

MagPure Plasmid Mini LQ Kit

磁珠法快提质粒试剂盒（磁珠除杂）

本产品采用高结合力的超顺磁性的磁性粒子为基质,适合于从 1~3ml 细菌培养液中提取高达 20μg 的质粒 DNA。纯化的质粒可直接用于自动测序、酶切、PCR 和标记等。20 分钟可以完成数个样品的抽提工作，整个操作过程不需接触酚氯仿等有机物抽提，也不需用到耗时的醇类沉淀。

产 品 组 分：瓶装试剂

产 品 编 号	P1813-01	P1813-02	P1813-03
包装次数	50 次	96 次	480 次
RNase A	5 mg	5 mg	20 mg
MagPure Particles	2 ml	4 ml	16 ml
MagPure Particles N	2 ml	4 ml	16 ml
Buffer P1	12 ml	25 ml	115 ml
Buffer P2	12 ml	25 ml	115 ml
Buffer LEN3	6 ml	12 ml	58 ml
Buffer GP	18 ml	35 ml	170 ml
Buffer PW1	25 ml	50 ml	220 ml
Elution Buffer	10 ml	15 ml	60 ml

产 品 组 分：96 孔板预装试剂

货 号	试剂组分与装量	P1813F-96	P1813F-4800
RNase A		5 mg	2 × 60 mg
MagPure Particles		4 ml	160 ml
Buffer P1		30 ml	3 × 480 ml
Buffer P2		30 ml	3 × 480 ml
Buffer LEN3		15 ml	750 ml
Buffer GP		35 ml	4 × 430 ml
样品板	空	1 块	50 块
清洗板 1	800μl 灭菌水	1 块	50 块
清洗板 2	500μl 洗涤液 PW1	1 块	50 块
清洗板 3	800μl 洗涤液 PW2&30ul MPN	1 块	50 块
洗脱板(浅孔)	70μl 洗脱液 EB	1 块	50 块
96 磁棒套	/	1 块	50 块

保存条件 本产品可在室温（15-25℃）保存 18 个月。

准备事项 加入 0.2~0.5ml Buffer P1 至 RNase A 干粉中，吸打混匀 5~10 次让 RNase A 干粉充分溶解，然后把 RNase A 全部转移至 Buffer P1 中，于 2-8℃ 保存，有效期为 6 个月。

方案 1. 96 孔板高通量手工或移液工作站提取

1. 在样品板中加入 1.0~1.3 ml YT 或 LB 培养液，接种单克隆菌斑，贴上透气封口膜，37℃，220~300rpm 摇床培养 16 小时扩增质粒。
2. 2,500 × g 离心 10 分钟收集菌体，撕弃封口膜，倒弃培养液，把 96 孔板反扣于吸水纸上轻轻拍打几下以吸尽残液。
3. 加入 200µl Buffer P1/RNase A 和 30µl MagPure Particles，最高速度（1200~1500rpm）涡旋 3~5 分钟使细菌充分重悬。

使用前须确保 RNase A 和 MagPure Particles 已加到 Buffer P1 中。Buffer P1/RNase A/MagPure Particles 可以预先按比例进行混匀，然后保存于 2~8℃。

移液工作站或 96 孔板涡旋仪如 IKA MS3：最高速度（1200~2000rpm）涡旋 3-5 分钟使细菌充分重悬。以下操作若采用 96 孔板振荡仪或移液工作站进行混匀时，无需贴上封口膜。

4. 加入 200µl Buffer P2，贴上封口膜，温和地上下颠倒混匀 6~8 次，室温放置 5 分钟。
移液工作站或 96 孔板涡旋仪时（IKA MS3）：400~600rpm 低速振荡 5 分钟使细菌充分裂解。
5. 短暂离心收集孔口的液滴，撕去封口膜，加入 100µl Buffer LEN3，贴上封口膜，立即温和地上下颠倒混匀 10-15 次，短暂离心收集孔口的液滴。
移液工作站或 96 孔板涡旋仪时（IKA MS3）：600~800rpm 振荡 2 分钟进行预中和，800-1000rpm 振荡 3 分钟充分中和形成蛋白状分散沉淀物。

6. 加入 300µl Buffer GP，放置 2-3 分钟，然后放置于磁力架静置吸磁，转移 700~750µl 上清液至新的 2.2ml 的 96 孔板中。

移液工作站或 96 孔板涡旋仪时（IKA MS3）：400~600rpm 振荡 2 分钟进行混匀。

7. 加入 30µl MagPure Particles N 至上清液中，800~1000 rpm 振荡 5 分钟，磁力架静置吸附 2 分钟，倒弃或吸弃废液。
8. 加入 400µl Buffer PW1，800~1000rpm 振荡 2 分钟，磁力架静置吸磁，倒弃或吸弃废液。

9. 加入500µl 75%乙醇, 800~1000rpm振荡2分钟, 磁力架静置吸磁, 倒弃或吸弃废液。
10. 加入500µl 75%乙醇, 800~1000rpm振荡2分钟, 磁力架静置吸磁, 倒弃或吸弃废液。
11. 室温或37℃静置10分钟使磁珠充分干燥。
12. 加入70~100µl Elution Buffer, 800~1000rpm振荡混匀6分钟, 转移至磁力架上吸附2分钟, 把DNA转移至新的96孔板中。

方案 2. 96 孔板核酸提取仪

1. 在样品板中, 加入1.0~1.3 ml YT或LB培养液, 接种单克隆菌斑, 贴上透气封口膜, 37℃, 220~500rpm摇床培养16小时扩增质粒。
2. 2,500 × g离心10分钟收集菌体, 撕弃封口膜倒弃培养液, 把96孔板反扣于吸水纸上轻轻拍打几下以吸尽残液。
3. 加入250µl Buffer P1/RNase A和30µl MagPure Particles, 最高速度(1200~1500rpm)涡旋3~5分钟使细菌充分重悬。

使用前须确保RNase A和MagPure Particles已加到Buffer P1中。

移液工作站或96孔板涡旋仪如IKA MS3: 最高速度(1200~1800rpm)涡旋3-5分钟, 以下操作若采用振荡混匀, 无需贴上封口膜。

4. 加入250µl Buffer P2, 贴上封口膜, 温和地上下颠倒混匀6~8次, 室温放置5分钟。
移液工作站或96孔板涡旋仪时(IKA MS3): 600~800rpm低速振荡3~5分钟使细菌充分裂解。
5. 短暂离心收集孔口的液滴, 撕去封口膜, 加入130µl Buffer LEN3, 贴上封口膜, 立即温和地上下颠倒混匀10-15次, 短暂离心收集孔口的液滴。
移液工作站或96孔板涡旋仪时(IKA MS3): 600~800rpm振荡2分钟进行预中和, 800-1200rpm振荡3分钟充分中和形成蛋白状分散沉淀物。

6. 加入300µl Buffer GP至样品板中。
7. 取出试剂盒的所需组分, 去除封口袋和封口膜。
8. 将样品板(第5步)、清洗板1、清洗板2、清洗板3、洗脱板转移至核酸提取仪。

9. 约30分钟完成提取。取出DNA保存于-20℃.

附：MagMix 96, iTrack 96, Natch 96 系列提取仪设定

序号	名称	板位	容积 (ul)	混合		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		孔位	温度
1	吸杂	1	600	10	7	0	0	90	0	0	自动	0	/
2	除杂	2	800	30	8	0	0	0	0	0	自动	0	/
3	吸杂	1	600	60	7	0	0	90	0	0	自动	0	/
4	除杂	2	800	30	8	0	0	0	0	0	自动	0	/
5	吸磁	4	900	20	8	0	0	60	0	0	自动	0	/
6	结合	1	900	300	8	0	0	60	20	20	自动	0	/
7	清洗	3	400	60	8	0	0	90	0	0	自动	0	/
8	清洗	4	800	60	8	0	0	60	0	0	自动	0	/
9	晾干	6	70	0	0	240	晾干	0	0	0	自动	0	/
10	洗脱	6	70	300	9	0	0	60	0	20	自动	6	55
11	弃磁	3	400	20	9	0	0	0	0	0	自动	0	/