

MagPure Fast Plasmid Mini LQ Kit

磁珠法质粒快提试剂盒（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	P1812-01	P1812-02	P1812-03
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
Buffer P1	15 ml	30 ml	120 ml
Buffer P2	15 ml	30 ml	120 ml
Buffer N3	15 ml	30 ml	120 ml
Bind Beads	17 ml	35 ml	165 ml
Buffer GWP	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	P1812F-96	P1812F-4800
RNase A		10 mg	2 × 60 mg
MagPure Particles		4 ml	160 ml
Buffer P1		30 ml	2 × 550 ml
Buffer P2		30 ml	2 × 550 ml
Buffer N3		30 ml	2 × 550 ml
Bind Beads		40 ml	3 × 550 ml
样品板	空	1 块	50 块
清洗板1	600μl 灭菌水	1 块	50 块
清洗板2	500μl 洗涤液GWP	1 块	50 块
清洗板3	800μl 洗涤液PW2	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 220μl Buffer P1/RNase A，最高速度（1200~2000rpm）涡旋 3~5 分钟使细菌重悬。
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（1200~2000rpm）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 220μl Buffer P2，贴上封口膜，温和地上下颠倒混匀 6~8 次，室温放置 3~5 分钟。
移液工作站或 96 孔板涡旋仪时（IKA MS3）：400~600rpm 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 200μl Buffer N3 和 30μl MagPure Particles，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 2 分钟充分中和形成蛋白状分散沉淀物。
为了方便操作，Buffer N3 和 MagPure Particles 可以按比例进行预混合。
6. 磁力架静置吸磁，转移 500μl 上清液至新的 2.2ml 的 96 孔板中。
若转移的上清液含有较多杂质，下次提取时加大 P1/P2/N3 的体积至 250ul，以确保这一步得到足够且澄清的上清液。
7. 加入 300μl Binds Beads，800~1000 rpm 振荡 5 分钟，磁力架吸附 2 分钟，倒弃或吸弃废液。
8. 加入 500μl Buffer GWP，1000~1200rpm 振荡 2 分钟，磁力架静置吸磁，倒弃或吸弃废液。

9. 加入500 μ l 75%乙醇，1000~1200rpm振荡2分钟，磁力架静置吸磁，倒弃或吸弃废液。
10. 加入500 μ l 75%乙醇，1000~1200rpm振荡2分钟，磁力架静置吸磁，倒弃或吸弃废液。
11. 室温或37 $^{\circ}$ C静置10分钟使磁珠充分干燥。
12. 加入70~100 μ l Elution Buffer，800~1000rpm振荡混匀5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 $^{\circ}$ C，220~500rpm摇床培养16小时扩增质粒。
2. 2,500 $\times$ 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220 μ l Buffer P1/RNase A和，最高速度（1200~1500rpm）涡旋3~5分钟使细菌重悬。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220 μ l Buffer P2，贴上封口膜，温和地上下颠倒混匀6~8次，室温放置3分钟。移液工作站或96孔板涡旋仪时（IKA MS3）：500~600rpm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200 μ l Buffer N3和30 μ l MagPure Particles，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2分钟充分中和形成蛋白状分散沉淀物。
为了方便操作，Buffer N3和MagPure Particles可以按比例进行预混合。
6. 取出试剂盒的所需组分，去除封口袋和封口膜。
7. 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。
8. 启动程序进行提取，约5~10分钟仪器暂停。

9. 取出样品板，每孔加入300ul Bind Beads，再转移至仪器中。

10. 约20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	60	5	0	0	60	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	5	0	0	60	0	0	自动	0	/
4	除杂	2	800	30	8	0	0	0	0	0	自动	0	/
5	暂停	1	600	0	0	暂停		0	0	0	自动	0	/
6	结合	1	900	360	8	0	0	60	20	20	自动	0	/
7	清洗	3	500	120	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	300	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	4	800	20	9	0	0	0	0	0	自动	0	/