MagicPure® 96 Plasmid MiniPrep Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号： EM131-96

版本号： Version 1.1

保存： 试剂盒在15℃-30℃温度下保存18个月，避免冻存。

产品说明

本试剂盒为采用改良版碱裂解法，并充分利用纳米磁珠在杂质去除和DNA吸附方面的优势，而开发的免离心磁珠法提取产品。本产品适用于从≤3 ml LB培养基或2×YT/TB培养基培养的大肠杆菌中高效地提取质粒DNA。提取中通过指示剂颜色的变化，指示裂解、中和是否完全，实现操作可视化，从而保证质粒提取的质量。提取的质粒DNA适用于酶切、连接、转化、测序等实验。本试剂盒适用于磁棒式自动化核酸提取仪。

特点

- 操作简便，无需离心，提取速度快。
- 提取量稳定，纯度高。

试剂盒组成

Component	EM131-96-11 (96 rxns)
Plate 1: Empty plate	-/-
Plate 2: Clean Beads for Plate	800 µl/孔×96
Plate 3: Clean Buffer for Plate	800 µl/孔×96
Plate 4: Wash Buffer & DNA Beads 1 for Plate (WB&DNA Beads 1 for Plate)	700 µl/孔×96
Plate 5: Wash Buffer for Plate (WB for Plate)	700 µl/孔×96
Plate 6: Elution Buffer (EB)	70 µl/孔×96
96-Tip Comb	1个
Resuspension Buffer -A（RB -A, Red）	40 ml
Lysis Buffer -A(LB -A)	40 ml
Neutralization Buffer 1-A (NB 1 -A, Yellow)	50 ml
RNase A（10 mg/ml）	800 µl

样本要求

- 96孔板培养菌体量为0.70~3.0 mL；
- 提取3 ml LB培养基培养的大肠杆菌时菌液OD_{600}值不宜超过3.0。

操作步骤

1、质粒小提试剂准备

1.1使用前，将RNaseA全部加入RB -A中，混匀后储存于2-8℃待用。

1.2使用前，请检查LB-A是否混浊。如有混浊，可在37℃水浴中加热至彻底溶解。

1.3从试剂盒中取出预封装96孔深孔板，去掉深孔板的外包装，将96孔深孔板颠倒混匀数次使磁珠重悬，轻甩深孔板使试剂及磁珠均集中到深孔板底部（也可使用深孔板离心机，500 rpm离心不超过1分钟）。

2、旋转振荡仪与核酸提取仪联用操作步骤

2.1 样品前处理

(a)菌液样本处理：在96孔培养板中，过夜培养含目的质粒的大肠杆菌菌液。

(b)使用离心机3500 rpm离心5 min收集孔板中菌液，弃掉上清液，并倒置于吸水纸上30~60 sec，尽量去除残留液体。

(c)加入250 μL RB -A ，置于旋转振荡仪上，1200 rpm，3-5 min，使菌体细胞充分悬浮，溶液呈现浑浊的红色。

*RB-A使用前加入RNase A，菌体需完全悬浮于RB-A溶液，且悬浮液中无肉眼可见菌体斑块。

(d)将250μl重悬后的菌液转移至Plate1中。

(e)向Plate1各孔加入250 μL LB -A，置于旋转振荡仪上，700~800 rpm混匀约30 sec（溶液混匀由红色变为澄清、均一的紫色菌体裂解液，即为裂解完全，若枪头蘸取溶液可见拉丝现象）。

*振荡裂解过程中，尽量缩短质粒DNA暴露于碱性溶液时间, 最好不要超过2 min。

(f)向Plate1各孔加入350 μL NB1 -A，置于旋转振荡仪上，1200 rpm振荡混匀约30 sec（至溶液从紫色变为均一的黄色浑浊液即可，且肉眼可见成团的黄色絮状沉淀物），进入自动化提取阶段。

2.2将96-Tip Comb放置于Plate 2中。

2.3将Plate 1- Plate 6分别放置于提取仪1-6号工位上。

2.4 运行96通道自动化核酸提取仪自动化提取程序。

*按如下表设置程序。

步骤	工位	名称	等待时间	混合时间	混合速度	磁吸时间	容积	温度
1	2	Load	-	-	-	-	-	-
2	2	移CleanBeads	0 min	5 sec	快速	20 sec	800 μl	OFF
3	1	抓沉淀1	0 min	1 min	快速	30 sec	850 μl	OFF
4	2	弃沉淀1	0 min	5 sec	快速	0 sec	800 μl	OFF
5	1	抓沉淀2	0 min	1 min	快速	30 sec	850 μl	OFF
6	2	弃沉淀2	0 min	5 sec	快速	0 sec	800 μl	OFF
7	1	暂停	-	-	-	-	-	OFF
暂停：取出Plate1后向各孔中加入220 μl异丙醇，随后将Plate1放回1号工位，继续运行程序。								
8	4	移DNABeads	0 min	5 sec	快速	30 sec	500 μl	OFF
9	1	结合	0 min	5 min	快速	30 sec	970 μl	OFF
10	3	漂洗1	0 min	1 min	快速	30 sec	800 μl	OFF
11	4	漂洗2	0 min	1 min	快速	30 sec	500 μl	OFF
12	5	漂洗3	0 min	1 min	快速	30 sec	500 μl	OFF
13	6	洗脱	5 min	5 min	快速	20 sec	70 μl	56℃
14	5	弃磁珠	0 min	10 sec	快速	0 sec	500 μl	OFF
15	5	晾干	3 min	-	-	-	-	OFF
16	6	吸磁	-	-	-	20 sec	70 μl	OFF
17	5	Unload	-	-	-	-	-	

2.5 程序结束后，将6号工位的96孔深孔板 Plate 6 中的DNA吸出，置于-20℃保存。

3、核酸提取仪单机操作步骤

3.1样品前处理

(a)菌液样本处理：在96孔培养板中，过夜培养含目的质粒的大肠杆菌菌液。

(b)使用离心机3500 rpm离心5 min收集孔板中菌液，弃掉上清液，并倒置于吸水纸上30~60 sec，尽量去除残留液体。

(c)加入250 μL RB-A，置于旋转振荡仪上，1200 rpm，3-5 min，使菌体细胞充分悬浮，溶液呈现浑浊的红色。

*RB-A使用前加入RNase A，菌体需完全悬浮于RB-A溶液，且悬浮液中无肉眼可见菌体斑块。

(d)将250μl重悬后的菌液转移至Plate1中。

(e)向Plate1各孔加入250 μL LB-A。

3.2将96-Tip Comb放置于Plate 1中。

3.3将Plate 1- Plate 6分别放置于提取仪1-6号工位上。

3.4 运行96通道自动化核酸提取仪自动化提取程序。

*按如下表设置程序。

步骤	工位	名称	等待时间	混合时间	混合速度	磁吸时间	容积	温度
1	1	Load	-	-	-	-	-	-
2	1	裂解	0min	2 min	慢速	0 sec	800 μl	OFF
3	1	暂停	-	-	-	-	-	-
暂停：取出Plate1后向各孔中加入350 μl NB1-A，随后将Plate1放回1号工位，继续运行程序。								
4	1	中和	0 min	2 min	中速	0 sec	800 μl	OFF
5	2	移CleanBeads	0 min	5 sec	快速	20 sec	800 μl	OFF
6	1	抓沉淀1	0 min	1 min	快速	30 sec	800 μl	OFF
7	2	弃沉淀1	0 min	10 sec	快速	-	800 μl	OFF
8	1	抓沉淀2	0 min	30 sec	快速	30 sec	800 μl	OFF
9	2	弃沉淀2	0 min	10 sec	快速	-	800 μl	OFF
10	1	暂停	-	-	-	-	-	-
暂停：取出Plate1后向各孔中加入220 μl 异丙醇，随后将Plate1放回1号工位，继续运行程序。								
11	4	移DNA磁珠	0 min	0 min	快速	30 sec	700 μl	OFF
12	1	结合	0 min	5 min	快速	30 sec	900 μl	OFF
13	3	漂洗1	0 min	1 min	快速	30 sec	800 μl	OFF
14	4	漂洗2	0 min	1 min	快速	30 sec	700 μl	OFF
15	5	漂洗3	0 min	1 min	快速	30 sec	700 μl	OFF
16	6	洗脱	4 min	5 min	快速	30 sec	70 μl	56℃
17	5	弃磁珠	0 min	5 sec	快速	0 sec	700 μl	OFF
18	5	晾干	3 min	-	-	-	-	-
19	6	吸磁	-	-	-	20 sec	70 μl	OFF
20	5	Unload	-	-	-	-	-	

3.5 程序结束后，将6号工位的96孔深孔板 Plate 6 中的DNA吸出，置于-20℃保存。

注意事项

- 为保证提取核酸的品质，避免样本反复冻融。
- 使用Nuclease-free的无菌离心管和枪头，避免样本DNA被降解。
- 当提取3 ml菌液时OD_{600}值不宜超过3.0，菌体量过高将导致提取产量和纯度的损失。
- LB-A与NB-A溶液若有沉淀析出，请于37℃恒温箱或水浴锅加热至沉淀完全溶解，摇晃混匀待用。
- RB-A使用前请加入全部RNase A溶液，摇晃混匀待用。
- 本说明书中所提到旋转振荡仪转速以IKA MS3 Basic型号为例。使用不同品牌旋转振荡仪时，转速和时间参数设置需依照实际效果来调整，合适的参数更利于高质量质粒的提取。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号：V1.1-202512

服务电话 +86-10-57815020
服务邮箱 complaints@transgen.com