

P1814 MN4 性能验证报告

实验 1：高拷贝载体的菌液梯度与产量

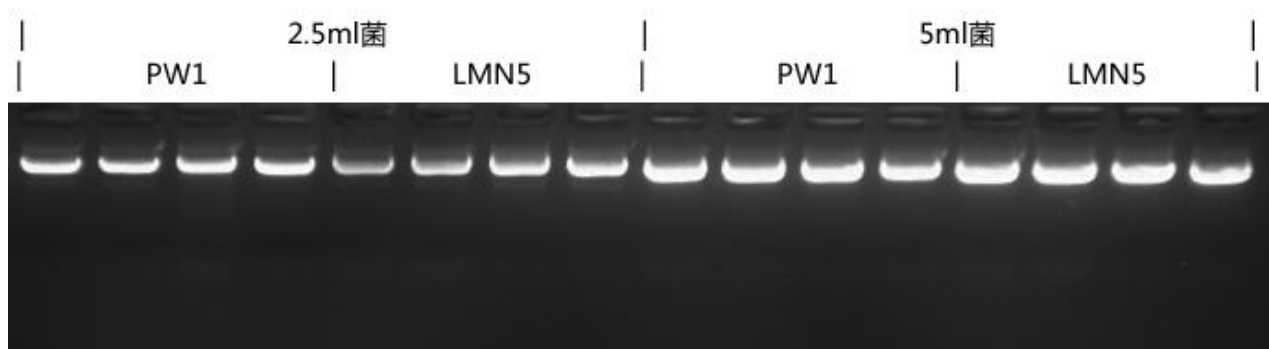
- 菌液上清的制备：取 2.5ml 或 5ml 培养过夜的高拷贝 LB 培养液，离心收集后，加入 0.26ml Buffer P1/RNase A 混合液重悬，加入 0.26ml Buffer P2 裂解，加入 0.13ml Buffer LEN3 中和，13000 xg 离心 10 分钟，取 500ul 上清液上机抽提。
- 96 孔板预装和 MagMix 96 运作参数

96 孔预装板		序号	名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
						时间 (min)	速度	时间	位置	升降 (S)	液面	底部		板位	温度
样品板	500ul 上清 300ul Buffer MN4	1	吸磁	4	500	0.5	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
		2	结合	1	800	7	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
清洗板 1	500ul Buffer LMN5	3	清洗 1	2	500	1	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
		4	清洗 2	3	500	1	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
清洗板 2	500ul Buffer EWB	5	清洗 3	4	900	1	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
		6	清洗 4	5	900	1	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
清洗板 3	900ul Buffer PW2&30ul磁珠MP	7	干燥	6	100	0	8	8min/晾干		0	0	0	自动	/	/
清洗板 4	900ul Buffer PW2	8	洗脱	6	100	6	8	0	0	90s	0	40s	自动	/	/
洗脱板	80ul Elution Buffer (Endo Free)	9	弃磁	3	500	0.5	8	0	0	0	0	0	自动	/	/

● 实验结果

菌液量	清洗液	核酸(ng/ul)	产量 (ug)	A260/A280	A260/A230
2.5ml 培养过夜的高拷贝 LB 培养液	清洗 1: PW1	149.22	11.94	1.94	2.15
		143.54	11.48	1.94	2.26
		145.86	11.67	1.94	2.18
		146.85	11.75	1.95	2.22
	清洗 1: LMN5	153.78	12.30	1.95	1.92
		150.59	12.05	1.95	1.80
		151.33	12.11	1.94	2.17
		150.59	12.05	1.95	2.10
5ml 培养过夜的高拷贝 LB 培养液	清洗 1: PW1	284.91	22.79	1.93	2.21
		279.31	22.34	1.94	2.10
		279.30	22.34	1.94	2.14
		281.84	22.55	1.94	2.19
	清洗 1: LMN5	283.55	22.68	1.96	2.24
		283.91	22.71	1.96	2.11
		288.55	23.08	1.96	2.02
		290.75	23.26	1.95	1.92

电泳图



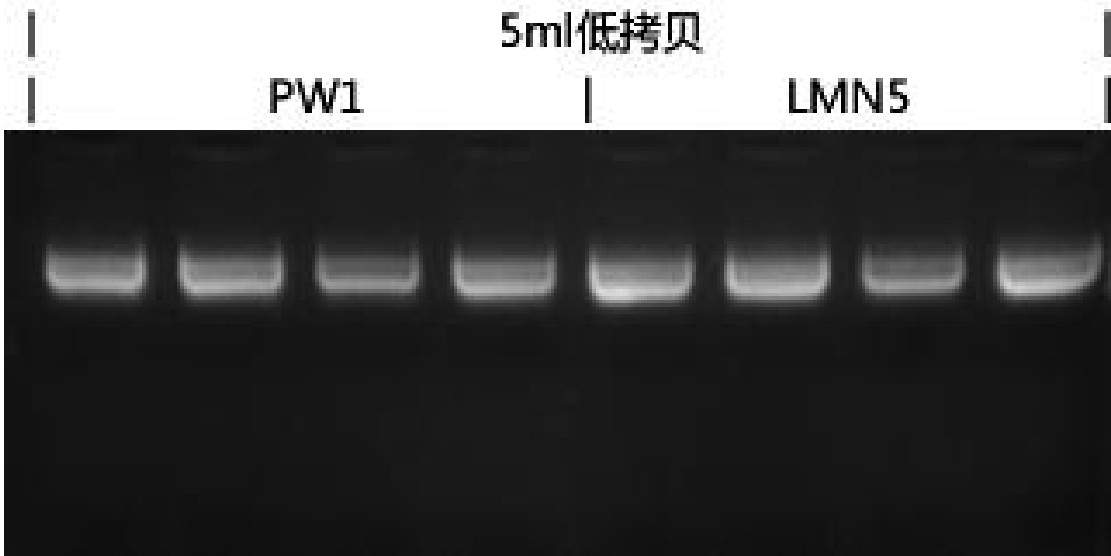
实验 2：低拷贝载体的产量与 RNA 污染

- 菌液上清的制备：取 5ml 培养过夜的低拷贝 LB 培养液，离心收集后，加入 0.26ml Buffer P1/RNase A 混合液重悬，加入 0.26ml Buffer P2 裂解，加入 0.13ml Buffer LEN3 中和，13000 xg 离心 10 分钟，取 500ul 上清液上机抽提。
- 96 孔板预装和 MagMix 96 运作参数

96 孔预装板		序号	名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
						时间 (min)	速度	时间	位置	升降 (S)	液面	底部		板位	温度
样品板	500ul 上清	1	吸磁	4	500	0.5	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
	300ul Buffer MN4	2	结合	1	800	7	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
清洗板 1	500ul Buffer LMN5	3	清洗 1	2	500	1	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
		4	清洗 2	3	500	1	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
清洗板 2	500ul Buffer EVB	5	清洗 3	4	900	1	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
		6	清洗 4	5	900	1	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
清洗板 3	900ul Buffer PW2&30ul磁珠MP	7	干燥	6	100	0	8	8min/晾干		0	0	0	自动	/	/
清洗板 4	900ul Buffer PW2	8	洗脱	6	100	6	8	0	0	90s	0	40s	自动	/	/
洗脱板	80ul Elution Buffer (Endo Free)	9	弃磁	3	500	0.5	8	0	0	0	0	0	自动	/	/

● 实验结果

菌液量	清洗液	核酸(ng/ul)	产量 (ug)	A260/A280	A260/A230
5ml 培养过夜的低拷贝 LB 培养液	清洗 1: PW1	75.70	6.06	1.96	2.21
		74.99	6.00	1.96	2.18
		78.59	6.29	1.95	1.90
		76.57	6.13	1.95	2.21
	清洗 1: LMN5	76.30	6.10	1.95	2.18
		74.63	5.97	1.97	2.18
		74.55	5.96	1.95	2.13
		77.43	6.19	1.95	2.09



结果表明：

- 1、在低拷贝载体或富含 RNA 菌液中，使用 PW1 或 LMN5 作为清洗 1，可以高效洗脱 RNA 污染。
- 2、在高拷贝载体中，清洗 1 使用 LMN5 清洗产量与 PW1 无明显差异，不同菌液产量按梯度提升。