

新芝生物 DNA 打断仪打断实验报告

一、实验目的：

1. 测试在 100%功率（300 W），超声时间：10 s，间歇时间：10s，50ul 打断条件下，不同目的片段大小对应的打断时间。
2. 验证相同打断条件下，打断效果的重复性和均一性。
3. 测试超声打断损伤对产物回收得率的影响。
4. 对比新芝超声 DNA 打断仪与 Covaris M220 的打断效果

二、主要仪器

新芝超声波 DNA 打断仪（Scientz18-A）、DC 数控超级恒温槽（DC-1006）、非接触式超声波破碎仪（Covaris M220）

三、实验条件与方法：

1. DNA 样本来源：gDNA 来源于 λ 噬菌体，浓度为：20 ng/ul 。
3. 参数设置：功率 100%（300 W），超声时间：10 s，间歇时间：10s。具体各样本打断条件见下表：

样本编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
EP 管容积(μ l)	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200
样本体积(μ l)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
打断总时长(min)	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4

样本编号	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
EP 管容积(μ l)	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200
样本体积(μ l)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
打断总时长(min)	5	5	5	7.5	7.5	7.5	10	10	10	15	15	15

3. 超声打断完毕后，1-18 号样本用 1×Beads 回收，19-24 号样本用 1.8×Beads 回收，琼脂糖凝胶电泳检测打断效果。

四、实验结果：

1. 琼脂糖凝胶电泳检测结果：

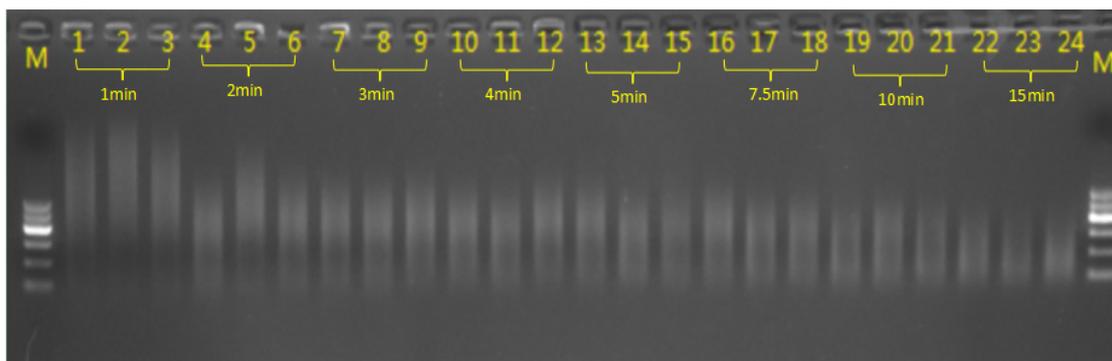


图 1：1~24 号样本打断后电泳检测结果。

图中 Marker 条带从下往上依次为 100 bp、200 bp、300 bp、400 bp（最亮条带）、500 bp、600 bp。实验结果表明：（1）随着打断时间的增加，打断片段的大小也随之变小；（2）相同打断条件下，打断效果的重复性和均一性良好。

2. 不同打断时长下的回收得率：

样本编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
打断总时长(min)	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4
DNA 起始量(ng)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
回收后总量(ng)	750	770	730	630	670	650	600	590	610	500	490	520
回收得率(%)	75	77	73	63	67	65	60	59	61	50	49	52
平均得率(%)		75			65			60			50	

样本编号	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
打断总时长(min)	5	5	5	7.5	7.5	7.5	10	10	10	15	15	15
DNA 起始量(ng)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
回收后总量(ng)	470	450	460	470	460	460	495	510	500	430	420	400
回收得率(%)	47	45	46	47	46	46	50	51	50	43	42	40
平均得率(%)		46			46			50			42	

上述结果表明：打断时间越长，DNA 胶回收得率对应越低。

3. 相同处理时长的样本混合后，琼脂糖凝胶电泳检测结果：

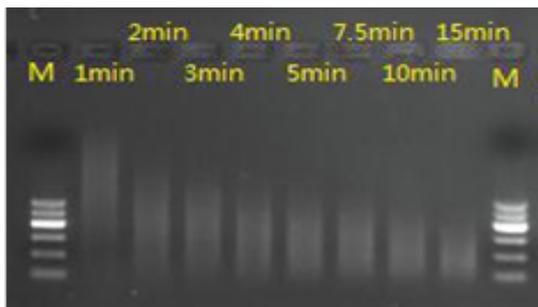


图 2：处理时长相同的样本（8 组）均匀混合后电泳检测结果

Marker 条带从下往上依次为 100 bp、200 bp、300 bp、400 bp（最亮条带）、500 bp、600 bp。

4. 新芝超声 DNA 打断仪与 Covaris M220 对比，琼脂糖凝胶电泳检测结果：

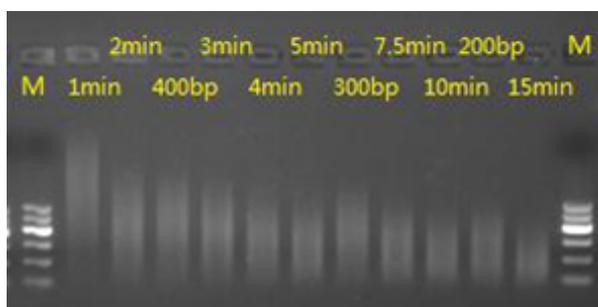


图 3 新芝超声 DNA 打断仪与 Covaris M220 对比结果

图中标示 400 bp、300 bp、200 bp 的胶孔，为 Covaris M220 设置对应片段大小打断后电泳检测结果。Marker 条带从下往上依次为 100 bp、200 bp、300 bp、400 bp（最亮条带）、500 bp、600 bp。实验结果表明：在各自打断条件下，打断至相同目的片段大小，图示结果无显著差异。

五、实验结论：

1. 50 μ l 体系（用 0.2 ml 薄壁 PCR 管装），目的片段大小 400~600 bp，推荐打断时间：2 min；目的片段大小 300 bp，推荐打断时间：4min；探针捕获推荐 7~10min
2. 随着打断时间的增加，打断片段的大小也随之变小，具有一定的规律可循；
3. 相同打断条件下，打断效果的重复性和均一性良好；
4. 打断时间越长，片段越小，DNA 胶回收得率对应越低；
5. 新芝超声 DNA 打断仪和 Covaris M220 的打断效果无显著差异；