

美基玻璃纤维滤膜 A 性能验证报告

- 用美基玻璃纤维滤膜 A 制成 2 层 (A2) 和 3 层 (A3) 的小量柱。
- 对照: 用 3 层或 4 层的 Whatman GFB 制成 2 层 (B3) 或 4 层 (B4) 的小量柱作为对照。

实验 1: 质粒小量提取试剂盒的应用

实验流程: 取 2ml/3ml/4ml 菌液, 离心收集后, 加入 250 μ l Buffer P1 重悬, 250 μ l Buffer P2 裂解, 350 μ l Buffer P3 中和, 离心得上清液, 转移 800 μ l 上清液至 A2 柱 (2 层美基玻纤膜), A3 柱 (3 层美基玻纤膜) 和 B4 柱 (4 层 Whatman GFB), 然后用 PW1 清洗一次, 用 PW2 清洗两次, 最后用 100 μ l Elution Buffer 洗脱出 DNA, 然后测量 OD 值。

柱子名称	玻纤滤膜	菌液用量	核酸(ng/ μ l)	产量 (μ g)	A260/A280	A260/A230
A2	2 层美基玻纤膜 A	2ml LB 培养过夜菌液	174.6	17.5	1.89	2.27
			173.8	17.4	1.89	2.31
A3	3 层美基玻纤膜 A		263.3	26.3	1.89	2.29
			255.3	25.5	1.88	2.25
B4	4 层 Whatman GFB		271.7	27.2	1.90	2.18
			254.6	25.5	1.88	2.21
A2	2 层美基玻纤膜 A	3ml LB 培养过夜菌液	218.0	21.8	1.88	2.3
			252.2	25.2	1.90	2.3
A3	3 层美基玻纤膜 A		359.2	35.9	1.90	2.3
			359.7	36.0	1.90	2.3
B4	4 层 Whatman GFB		366.3	36.6	1.91	2.2
			367.0	36.7	1.91	2.2
A2	2 层美基玻纤膜 A	4ml LB 培养过夜菌液	334.4	33.4	1.92	2.3
			333.3	33.3	1.91	2.3
A3	3 层美基玻纤膜 A		467.6	46.8	1.91	2.3
			447.3	44.7	1.92	2.3
B4	4 层 Whatman GFB		428.8	42.9	1.91	2.3
			428.4	42.8	1.92	2.3

实验 2: 质粒无内小量提取试剂盒的应用

实验流程: 取 2ml/3ml/4ml 菌液, 离心收集后, 加入 200 μ l Buffer P1 重悬, 200 μ l Buffer P2 裂解, 200 μ l Buffer N3 中和, 离心得上清液, 加入 0.3 倍异丙醇混匀, 转移 800 μ l 上清液至 A2 柱 (2 层美基玻纤膜), A3 柱 (3 层美基玻纤膜) 和 B4 柱 (4 层 Whatman GFB), 然后用 PW1 清洗一次, 用 PW2 清洗两次, 最后用 100 μ l Elution Buffer 洗脱出 DNA, 然后测量 OD 值。

柱子名称	玻纤滤膜	菌液用量	核酸(ng/ μ l)	产量 (μ g)	A260/A280	A260/A230
A2	2 层美基玻纤膜 A	2ml LB 培养过夜菌液	334.4	33.4	1.92	2.25
			333.3	33.3	1.92	2.30
A3	3 层美基玻纤膜 A		359.2	35.9	1.90	2.29
			359.7	36.0	1.90	2.29
B4	4 层 Whatman GFB		366.3	36.6	1.91	2.24
			367.0	36.7	1.91	2.23
A2	2 层美基玻纤膜 A	3ml LB 培养过夜菌液	467.6	46.8	1.91	2.33
			447.3	44.7	1.91	2.33
A3	3 层美基玻纤膜 A		522.5	52.3	1.92	2.23
			523.7	52.4	1.91	2.15
B4	4 层 Whatman GFB		428.8	42.9	1.91	2.29
			428.4	42.8	1.90	2.29
A2	2 层美基玻纤膜 A	4ml LB 培养过夜菌液	457.4	45.7	1.91	2.27
			428.4	42.8	1.90	2.29
A3	3 层美基玻纤膜 A		657.0	65.7	1.90	2.29
			679.0	67.9	1.89	2.29
B4	4 层 Whatman GFB		700.9	70.1	1.90	2.31
			703.0	70.3	1.90	2.25

实验 3: 质粒无内大量提取试剂盒的应用

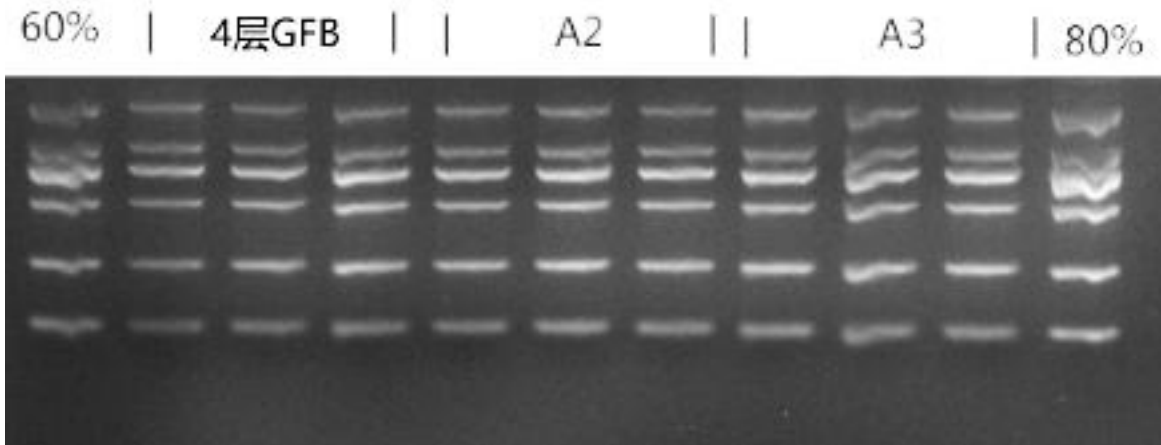
- 用美基玻璃纤维滤膜制成 8 层大量柱。
- 对照: Whatman GF/B 制成 8 层大量柱作为对照。

实验流程: 取 50ml/100ml/200ml 菌液, 离心收集后, 加入 8ml Buffer P1 重悬, 8ml Buffer P2 裂解, 8ml Buffer N3 中和, 离心得上清液, 加入 0.3 倍异丙醇混匀, 转移全部上清液至 A8 柱 (8 层美基玻纤膜) 和 B8 柱 (8 层 Whatman GFB), 然后用 PW1 清洗一次, 用 PW2 清洗两次, 最后用 1000 μ l Elution Buffer 洗脱出 DNA, 然后测量 OD 值。[过柱离心条件为 8000rpm 离心 3 分钟。]

柱子名称	玻纤滤膜	菌液用量	洗脱损失	核酸(ng/ μ l)	产量 (μ g)	A260/A280	A260/A230
A8	8 层美基玻纤膜 A	50ml LB 培养 过夜菌液	~120 μ l	252.7	252.7	1.89	2.18
			~120 μ l	257.3	257.3	1.90	2.2
B8	8 层 Whatman GFB		~120 μ l	254.5	254.5	1.88	2.10
			~120 μ l	252.2	252.2	1.87	2.13
A8	8 层美基玻纤膜 A	100ml LB 培养 过夜菌液	~120 μ l	498.6	498.6	1.89	2.12
			~120 μ l	512.2	512.2	1.88	2.16
B8	8 层 Whatman GFB		~120 μ l	502.5	502.5	1.92	1.88
			~120 μ l	495.6	495.6	1.87	1.97
A8	8 层美基玻纤膜 A	200ml LB 培养 过夜菌液	~120 μ l	986.3	986.3	1.91	2.19
			~120 μ l	996.3	996.3	1.90	2.17
B8	8 层 Whatman GFB		~120 μ l	968.5	968.5	1.89	2.23
			~120 μ l	986.2	986.2	1.91	2.17

实验 4: 核酸纯化的应用

流程（大量核酸）：取 20 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 40 μ l Elution Buffer 进行洗脱，取 10 μ l 上样于 1%凝胶，原始 Marker 分别上样 3 μ l(60%) 和 4 μ l (80%)。



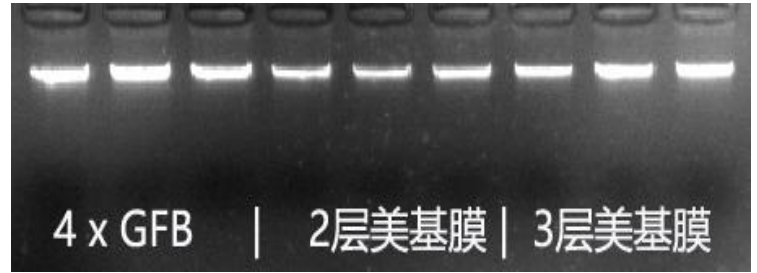
流程（微量核酸）：取 16*0.3g (4.8g) 2%琼脂糖凝胶块，切碎，转移至 15ml 离心管中，加入 5ml Buffer GDP 和 32 μ l DL2000 Marker，混匀，55 度温育 10 分钟或直至胶完全溶解，取 600 μ l 溶胶液过柱，200 μ l GDP 清洗一次，DW2 清洗两次，最后用 100 μ l EB 洗脱。

柱子	浓度	总量	回收率
4 层 Whatman GFB	1.22	122	97%
	1.17	117	93%
纯化柱 B10 (10 层玻纤膜 B)	1.14	114	90%
	1.15	115	91%
纯化柱 A3 3 层美基膜 A	1.12	112	89%
	1.21	121	96%
	1.08	108	86%
	1.10	110	87%
	1.03	103	82%
	1.07	107	85%
原始 Marker 的浓度	1.26	126	100%

实验 5: 血液 DNA 提取的应用

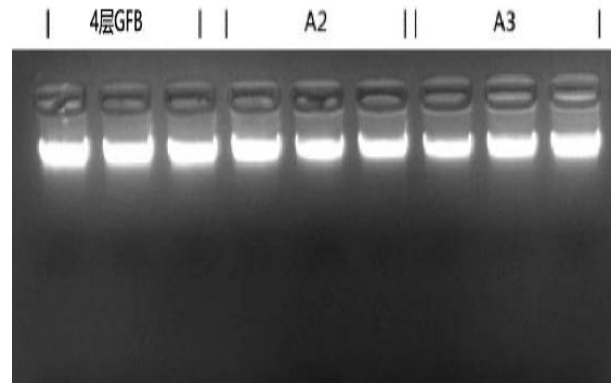
流程 (微量): 取 10 μ l 全血至 1.5ml 离心管中, 用水稀释至 200 μ l。加入 200 μ l Buffer AL 和 20 μ l Proteinase K, 55 度温育 10 分钟, 加入 200 μ l 无水乙醇混匀, 转移全部混匀液至柱子中离心, 用 500 μ l Buffer GW1 清洗一次, 用 Buffer GW2 清洗两次, 空甩, 最后用 50 μ l Elution Buffer 进行洗脱, 然后电泳和测量 Qubit。

柱子	Qubit 值 ng/ μ l	洗脱体积	产量 (ng)
4 层 Whatman GFB	4.51	50 μ l	225.5
	5.52	50 μ l	276
	5.62	50 μ l	281
纯化柱 A2 2 层美基膜 A	5.30	50 μ l	265
	5.02	50 μ l	251
	4.86	50 μ l	243
纯化柱 A3 3 层美基膜 A	4.86	50 μ l	243
	4.98	50 μ l	249
	4.76	50 μ l	238



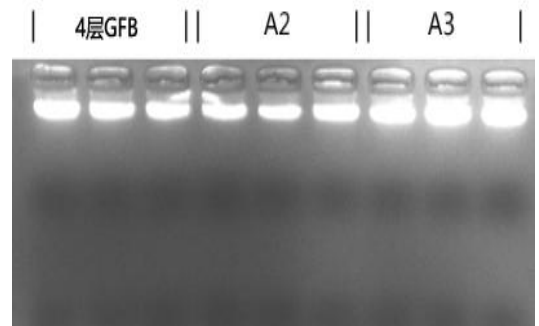
流程 (大量): 取 200 μ l 全血至 1.5ml 离心管中, 加入 200 μ l Buffer AL 和 20 μ l Proteinase K, 70 度温育 10 分钟, 加入 200 μ l 无水乙醇混匀, 转移全部混匀液至柱子中离心, 用 500 μ l Buffer GW1 清洗一次, 用 Buffer GW2 清洗两次, 空甩, 最后用 100 μ l Elution Buffer 进行洗脱, 然后电泳和测量 OD 值。

柱子种类	核酸 (ng/ μ l)	产量 μ g	A260/ A280	A260/A 230
4 层 Whatman GFB	33.27	3.33	1.87	1.76
	37.02	3.70	1.83	1.75
	33.95	3.40	1.87	1.64
纯化柱 A2 2 层美基膜 A	39.60	3.96	1.84	1.35
	43.72	4.37	1.80	1.12
	44.86	4.49	1.85	1.51
纯化柱 A3 3 层美基膜 A	37.97	3.80	1.85	1.68
	34.77	3.48	1.78	1.61
	35.15	3.52	1.79	1.40



基因组 DNA 的回收率: 取 2 μ g gDNA 至 1.5ml 离心管中, 用水补足至 200 μ l, 加入 200 μ l Buffer AL 混匀, 加入 200 μ l 无水乙醇混匀, 转移全部混匀液至柱子中离心, 用 500 μ l Buffer GW1 清洗一次, 用 Buffer GW2 清洗两次, 空甩, 最后用 50 μ l Elution Buffer 进行洗脱 (重复洗脱), 然后电泳和测量 qubit 计量回收率。

柱子类型	洗脱 体积	Qubit 值 ng/ μ l	产量 (ng)	回收率	平均回 收率
4 层 Whatman GFB	50 μ l	27.5	1375	68.8%	69.2%
	50 μ l	25.5	1275	63.8%	
	50 μ l	30	1500	75.0%	
纯化柱 A2 2 层美基膜 A	50 μ l	29	1450	72.5%	72.1%
	50 μ l	29.5	1475	73.8%	
	50 μ l	28	1400	70.0%	
纯化柱 A3 3 层美基膜 A	50 μ l	29	1450	72.5%	67.9%
	50 μ l	26	1300	65.0%	
	50 μ l	26.5	1325	66.3%	



实验 6: RNA 提取的应用

总 RNA(Trizol 加柱法): 取不同用量的新鲜鸡肝组织, 用 Trizol 进行匀浆裂解, 然后用氯仿进行抽提, 取 0.5ml 上清液, 加入 0.25ml 无水乙醇, 混匀。转移 750 μ l 混匀液至柱子中离心, 用 500 μ l Buffer RW1 清洗一次, 用 Buffer RW2 清洗两次, 空甩最后用 100 μ l RNase Free Water 进行洗脱, 测量纯度。

柱子类型	肝脏用量	核酸(ng/ μ l)	产量 ug	A260/A280	A260/A230
3 层 GFB	6mg	385	39	1.90	1.00
		323	32	1.93	1.10
	20mg	912	91	1.87	1.18
		868	87	2.01	1.47
	60mg	2650	265	2.17	2.19
2555		256	2.17	2.11	
纯化柱 A2 2 层美基膜 A	6mg	395	40	1.93	1.20
		338	34	1.92	1.20
	20mg	888	89	2.01	1.61
		895	89	2.00	1.56
	60mg	2656	266	2.13	1.94
2479		248	2.16	2.02	
纯化柱 A3 3 层美基膜 A	6mg	363	36	2.12	1.09
		386	39	1.95	1.16
	20mg	874	87	2.06	1.65
		894	89	2.08	1.74
	60mg	2708	271	2.19	2.12
2860		286	2.12	1.75	

总 RNA(胍盐单柱法): 取 100mg 新鲜鸡肝组织, 加入 7ml RTL Lysis Buffer 进行匀浆裂解, 离心得上清液, 取 0.35ml 上清液, 加入 0.35ml 70%乙醇, 混匀。转移 700 μ l 混匀液至柱子中离心, 用 500 μ l Buffer RW1 清洗一次, 用 Buffer RW2 清洗两次, 空甩最后用 100 μ l RNase Free Water 进行洗脱, 测量纯度。

柱子类型	组织用量	核酸(ng/ μ l)	产量 ug	A260/A280	A260/A230
3 层 GFB	5mg 新鲜鸡肝 脏	334.2	25.1	2.12	2.18
		317.6	23.8	2.11	1.37
		309.5	23.2	2.12	1.36
		336.2	25.2	2.13	1.10
纯化柱 A2 2 层美基膜 A		390.8	29.3	2.14	1.59
		415.6	31.2	2.15	1.86
		411.7	30.9	2.14	1.84
		505.9	37.9	2.12	2.12
纯化柱 A3 3 层美基膜 A		419.0	31.4	2.13	2.02
		398.6	29.9	2.12	1.91
		336.2	25.2	2.11	1.15
		356.9	26.8	2.14	2.06

实验 7: 微量 DNA 提取应用

微量血液流程: 转移 5ul 人体唾液, 用灭菌水稀释至 200ul, 加入 20ul Proteinase K 和 200ul Buffer AL, 55 度振荡温育 10 分钟, 加入 250ul 无水乙醇混匀, 过柱吸附 DNA 和 RNA。用 500ul Buffer VHB 清洗一次, 用 Buffer RW2 清洗两次, 空甩最后用 50ul RNase Free Water 进行洗脱, 测量 Qubit 以及 QPCR 检测。

样品名称	人源 QPCR	Qubit 浓度
纯化柱 A2 (2 层玻纤膜 A)	30.12	不可检出
	29.71	不可检出
	29.83	不可检出
纯化柱 A3 (3 层玻纤膜 A)	29.97	不可检出
	30.09	不可检出
	30.07	不可检出
纯化柱 B10 (10 层玻纤膜 B)	29.36	不可检出
	29.51	不可检出
	29.73	不可检出
4 层 Whatman GFB	29.4	不可检出
	29.89	不可检出
	30.14	不可检出

微量 DNA 回收流程: 转移 1ul DL2000 DNA Marker, 用灭菌水稀释至 200ul, 加入 20ul Proteinase K 和 200ul Buffer AL, 55 度振荡温育 10 分钟, 加入 250ul 无水乙醇混匀, 过柱吸附 DNA 和 RNA。用 500ul Buffer VHB 清洗一次, 用 Buffer RW2 清洗两次, 空甩最后用 50ul RNase Free Water 进行洗脱, 测量 Qubit 以及 QPCR 检测。

样品名称	qubit 值 (ng/ul)	产量 (ng)	回收率
纯化柱 A2 (2 层玻纤膜 A)	1.16	58.00	92%
	1.01	50.50	80%
	1.02	51.00	81%
纯化柱 A3 (3 层玻纤膜 A)	1.18	59.00	94%
	1.19	59.50	94%
	1.22	61.00	97%
纯化柱 B10 (10 层玻纤膜 B)	1.16	58.00	92%
	0.96	48.20	77%
	0.97	48.60	77%
4 层 Whatman GFB	0.97	48.60	77%
	0.97	48.60	77%
	1.16	58.00	92%

实验 8: RNA/DNA 共提取的应用

DNA 和 RNA 共提: 取 100mg 新鲜鸡肝组织, 加入 5ml Buffer RLC 进行匀浆裂解, 离心得上清液, 取 0.5ml 上清液过柱吸附 DNA, 滤液加入 0.5ml 50%乙醇, 混匀, 过柱吸附 RNA。吸附 DNA 的柱子经 DW1 和 DW2 清洗, 最后用 50 μ l Elution Buffer 洗脱 (重复两次)。吸附 RNA 的柱子经 500 μ l Buffer RW1 清洗一次, 用 Buffer RW2 清洗两次, 空甩最后用 100 μ l RNase Free Water 进行洗脱, 测量纯度。

柱子类型	核酸类型	组织用量	核酸(ng/ μ l)	产量 ug	A260/A280	A260/A230		
3 层 GFB	gDNA	10mg	131.1	6.6	1.94	1.22		
			117.7	5.9	1.93	1.18		
纯化柱 A2 2 层美基膜 A			200.7	10.0	1.89	1.74		
			198.2	9.9	1.91	1.78		
纯化柱 A3 3 层美基膜 A			137.6	6.9	1.89	0.64		
			159.1	8.0	1.90	1.00		
3 层 GFB			RNA	10mg	243.4	18.3	2.17	1.70
					259.9	19.5	2.17	0.90
纯化柱 A2 2 层美基膜 A	218.1	16.4			2.15	1.61		
	269.5	20.2			2.16	2.06		
纯化柱 A3 3 层美基膜 A	254.7	19.1			2.17	1.51		
	269.7	20.2			2.16	1.32		

实验 9: 病毒 RNA/DNA 提取的应用

提取流程: 转移 200 μ l 牛血浆至 1.5ml 离心管中, 接种 5 μ l 新城疫病毒和猪圆环病毒, 加入 20 μ l Proteinase K 和 200 μ l Buffer AL(含 5.6 μ g Carrier RNA), 55 度振荡温育 10 分钟, 加入 250 μ l 无水乙醇混匀, 过柱吸附 DNA 和 RNA。用 500 μ l Buffer VHB 清洗一次, 用 Buffer RW2 清洗两次, 空甩最后用 50 μ l RNase Free Water 进行洗脱, 测量纯度(OD 值) 以及 QPCR 检测。由于 Carreier RNA 一起被回收, 且病纯含量极低, 洗脱产物 98%都是 Carrier RNA, 所以 A260/280, A260/230 在 2.8-3.0 是正常的, 是寡聚核苷酸的标准范围。

样品名称	核酸(ng/ μ l)	产量 ug	A260/ A280	A260/ A230	RNA 病毒 (QPCR) (新城疫)	DNA 病毒 (QPCR) (猪圆环病毒)
纯化柱 A2 (2 层玻纤膜 A)	57.23	5.72	3.01	2.33	25.19	26.59
	43.78	4.38	2.87	2.04	25.14	26.7
	53.16	5.32	3.07	2.33	24.63	27.01
纯化柱 A3 (3 层玻纤膜 A)	58.78	5.88	2.89	2.10	25.04	26.17
	66.38	6.64	2.63	1.23	25.48	26.4
	54.97	5.50	3.09	2.75	24.74	26.36
纯化柱 B10 (10 层玻纤膜 B)	49.63	4.96	2.94	1.83	25.24	27.33
	48.48	4.85	3.11	2.64	25.32	27.31
	46.94	4.69	3.13	3.03	25.21	26.74
4 层 Whatman GFB	58.35	5.84	3.09	2.72	25.43	26.34
	57.76	5.78	3.02	2.51	25.47	27.62
	57.18	5.72	3.15	2.92	25.63	28.69

实验 10：不同柱子的提取血液 DNA 时，对纯度的影响

实验流程：取 4ml 猪血至 50ml 离心管中，加入 4ml Buffer AL 和 400ul Proteinase K, 颠倒混匀 15 次，涡旋混匀 10 秒。65 度温育 30 分钟，其间颠倒混匀 3 次。加入 4ml 无水乙醇，立即涡旋混匀 15 秒形成均一的溶液，转移 750ul 混合液至柱子中，离心 1 分钟，加入 500ul DW1 清洗一次，650ul DW2 清洗两次，加入 100ul 预热至 65 度的 Elution Buffer 至柱子中，放置 5 分钟后离心洗脱。测 OD 值。

柱子	浓度	产量	A260/280	A260/230
4 层 Whatman GFB	157.92	15.79	1.91	1.48
	147.84	14.78	1.91	1.57
纯化柱 B10 (10 层玻纤膜 B)	155.35	15.54	1.88	1.47
	154.26	15.43	1.90	1.64
纯化柱 A2 (2 层玻纤膜 A)	147.13	14.71	1.89	1.18
	146.90	14.69	1.93	1.34
	146.85	14.68	1.93	1.33
	152.29	15.23	1.93	1.40
纯化柱 A3 (3 层玻纤膜 A)	113.52	11.35	1.92	1.57
	140.76	14.08	1.91	1.64
	135.00	13.50	1.91	1.69
	142.31	14.23	1.91	1.55