

美基玻璃纤维滤膜 MGB 性能验证报告

实验 1：不同质粒提取试剂盒对比数据

玻纤滤膜	菌液用量	体系	浓度 (ng/μl)	产量(μg)	A260/ A280	A260/A 230	
4层美基玻纤膜 MGB	1 ml	试剂盒：P1001C，经典试剂盒 流程：收菌，250ul Buffer P1 重悬，250ul Buffer P2 裂解，350ul Buffer P3 中和，离心得上清液过柱，PW1 清洗，PW2 清洗，空甩，100ul Elution Buffer 洗脱。	82.1	8.2	1.94	1.98	
4层 Whatman GFB			85.5	8.6	1.95	1.76	
4层美基玻纤膜 MGB	5 ml		444.3	44.4	1.92	2.29	
4层 Whatman GFB			432.8	43.3	1.92	2.01	
4层美基玻纤膜 MGB	1 ml		试剂盒：MD001，快提试剂盒 流程：收菌，200ul Buffer P1 重悬，200ul Buffer P2 裂解，400ul Buffer BP3 中和，离心得上清液过柱，PW1 清洗一次，PW2 清洗两次，空甩，100ul Elution Buffer 洗脱。	80.5	8.1	1.90	2.21
	2 ml			159.9	16.0	1.91	2.28
	3 ml			225.4	22.5	1.91	2.28
	6 ml			475.4	47.5	1.92	2.29
4层 Whatman GFB	1 ml			86.3	8.6	1.89	2.22
	2 ml			164.0	16.4	1.89	2.24
	3 ml	270.4		27.0	1.89	2.29	
	6 ml	438.5		43.9	1.91	2.28	
4层美基玻纤膜 MGB	1 ml	试剂盒：MD004，无内质粒试剂盒 流程：收菌，250ul Buffer P1 重悬，250ul Buffer P2 裂解，250ul Buffer NS3 中和，离心得上清液，加入 0.3 倍异丙醇混匀，取混合液过柱，PW1 清洗一次，PW2 清洗两次，空甩，100ul Elution Buffer 洗脱。		67.9	6.79	2.37	1.36
	1.5 ml			119.0	11.90	2.33	2.38
	2 ml		152.5	15.25	2.36	3.05	
	6 ml		473.7	47.37	1.91	2.35	
4层 Whatman GFB	1 ml		70.4	7.04	2.29	1.81	
	1.5 ml		112.5	11.25	2.39	2.25	
	2 ml		160.5	16.05	2.36	3.21	
	6 ml		460.8	46.08	1.91	2.34	

结论：取 4 层美基生产的玻纤膜 MGB 或 Whatman GFB 生产小量柱，用不同体系的质粒小提试剂盒进行对比。结论表明，美基 MGB 膜与 Whatman GFB 膜相当，4 层小量柱最高载量为 40ug。不同菌液用量线性度好，结合效率高。

实验 2: 凝胶 DNA 回收对比数据

凝胶 DNA 回收效果 (宏观): 取 25 μ l DL2000 DNA Marker 至 1.5ml 离心管中, 加入 300mg 2% 琼脂糖凝胶块, 加入 320 μ l Buffer GDP 混匀, 55 温育 10 分钟溶化凝胶, 转移全部溶胶液至柱子中离心, 用 300 μ l Buffer GDP 清洗一次, 用 Buffer DW2 清洗两次, 空甩, 最后用 50 μ l Elution Buffer 进行洗脱, 测 OD 值和 qubit, 并计算回收率。

柱子的类型	核酸浓度	产量 (ug)	260/280	260/230	回收率
4 层 Whatman GFB	36.0	1.82	1.84	0.181	75%
	39.3	1.96	1.87	0.084	82%
	33.8	1.68	1.84	0.181	70%
4 层美基玻纤膜 MGB	41.0	2.05	1.87	0.308	86%
	38.8	1.94	1.89	0.235	81%
	39.3	1.75	1.89	0.091	82%
4 美基玻纤膜 D	42.5	2.12	1.84	0.237	89%
	41.4	2.07	1.84	0.237	87%
	39.5	1.97	1.95	0.045	83%

凝胶 DNA 回收效果 (微观): 取 2 μ l DL2000 DNA Marker 至 1.5ml 离心管中, 加入 300mg 凝胶块混匀, 然后加入 320 μ l 溶胶液 GDP, 55 温育 10 分钟溶化凝胶, 转移全部溶胶液至柱子中离心, 用 300 μ l 溶胶液 GDP 清洗一次, 用 Buffer DW2 清洗两次, 空甩, 最后用 100 μ l Elution Buffer 进行洗脱, 测 qubit。

柱子的类型	Qubit 浓度 ng/ul	产量 (ng)	回收率
4 层 Whatman GFB	1.36	136	86%
	1.12	112	69%
	1.12	112	69%
4 层美基玻纤膜 MGB	1.47	147	92%
	1.27	127	80%
	1.31	131	82%
4 美基玻纤膜 D	1.30	130	82%
	1.32	130	83%
	1.20	120	75%

结论: 取美基生产的玻纤膜 MGB, 玻纤滤膜 D 或 Whatman GFB 生产 4 层小量柱, 然后采用 D2111 凝胶回收试剂盒对比不同滤膜的回收率, 实验采用了在 300mg 2% 琼脂糖凝胶块中, 添加 2.0ug 或 150ng DNA, 然后再按 D2111 的流程进行回收, 结果表明, 美基玻纤滤膜 MGB 的回收率更高, 明显高于竞品 Whatman GFB。

实验 3: 产物 DNA 回收对比数据

DNA 回收效果 (异硫氰酸胍体系, 大体积): 在 10ml 灭菌水中, 加入 30ul DL2000 DNA Marker 混匀, 加入 10ml Buffer GDP, 颠倒混匀, 放置 5 分钟。转移 20ml 混和液至柱子中抽滤, 用 1ml Buffer DW2 清洗两次, 空甩, 最后用 60ul Elution Buffer 进行洗脱, 取 10ul 上样于 1%凝胶, 原始 Marker 分别上样 3ul(60%)和 4ul (80%),测 OD 值。

柱子	核酸浓度	产量 (ug)	260/280	260/30	抽滤时间	0% 121 D膜 MGB 80%
4 层 Whatman GFB	30.203	1.812	1.927	0.486	4min	
	31.493	1.890	1.93	0.149	4min	
4 美基玻纤膜 D	28.900	1.734	1.955	0.363	2min	
	28.492	1.710	1.837	0.195	2min	
4 层美基玻纤膜 MGB	28.459	1.708	1.883	0.1	7min	
	28.845	1.731	1.814	0.164	7min	

DNA 回收效果 (盐酸胍体系, 大体积): 在 5 ml 灭菌水中, 加入 30ul DL2000 DNA Marker 混匀, 加入 15ml Buffer DP, 颠倒混匀, 放置 5 分钟。转移 20ml 混和液至柱子中抽滤, 用 1ml Buffer DW2 清洗两次, 空甩, 最后用 60ul Elution Buffer 进行洗脱, 取 10ul 上样于 1%凝胶, 原始 Marker 分别上样 3ul(60%)和 4ul (80%),测 OD 值。

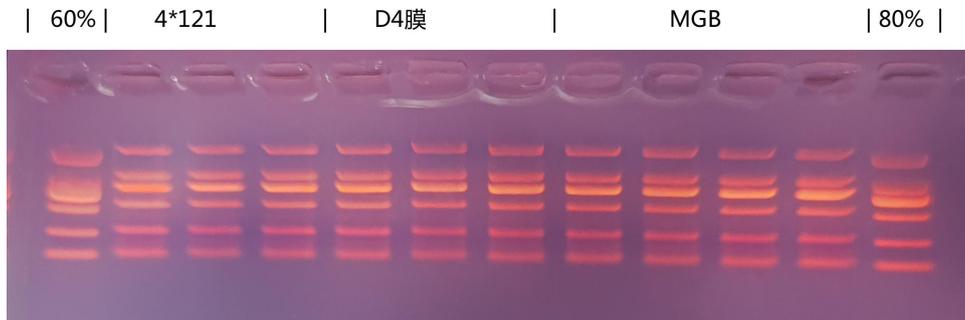
柱子	核酸浓度	产量 (ug)	260/280	260/30	抽滤时间	60% 121 D膜 MGB 80%
4 层 Whatman GFB	29.905	1.794	1.891	2.888	7min	
	28.055	1.683	1.859	1.886	7min	
4 美基玻纤膜 D	28.397	1.704	1.974	2.91	4min	
	29.224	1.753	1.886	1.385	4min	
4 层美基玻纤膜 MGB	27.352	1.641	1.937	1.861	7min	
	26.759	1.606	1.895	1.941	7min	

结论: 取美基生产的玻纤膜 MGB, 玻纤滤膜 D 或 Whatman GFB 生产 4 层小量柱, 然后采用 D2121, PCR 产物回收试剂盒对比不同滤膜的回收率, 实验采用了在大体积 5-10ml 灭菌水, 添加 30ul DL2000 DNA Marker(~2ug DNA), 然后再按 D2121 的流程进行回收, 结果表明, 3 种滤膜, 在超大体积样品都可以高效回收 DNA.

实验 4: 游离 DNA 回收对比数据

大体积 DNA 回收率: 取 5ml 猪血浆至 50ml 离心管中, 加入 4ml Buffer ACL, 0.4 ml Proteinase K, 和 30ul DL2000 DNA Marker, 颠倒混匀 20 次, 55 度温育 30 分钟, 加入 9 ml Buffer ACB2, 颠倒混匀 20 次, -20 度冰箱放置 10 分钟, 取 18ml 混合液至柱子中进行抽滤, 用 1ml Buffer DCW1 清洗一次, 用 1ml Buffer DCW2 清洗两次, 空甩, 最后用 60ul Elution Buffer 进行洗脱 (重复洗脱)。取 10ul 上样于 1% 凝胶, 原始 Marker 分别上样 3ul(60%) 和 4ul(80%), 测量 Qubit, 计算回收率。

柱子类型	抽滤时间	核酸浓度	260/280	260/230	Qubit	qubit 总量	回收率
4 层 Whatman GFB	20min	38.041	1.723	0.262	6.34	380.4	76%
	21min	39.612	1.803	0.697	6.60	396	79%
	20min	36.776	1.713	0.076	6.13	367.8	74%
4 美基玻纤膜 D	14min	43.037	1.685	0.078	7.17	430.2	86%
	13min	40.503	1.583	0.04	6.75	405	81%
	13min	40.007	1.625	0.046	6.67	400.2	80%
4 层美基玻纤膜 MGB	18min	46.252	1.627	0.038	7.71	462.6	93%
	17min	37.593	1.71	0.072	6.27	376.2	75%
	17min	43.955	1.605	0.035	7.33	439.8	88%
原始 Marker 浓度: 10ul+10ul 水混匀后, 再测浓度。					8.32	499.2	100%



实验 5: 血液 DNA 提取对比数据

实验步骤: 取 250ul 动物抗凝血液至 1.5ml 离心管中, 加入 250ul Buffer AL 和 25ul Proteinase K, 颠倒混匀 10 次, 高速涡旋混匀 10 秒, 70 度 1200rpm 振荡温育 10 分钟, 加入 250ul 无水乙醇至样品中, 涡旋混匀 10 秒, 转移全部混匀液至柱子中离心, 用 500ul Buffer DW1 清洗一次, 用 650ul Buffer GW2 清洗两次, 空甩, 加入 100ul 预热至 65 度 Elution Buffer 至柱子浸泡 3 分钟离心, 把洗脱再转移至柱子中, 进行第二次洗脱。然后电泳和测量 OD。

柱子类型	样品类型	核酸(ng/ul)	A260/A280	A260/A230	总量 ug
4 层 Whatman GFB (121)	250ul 抗凝猪血	73.154	1.886	1.158	7.3
		62.978	1.854	1.649	6.3
		62.648	1.866	2.077	6.3
4 层美基玻纤膜 MGB		63.286	1.843	1.325	6.3
		64.219	1.845	1.954	6.4
		63.908	1.873	1.981	6.3
4 层 Whatman GFB (121)	250ul 抗凝羊血	59.306	1.779	1.034	5.9
		44.66	1.861	1.501	4.5
		63.28	1.786	1.006	6.3
4 层美基玻纤膜 MGB		36.872	1.882	1.643	3.7
		52.434	1.745	1.188	5.2
		40.859	1.791	1.162	4.1
4 层 Whatman GFB (121)	250ul 抗凝马血	50.926	1.768	1.005	5.1
		62.31	1.744	1.097	6.2
		52.377	1.811	1.32	5.2
4 层美基玻纤膜 MGB		50.364	1.755	1.178	5.0
		60.104	1.722	1.017	6.0
		47.456	1.811	1.309	4.7

