

D3182 抽滤法和离心法对比

实验目的：5ml 样品，ACB 和 ACB2 在抽滤法和离心法下对微量 marker 回收效率的影响

- **样品准备：**取两个 250ml 瓶子，取 55ml 灭菌水至瓶子中，加已纯化的 DNA marker 100ul，加 40ml ACL，涡旋 15s，60 度水浴 30min，期间颠倒混合，加 90ml ACB 或 ACB2，涡旋混匀，在冰上放置 5min。
- **抽滤步骤：**取 8 个 CF DNA 柱，4 个加入 18.5ml ACB 混合液，4 个加入 18.5ml ACB2 混合液，进行抽滤，观察抽滤时间与膜的状态，600ul DCW1 洗涤 1 次，600ul DCW2 洗涤 1 次，600ul 无水乙醇洗涤 1 次，空甩 3min，55 度干燥 10min，加 60ul free water 于柱子膜上，静置 3min，再次洗脱，测 qubit。
- **离心步骤：**取 8 个 CF DNA 柱，连接延长管和支撑柱，放入 50ml 离心管中，分两次加入 18.5ml ACB/ACB2 混合液，3000xg 离心 3min，观察离心效果与膜的状态，600ul DCW1 洗涤 1 次，600ul DCW2 洗涤 1 次，600ul 无水乙醇洗涤 1 次，空甩 3min，55 度干燥 10min，加 60ul free water 于柱子膜上，静置 3min，再次洗脱，测 qubit。
- **柱子过滤速度分析：**
抽滤时间：ACB，26min；ACB2，16min。
离心时间：3000xg 离心 3 分钟即可，5ml 需要二次离心。

实验数据：

结合液	操作方法	上柱体积	过柱时间	Qubit 值	产量 (ng)	回收率
原液稀释				1.82	109.2	
ACB	抽滤步骤	5ml 样品 总体积 18ml	26 分钟	1.7	102	93.4%
				1.62	97.2	89.0%
				1.7	102	93.4%
				1.8	108	98.9%
ACB2			16 分钟	1.88	112.8	103.3%
				1.64	98.4	90.1%
				1.85	111	101.6%
				1.96	117.6	107.7%
ACB	离心步骤	5ml 样品 总体积 18ml	两 步 离 心 每次 3 分钟	2.06	123.6	113.2%
				2.06	123.6	113.2%
				2.02	121.2	111.0%
				1.92	115.2	105.5%
ACB2			两 步 离 心 每次 3 分钟	1.92	115.2	105.5%
				2.04	122.4	112.1%
				2.02	121.2	111.0%
				1.84	110.4	101.1%

- **实验结论：**
抽滤法中，ACB 的回收效率基本达到 90%以上，波动较大；而 ACB2 的回收效率基本达到 100%，波动较小。ACB2 因表面活性剂含量较低，过柱速度更快。
离心法中，ACB 和 ACB2 的回收效率均能达到 100%，过柱速度更高。