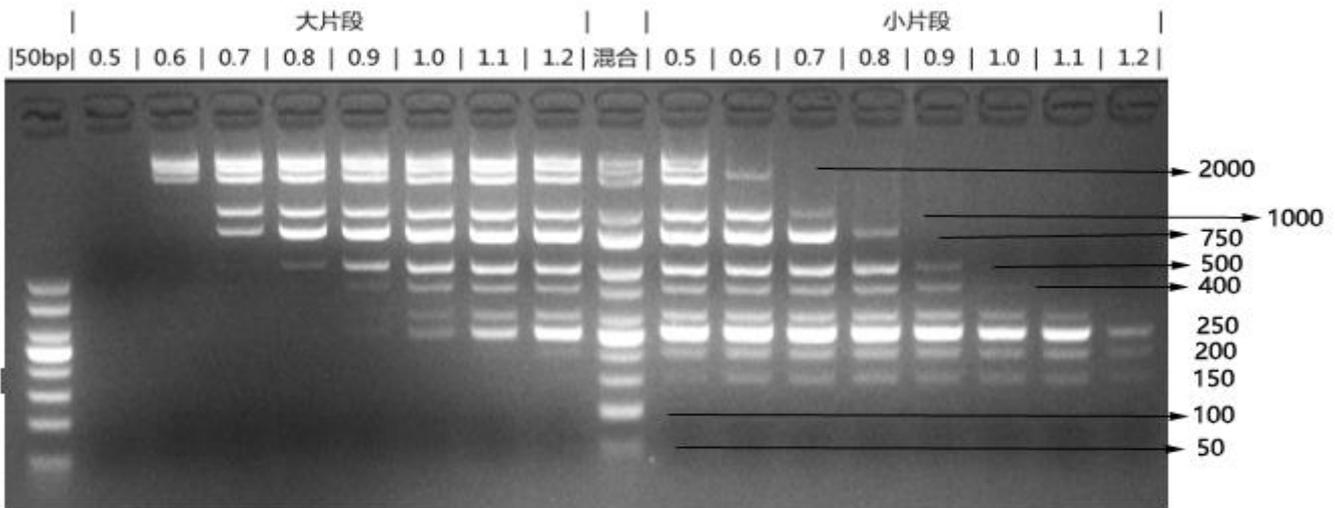
由图可知: Buffer DXP 与 Ampure XP 都有极佳的 DNA 分选能力, 大片段 DNA 去除的很充分, 范围外的大片段 DNA 不会残留在小片段 DNA 中。从富集小片段 DNA 来看, Buffer DXP 有强的片段分选效果。

实验 3: Buffer DXP 两步法分选数据 (100~2000bp)

DXP 两步法纯化的实验流程。

150-2000bp 分选流程:取 15ul 50bp DNA Marker 和 15ul 5000bp DNA Marker 至 1.5ml 离心管中,用 1 x PCR Buffer 补足至 300ul,加 0.4~1.2 倍 Buffer DPX 混匀,磁力架静置收集磁珠(含大片段),转移上清液至新的离心管中,加入总体积为 1.5 倍样品体积的 Buffer DXP 混匀,富集小片段 DNA,磁力架静置收集磁珠,磁珠都用 80%乙醇清洗磁珠两次,空气干燥 5 分钟,加入 30ul Elution Buffer 洗脱 DNA,取 10ul 洗脱产物上样于 1.5%琼脂糖凝胶。

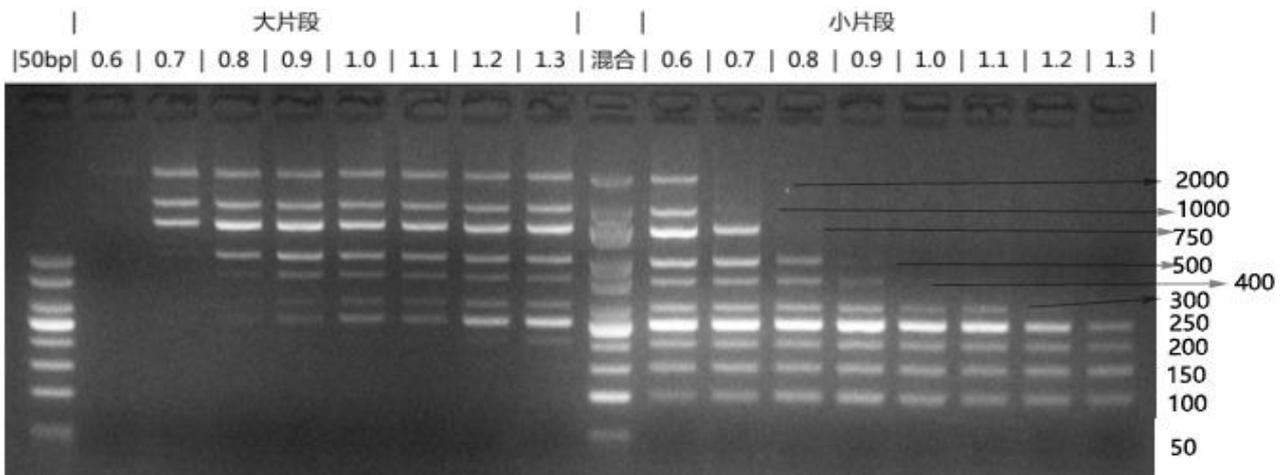
150-2000bp 区间分选效果



CXP 分选得到的大片段和小片段 DNA 电泳结果 (实例 1), 大片段: 0.5~1.2 倍; 小片段: 2.0 倍。

100-2000bp 分选流程:取 15ul 50bp DNA Marker 和 15ul 5000bp DNA Marker 至 1.5ml 离心管中,用 1 x PCR Buffer 补足至 300ul,加 0.6~1.3 倍 Buffer DPX 混匀,磁力架静置收集磁珠(含大片段),转移上清液至新的离心管中,加入总体积为 2.2 倍样品体积的 Buffer DXP 混匀,富集小片段 DNA,磁力架静置收集磁珠,磁珠都用 80%乙醇清洗磁珠两次,空气干燥 5 分钟,加入 30ul Elution Buffer 洗脱 DNA,取 10ul 洗脱产物上样于 1.5%琼脂糖凝胶。

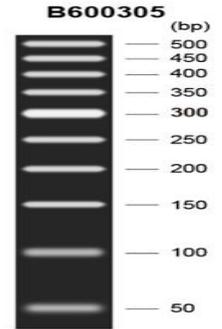
100~2000bp 区间分选效果2



实验 4: Buffer DXP 两步法分选数据 (50~500bp)

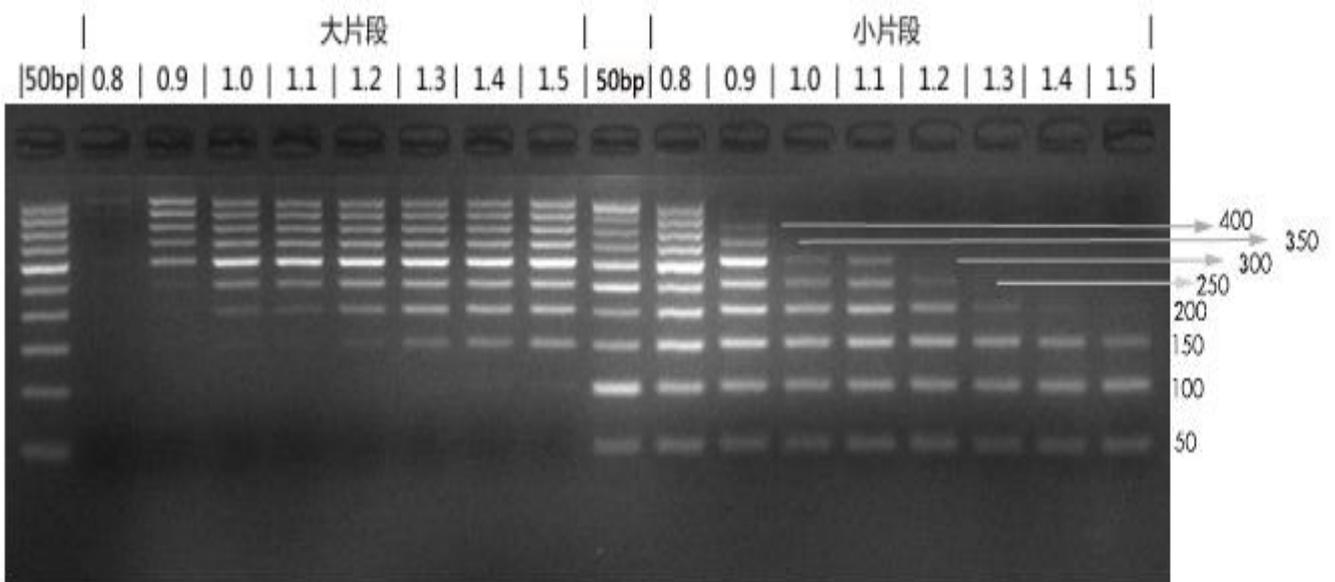
DXP 两步法纯化的实验流程

取 20ul 50bp DNA Plus Marker 至 1.5ml 离心管中，用 1 x PCR Buffer 补足至 300ul，加 0.8~1.5 倍 Buffer DXP 混匀，磁力架静置收集磁珠（含大片段 DNA），转移上清液至新离心管中，加入等倍 0.5 倍样品体积的 Buffer DXP 和异丙醇混匀，富集小片段 DNA，磁力架静置收集磁珠，磁珠都用 80%乙醇清洗磁珠两次，空气干燥 5 分钟，加入 30ul Elution Buffer 洗脱 DNA，取 10ul 洗脱产物上样于 1.5%琼脂糖凝胶。



大片段和小片段 DNA 电泳结果，150~1000bp，大片段：0.8~1.5 倍；小片段：0.5 倍上清液体积的 CXP 和异丙醇

50-500bp区间分选效果



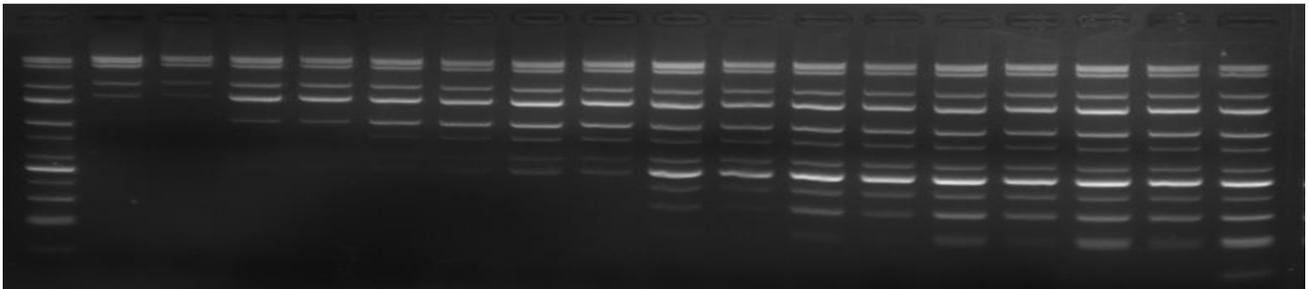
实验 5: Buffer DXP 与 A4 XP 两步法分选数据对比

样品：取 7ul DL5000 DNA Marker, 10ul 50bp DNA Marker 和 3ul Low DNA Marker 进行混匀，然后加入 280ul 纯水至总体积为 300ul，按下表，用 Buffer DXP 和 A4 XP 进行片段分选，把得到的大片段和小片段 DNA 都进行收集洗脱，然后电泳分析。

大片段吸附 DNA 片段	750bp	500bp (出现)	500bp (回收率>80%)	300~400bp	250bp	200bp	150bp	100bp (出现)	100bp (回收>80%)
DXP 大片段加入倍数	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.3 (1.1)	1.5 (1.3)	1.7 (1.5)	2.0
DXP 小片段加入倍数	1.4	1.3	1.2	1.1	1.0	0.7	0.5	0.3	0
A4 XP 大片段加入倍数	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.1	1.3	1.5	1.8
A4 XP 小片段加入倍数	1.3	1.2	1.1	1.0	0.8	0.7	0.5	0.3	0

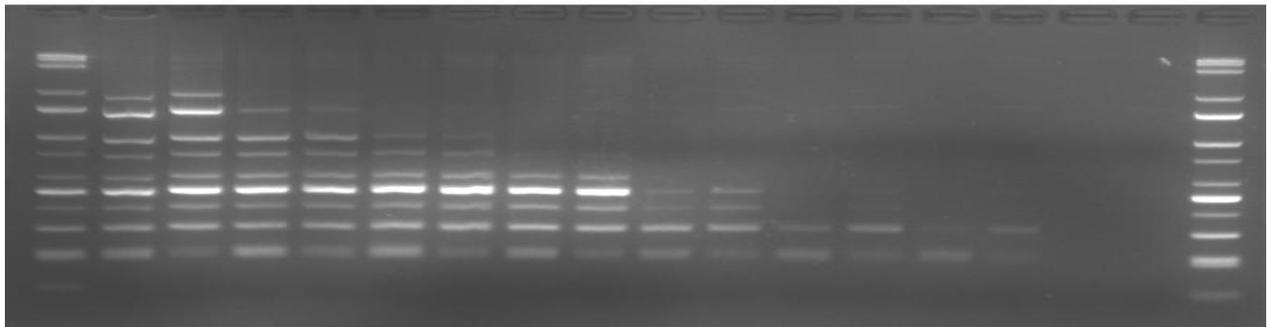
DXP大片段质检

| 0.6 | 0.5 | 0.7 | 0.6 | 0.8 | 0.7 | 0.9 | 0.8 | 1.3 | 1.1 | 1.5 | 1.3 | 1.7 | 1.5 | 2.0 | 1.8 |
| 60% | DXP | A4XP | 80% |



小片段DXP富集情况

| 1.4 | 1.3 | 1.3 | 1.2 | 1.2 | 1.1 | 1.1 | 1.0 | 0.7 | 0.5 | 0.3 | 0 |
| 60% | DXP | A4XP | 80% |



结果分析：

- 当加入倍数 1.0 倍以下时，Buffer DXP 与 Buffer A4 XP 时，相差 0.1 倍时，两者大片段 DNA 回收模式相当；进行小片段富集时，Buffer DXP 总倍数为 2 倍，其 100bp DNA 回收率明显高于 A4 XP（1.8 倍）。这表明 Buffer DXP 能更充分回收率 100bp 的片段。
- 当加入倍数 1.1 倍以上时，Buffer DXP 与 Buffer A4 XP，相差 0.2 倍时，Buffer DXP 能回收更多 DNA 片段，有必要把相差 0.2 倍下降至 0.1 或 0，让 Buffer DXP 与 Buffer A4 XP 更为接近。

实验 6: Buffer DXP 与 A4 XP 两步法分选数据对比(微观回收率对比)

样品: 297ul 纯水+1.5ul DL2000+1.5ul 50bp DNA Marker, 然后用 Buffer DXP 和 A4 XP 进行大小片段分选, 最后用 100ul Elution Buffer 洗脱出大片段 DNA 和小片段 DNA, 用 qubit 定量, 计算回收率。

32 通道提取仪器进行提取

	大片段回收	小片段回收
第 1 列	300ul 混匀 Marker DXP 大片段: 加入 0.6/0.9/1.3/2.0 DXP。 A4 XP 大片段: 加入 0.5/0.8/1.1/1.8 A4 XP。	当大片段提取结束后, 补加入 Buffer DXP 或 A4 XP DXP 小片段 (2.0x): 加入 1.4/1.1/0.7/0 DXP。 A4 XP 小片段 (1.8x): 加入 1.3/1.0/0.7/0 A4 XP。
第 2 列	500ul 75%乙醇	
第 3 列	500ul 75%乙醇	
第 4 列	500ul Elution Buffer	
第 5 列	100ul Elution Buffer	
第 6 列	100ul Elution Buffer	

实验程序:

孔位	实验名称	等待时间(min)	混合时间 (min)	吸磁次数	拍打速度	容积 (ul)	温度状态	温度
1	结合大	0	10	120s	快	500	关	0
2	W1	0	1	90s	中	500	关	0
3	W2	0	1	90s	中	500	关	0
6	干燥	6	0	0	中	50	关	0
6	Elute 大	0	5	120s	快	50	关	0
3	Remove	0	1	0	中	500	关	0
1	暂停							
1	结合小	0	10	120s	快	900	关	0
2	W1	0	1	90s	中	500	关	0
3	W2	0	1	90s	中	500	关	0
5	干燥	6	0	0	中	100	关	0
5	Elute 大	0	5	120s	快	100	关	0
3	Remove	0	1	0	中	500	关	0

结果如下

试剂	倍数	总倍数	qubit	产量	回收率	总回收率	结果分析
DXP	大片段: 0.6	2.0	0.436	43.6	26.11%	85.8%	1: 整体总回收率, Buffer DXP 高于 A4 XP, 这时因为 Buffer DXP 对 100bp DNA 片段有更高的回收率。 2: 除 500bp 以上片段时; DXP (0.6 倍, 26.1%/大; 59.64%/小); 对应 A4 XP (0.5 倍, 21.32%/大; 57.8%/小), 两者数据是接近的。 3: 除 400bp 以上片段时; DXP (0.9 倍, 61.08%/大; 22.28%/小), A4 XP (0.8 倍, 60.048%/大; 21.56%/小), 两者数据也接近。 4: 除 250bp 以上片段时; DXP (1.3 倍, 77.84%/大; 6.83%/小); A4 XP(1.1 倍, 74.85%; 7.19%/小), 两者数据相当, 但从电泳分析来看, DXP 选用 1.3 倍有点过, 选用 1.1-1.2 倍更加合适。
	小片段: 1.4		0.996	99.6	59.64%		
	大片段: 0.9	2.0	1.020	102.0	61.08%	83.4%	
	小片段: 1.1		0.372	37.2	22.28%		
	大片段: 1.3	2.0	1.300	130.0	77.84%	84.7%	
	小片段: 0.7		0.114	11.4	6.83%		
大片段: 2.0	2.0	1.460	146.0	87.43%	87.6%		
小片段: 0		0.002	0.2	0.12%			
A4XP	大片段: 0.5	1.8	0.356	35.6	21.32%	79.2%	
	小片段: 1.3		0.966	96.6	57.84%		
	大片段: 0.8	1.8	1.010	101.0	60.48%	82.0%	
	小片段: 1.0		0.360	36.0	21.56%		
	大片段: 1.1	1.8	1.250	125.0	74.85%	82.0%	
	小片段: 0.6		0.120	12.0	7.19%		
	大片段: 1.8	1.8	1.370	137.0	82.04%	84.7%	
小片段: 0	0.045		4.5	2.69%			