

P1156B 无内质粒大提性能验证报告

实验 1: 抽滤与离心操作方式的对比

实验步骤: 取 50/100/200ml 培养 14 小时的 LB 培养菌液 (含 pcDNA3.1 载体), 8000rpm 离心 3 分钟收集管细菌, 加入 8ml P1/RNase A 重悬, 8ml Buffer P2 裂解, 加入 5ml Buffer NS3 中和离心并过滤得澄清的滤液, 加入 0.1 倍 Buffer ER2 混匀, 室温放置 5 分钟, 加入 1/3 倍滤液体积的异丙醇混匀, 取全部混合液至红色大柱 C7 抽滤或离心过柱, 5ml GWP 洗一次, 8ml PW2 清洗一次, 空甩, 加入不同体积 Elution Buffer 洗脱两次, 并测量每次的实得体积。

菌液用量	操作方式	洗脱体积	实得洗脱体积(ul)	浓度	260/280	260/230	产量 (ug)
50ml	离心操作	第一次 0.7ml	550	605.5	1.94	2.30	333
		第二次 0.7ml	685	102.9	1.93	2.03	71
		合并	1235	327.2	1.93	2.24	404
		第一次 0.7ml	520	597.5	1.93	2.25	311
		第二次 0.7ml	700	117.9	1.89	2.06	83
		合并	1220	332.1	1.92	2.21	405
	抽滤操作	第一次 0.7ml	550	597.7	1.94	2.27	329
		第二次 0.7ml	690	116.8	1.91	2.02	81
		合并	1240	334.3	1.93	2.21	414
		第一次 0.7ml	525	619.2	1.95	2.30	325
		第二次 0.7ml	700	128.3	1.91	2.14	90
		合并	1225	339.0	1.94	2.26	415
100ml	离心操作	第一次 0.8ml	630	772.1	1.91	2.26	486
		第一次 0.8ml	790	189.6	1.91	2.16	150
		合并	1420	454.9	1.93	2.26	646
		第一次 0.8ml	620	931.4	1.92	2.26	577
		第一次 0.8ml	790	189.9	1.90	2.06	150
		合并	1410	525.8	1.93	2.24	741
	抽滤操作	第一次 0.8ml	600	953.1	1.94	2.30	572
		第一次 0.8ml	800	225.9	1.90	2.15	181
		合并	1400	544.9	1.93	2.26	763
		第一次 0.8ml	580	1059.9	1.94	2.28	615
		第一次 0.8ml	800	179.0	1.91	2.09	143
		合并	1380	561.5	1.93	2.23	775
200ml	离心操作	第一次 1.0ml	740	1282.0	1.93	2.29	949
		第二次 1.0ml	1020	362.3	1.91	2.13	370
		合并	1760	739.7	1.92	2.27	1302
		第一次 1.0ml	720	1502.6	1.93	2.27	1082
		第二次 1.0ml	1030	319.9	1.91	2.14	329
		合并	1750	795.8	1.94	2.28	1393
	抽滤操作	第一次 1.0ml	730	1437.9	1.93	2.29	1050
		第二次 1.0ml	1020	330.8	1.91	2.15	337
		合并	1750	786.3	1.94	2.28	1376
		第一次 1.0ml	710	1453.9	1.94	2.25	1032
		第二次 1.0ml	1010	530.2	1.93	2.21	536
		合并	1720	897.3	1.94	2.26	1543

实验 2: P1156B 黄色大柱 C7 的乙醇残留和去除

实验步骤: 取 P1156B 的黄色大柱 C7, 先称重记录重量, 然后用两种方式过柱甩干:

- 离心过柱再甩干: 加入 9ml PW2 至柱子, 8000rpm 离心 3 分钟 (称重), 倒弃滤液后再 8000rpm 离心 10 分钟甩干称重, 然后室温放置 20 分钟或 65 度烘干 10 分钟称重。
- 离心甩干合并: 加入 9ml PW2 至柱子, 8000rpm 离心 10 分钟 (称重), 然后室温放置 20 分钟或 65 度烘干 10 分钟称重。

PW2 清洗后的重量		甩干		进一步晾干	
操作	柱子增加重量	操作	柱子增加重量	室温 10 分钟	室温再 10 分钟
9ml Buffer PW2 至柱子, 8000rpm 离心 3 分钟	100mg	8000rpm 甩干 10 分 钟	38 mg	12 mg	6 mg
	100mg		26 mg	15 mg	10 mg
9ml PW2 至柱子, 8000rpm 离心 10 分钟			59 mg	20 mg	10 mg
			59 mg	20 mg	10 mg

结论: P1156B 红色大柱 C7, 可以将离心和甩干合并成一步, 以减少操作步骤。8 ml PW2 至柱子, 8000rpm 离心 10 分钟, 此时黄色大柱 C7 只增加 60mg, 约含有 60ul Buffer PW2(80%乙醇), 为了更彻底去除乙醇, 甩干后柱子, 黄色大柱需室温放置 10~20 分钟, 这样乙醇残留低于 10ul。