

MagPure Plasmid DNA Mini EF Kit

磁珠法无内质粒预装试剂盒

本产品采用采用高结合力的超顺磁性的磁性粒子为基质，适合于从 1~1.5ml 细菌培养液中提取高达 10 μ g 的质粒 DNA。纯化的质粒可直接用于细胞转染、自动测序、酶切、PCR 和标记等。60 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 份

货 号	P1814-F48	P1814-F96	P1814-F4800
RNase A	5 mg	10 mg	3 x 60 mg
MagPure Particles	2.0 ml	3.5 ml	160 ml
Buffer P1	15 ml	30 ml	2 x 550 ml
Buffer P2	15 ml	30 ml	2 x 550 ml
Buffer N3	15 ml	30 ml	2 x 550 ml
Buffer MN4	20 ml	40 ml	4 x 450 ml
磁棒套	1 板	1 板	50 板
样品板：空	1 板	1 板	50 板
清洗板 1：500 μ l 灭菌水	1 板	1 板	50 板
清洗板 2：500 μ l Buffer GWP	1 板	1 板	50 板
清洗板 3：800 μ l Buffer PW2&40ul MP	1 板	1 板	50 板
清洗板 4：800 μ l Buffer PW2	1 板	1 板	50 板
洗脱板：80 μ l Elution Buffer	1 板	1 板	50 板

保 存 条 件 本产品室温运输和保存，有效期 18 个月。

准 备 条 件 加入 0.2~0.5ml Buffer P1 至 RNase A 干粉中，吸打混匀 5~10 次让 RNase A 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。

实验步骤 A: 核酸提取仪除杂

1. **96 孔板培养:** 在 2.2ml 样品板中, 每孔加入 1.0~1.3ml LB 或 YT 培养液, 接种单克隆菌斑, 贴上透气封口膜, 37°C, 220~280rpm 摇床培养 16 小时扩增质粒。
2. **2,500 x g 离心 10 分钟收集细菌。**倒去培养基, 然后倒置于吸水纸上轻轻拍打吸尽残液。此时样品可以密封并在-20~-80°C 下冷冻以便后续处理。
3. **每孔中加入 220µl Buffer P1/RNase A, 最高速度涡旋或吸打重悬细菌。**
使用前, 须确保 RNase A 已加到 Buffer P1 中。
移液工作站或 96 孔板涡旋仪 (IKA MS3): 最高速度振荡 5 分钟使细菌充分重悬。彻底重悬细菌对获得高产量是相当重要的, 重悬后应看不到细胞团块。
4. **每孔加入 220µl Buffer P2, 贴上封口膜, 上下颠倒混匀 10-15 次, 室温放置 3 分钟。**
移液工作站或 96 孔板涡旋仪 (IKA MS3): 400~600rpm 低速振荡 3~5 分钟。
5. **每孔加入 200µl Buffer N3 和 30µl MagPure Particles, 贴上封口膜, 立即上下颠倒混匀 10-15 次。**
移液工作站或 96 孔板涡旋仪 (IKA MS3): 600~800rpm 低速振荡 2 分钟, 1000-1200rpm 振荡 2 分钟。
为了方便操作, Buffer N3 和 MagPure Particles 可以按比例进行预混合。
6. **预分装试剂:** 颠倒 96 孔板让磁珠充分悬浮, 正放 1 分钟后, 去除封口袋和封口膜。
7. **把样品板 (第 5 步) 以及清洗板 1-4, 以及洗脱板放置至 96 孔板提取仪中。**
8. **启动程序, 约 10 分钟暂停。**
9. **取出样品板, 每孔加入 350µl Buffer MN4。**
10. **继续执行程序, 约 30 分钟完成提取。**
11. **把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中, 把产物保存于-20~8°C。**

序号	步骤	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	吸杂	1	600	1 min	5	0	0	90	0	0	自动	/	/
2	除杂	2	600	0.5min	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
3	吸杂	1	600	1 min	5	0	0	90	0	0	自动	/	/
4	除杂	2	600	0.5 min	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
5	暂停	1	600	0	8	暂停		0	0	0	自动	/	/
6	吸磁	4	500	0.5 min	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
7	结合	1	800	8 min	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
8	清洗1	3	600	2 min	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
9	清洗2	4	800	1 min	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
10	清洗3	5	800	1 min	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
11	干燥	6	600	0	0	8 min		0	0	0	自动	/	/
12	洗脱	6	100	5 min	8	0	0	60s	0	30	自动	/	/
13	弃磁	3	500	0.5 min	8	0	0	0	0	0	自动	/	/

实验步骤 B: 转移上清液

- 96孔板培养：**在 2.2ml 样品板中，每孔加入 1.0~1.3ml LB 或 YT 培养液，接种单克隆菌斑，贴上透气封口膜，37℃，220~280rpm 摇床培养 16 小时扩增质粒。
- 2,500 x g 离心 10 分钟收集细菌。**倒去培养基，然后倒置于吸水纸上轻轻拍打吸尽残液。此时样品可以密封并在-20~-80℃ 下冷冻以便后续处理。
- 每孔中加入 220µl Buffer P1/RNase A，最高速度涡旋或吸打重悬细菌。**
使用前，须确保 RNase A 已加到 Buffer P1 中。
移液工作站或 96 孔板涡旋仪（IKA MS3）：最高速度振荡 5~ 10 分钟使细菌充分重悬。彻底重悬细菌对获得高产量是相当重要的，重悬后应看不到细胞团块。
- 每孔加入 220µl Buffer P2，贴上封口膜，温和地上下颠倒混匀 10-15 次，短暂离心收集孔口的液滴，室温放置 2~3 分钟。**
移液工作站或 96 孔板涡旋仪（IKA MS3）：400~600rpm 低速振荡 3~5 分钟。

5. 每孔加入 220 μ l Buffer N3 或230 μ l Buffer N3/MagPure Particles，贴上封口膜，立即上下颠倒混匀 10-15 次。

移液工作站或 96 孔板涡旋仪（IKA MS3）：600~800rpm 振荡 2 分钟，1000~1200rpm 振荡 2 分钟。

采用磁珠法除杂质，加入 30 μ l MagPure Particles 至 Buffer N3 重悬液中，Buffer N3 和 MagPure Particle 可以预先配制成混合液，按 200 μ l Buffer N3 加 30 μ l MagPure Particles 的比例进行预混，该混和液可 2-8 度放置 6 个月。

6. 选择合适的方案去除中和后形成的杂质。

离心除杂：4,000~4,500 $\times$ g 离心 20 分钟沉淀杂质，用移液器或移液工作站缓慢地从最高液面位置吸取上清液（~500 μ l）。通常 20 分钟离心足以沉淀絮状物，如果絮状物没有紧密地附着在孔底则应增加离心时间

磁珠法除杂：进行磁珠法除杂时，第 5 步必须加入 30 μ l MagPure Particles，中和后磁珠和絮状沉淀结合在一起，形成有磁性的沉淀物。把样品放置在 96 孔磁力架上静置 3-5 分钟将磁珠和杂质吸附在侧壁或底部，然后用缓慢吸液方式转移出适量的上清液（~500 μ l）。

7. 小心缓慢转移 500 μ l 上清液至样品板中，每孔加入 300 μ l Buffer MN4。
8. 预分装试剂：颠倒 96 孔板让磁珠充分悬浮，正放 1 分钟后，去除封口袋和封口膜。
9. 把样品板（第 7 步）以及清洗板 2~4（不需要清洗板 1），以及洗脱板放置至 96 孔板提取仪中，约 30 分钟完成提取。
10. 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~-8℃。

序号	步骤	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	吸磁	4	500	0.5 min	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
2	结合	1	800	8 min	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
3	清洗 1	3	600	2 min	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
4	清洗 2	4	800	1 min	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
5	清洗 3	5	800	1 min	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
6	干燥	6	600	0	0	8 min		0	0	0	自动	/	/
7	洗脱	6	100	5 min	8	0	0	60s	0	30	自动	/	/
8	弃磁	3	500	0.5 min	8	0	0	0	0	0	自动	/	/

