

Proteinase K 竞品对比数据 2018.11.02

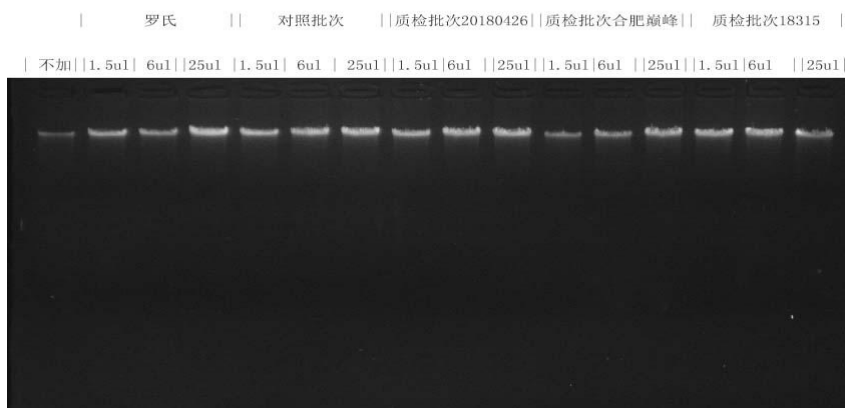
A. 猪血 DNA 提取效果测试 (进行 Proteinase K 质检时, 提前买好新鲜猪血)

1. 取 9ml 新鲜猪血样品, 加入 9ml Buffer AL, 颠倒 10 次后, 充分涡旋混匀, 得到均一的混合液。
2. 取 32 个 1.5ml 离心管, 编号不加、罗氏、对照、质检 1-3, 其中罗氏加入 Proteinase K, 对照加入上一批 Proteinase K, 质检 1-3 加入要质检的 Proteinase K。分别加入 1.5ul、6ul、25ul Proteinase K。
3. 分别转移 500ul 第 1 步得到的混合液至离心管中, 高速涡旋混匀。70 度水浴 10 分钟。
4. 分别加入 250ul 无水乙醇至离心管中。高速涡旋 20 秒。短暂离心收集管壁的液滴。
5. 把取 gDNA (白色) 柱装在新的收集管中, 编号。把离心管中的液体对应编号分别转移至 gDNA 柱子中。10,000 x g 离心 1 分钟。丢弃收集管和流出液。(gDNA 柱=HiPure gDNA Mini Column (3x121, 1x141))
6. 把 gDNA 柱重新装在收集管中。分别加入 500ul Buffer DW1 至柱子中。10,000 x g 离心 30-60 秒。
7. 倒弃流出液, 把柱子重新装回收集管中。分别加入 600ul Buffer GW2 (母液用前要用无水乙醇稀释) 至柱子中, 10,000 x g 离心 30-60 秒。
8. 倒弃流出液, 把柱子重新装回收集管中。分别加入 600ul Buffer GW2 至柱子中, 10,000 x g 离心 30-60 秒。
9. 倒弃流出液, 把柱子重新装回收集管中。13,000 x g 离心 2 分钟。
10. 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管中。加入 100ul 预热至 70 度 Elution Buffer 或灭菌水至柱子的膜中央。放置 3 分钟。13,000 x g 离心 1 分钟。
11. 将 DNA 溶液重新加入至柱子膜中央, 室温静置 3 分钟。13,000 x g 离心 1 分钟。
12. 丢弃 DNA 结合柱, 测量 OD 值, 跑胶。点样各点 5ul。

A260/230	A260/280	Result (ng/ul)	PK 的用量	Proteinase K 品牌	产量
2.01	2.01	38.82	不加		3.88
2.37	1.73	38.94			3.89
2.08	1.72	80.87	1.5ul	罗氏	8.09
2.22	1.76	74.38			7.44
1.68	1.74	94.16	6 ul	罗氏	9.42
2.18	1.75	88.79			8.88
1.62	1.73	99.70	25 ul	罗氏	9.97
1.98	1.76	97.12			9.71
2.05	1.72	78.48	1.5 ul	Magen Proteinase K 20180403	7.85
2.10	1.71	78.72			7.87
1.73	1.74	91.84	6 ul	Magen Proteinase K 20180403	9.18
1.74	1.76	100.86			10.09
1.72	1.72	92.74	25 ul	Magen Proteinase K 20180403	9.27
1.66	1.76	91.84			9.18
1.96	1.70	78.09	1.5 ul	Magen Proteinase K 20180426	7.81
2.08	1.72	71.69			7.17
1.77	1.74	96.24	6 ul	Magen Proteinase K 20180426	9.62
1.75	1.71	93.57			9.36
1.68	1.76	93.73	25 ul	Magen Proteinase K 20180426	9.37
1.77	1.75	94.45			9.45
2.27	1.71	50.40	1.5 ul	合肥巅峰生物科技	5.04
2.16	1.72	48.20			4.82
2.08	1.70	68.43	6 ul	合肥巅峰生物科技	6.84
2.05	1.71	69.02			6.90
1.71	1.73	93.70	25 ul	合肥巅峰生物科技	9.37
2.05	1.75	95.35			9.54
2.16	1.70	77.53	1.5 ul	Magen Proteinase K 18315	7.75
2.01	1.76	87.50			8.75
1.52	1.71	96.15	6 ul	Magen Proteinase K 18315	9.62
1.66	1.73	96.69			9.67
1.51	1.75	79.71	25 ul	Magen Proteinase K 18315	7.97
1.67	1.69	55.34			5.53

通过标准: 电泳图及 OD 值血液产量呈梯度上升, 且质检批次蛋白酶与对照批次蛋白酶提取效果应保持一致。

蛋白酶K质检



B. 肌肉组织效果测试

- 取新鲜肌肉组织样品，分别等量切割成 20mg 每份，共切 32 份。
- 取 32 个 1.5ml 离心管，编号不加、罗氏、对照、质检 1-3，其中罗氏加入 Proteinase K，对照加入上一批 Proteinase K，质检 1-3 加入要质检的 Proteinase K。分别加入 1.5ul、6ul、25 ul Proteinase K。
- 将肌肉组织转移至离心管中，加入 200ul Buffer ATL。55℃水浴，每隔 10 分钟颠倒混匀 1 次，期间每隔 30 分钟观察肌肉组织消化状态。
- 置消化完全后，分别加入 200ul Buffer AL。70℃水浴 10 分钟，偶尔颠倒混匀，12000 × g 离心 5 分钟，取 400ul 上清分别加入 5ul RNA 酶消化 10 分钟，加入 250ul 无水乙醇至离心管中。高速涡旋 20 秒。短暂离心收集管壁的液滴。
- 把取 gDNA（白色）柱装在新的收集管中，编号。把离心管中的液体对应编号分别转移至 gDNA 柱子中。10,000 × g 离心 1 分钟。丢弃收集管和流出液。(gDNA 柱=HiPure gDNA Mini Column (3×121, 1×141))
- 把 gDNA 柱重新装在收集管中。分别加入 500ul Buffer DW1 至柱子中。10,000 × g 离心 30-60 秒。
- 倒弃流出液，把柱子重新装回收集管中。分别加入 600ul Buffer GW2（母液用前要用无水乙醇稀释）至柱子中，10,000 × g 离心 30-60 秒。
- 倒弃流出液，把柱子重新装回收集管中。分别加入 600ul Buffer GW2 至柱子中，10,000 × g 离心 30-60 秒。
- 倒弃流出液，把柱子重新装回收集管中。13,000 × g 离心 2 分钟。
- 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管中。加入 100ul 预热至 70 度 Elution Buffer 或灭菌水至柱子的膜中央。放置 3 分钟。13,000 × g 离心 1 分钟。
- 将 DNA 溶液重新加入至柱子膜中央，室温静置 3 分钟。13,000 × g 离心 1 分钟。
- 丢弃 DNA 结合柱，测量 OD 值，跑胶。点样各点 5ul。

A260 /230	A260 /280	Result ng/ul	PK 的用量	Proteinase K 品牌	产量
1.44	1.84	65.97	不加		6.60
1.64	1.89	96.85			9.68
1.76	1.91	152.00	1.5 ul	罗氏	15.20
1.72	1.90	140.33	6 ul		14.03
2.17	1.87	185.94			25 ul
1.69	1.84	110.29	11.03		
2.07	1.83	103.03	1.5 ul		10.30
2.13	1.88	127.54			12.75
1.71	1.95	167.39	6 ul	Magen Proteinase K 20180403	16.74
1.71	1.92	158.12			15.81
2.21	1.91	190.10			19.01
2.03	1.86	114.14	25 ul		11.41
1.48	1.94	120.70			12.07
2.10	1.92	142.71	1.5 ul		Magen Proteinase K 20180426
2.16	1.90	148.63		14.86	
1.90	1.93	155.14	6 ul	15.51	
1.84	1.83	125.89		12.59	
1.77	1.85	105.60	25 ul	10.56	
2.17	1.85	126.21		12.62	
2.14	1.94	139.99	1.5 ul	Magen Proteinase K 18315	14.00
2.05	1.94	152.36			15.24
1.97	1.82	153.43	6 ul		15.34
2.00	1.87	150.68			15.07
2.13	1.88	166.80	25 ul		16.68
1.95	1.89	199.70			19.97
1.98	1.93	184.44	1.5 ul	合肥巅峰生物科技	18.44
1.89	1.89	139.56			13.96
2.00	1.87	105.28	6 ul		10.53
1.79	1.97	100.75			10.07
1.81	1.87	133.88	25 ul		13.39
1.61	1.85	120.04			12.00

