MagicPure® 24 Plasmid MidiPrep Kit (for 奥盛 Auto-Pure 24)

使用前请仔细阅读说明书

目录号： EM141-24

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。本产品适用于单次从，≤45 ml大肠杆菌菌液或≤0.3 g/次的菌泥样本中高效地提取质粒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24通道自动化核酸提取仪。

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	EM141-24-11-AS (24 rxns)
Plate 1: Lysis Buffer (LB, Blue)	1000 µl/孔×24
Plate 2: Clean Beads for Plate	3000 µl/孔×24
Plate 3: Clean Buffer for Plate (CB for Plate)	2000 µl/孔×24
Plate 4: Wash Buffer & DNA Beads 2 for Plate (WB & Beads 2 for Plate)	2000 µl/孔×24
Plate 5: Wash Buffer for Plate (WB for Plate)	2000 µl/孔×24
Plate 6: Elution Buffer (EB)	1000 µl/孔×24
Resuspension Buffer (RB)	30 ml
Neutralization Buffer 1 (NB1)	30 ml
RNase A（10 mg/ml）	600 µl

样本要求

- 单次提取菌泥质量不超过0.3 g。
- 当单次提取45 ml菌液时，大肠杆菌菌液OD_{600}值不应超过3.0。

操作步骤

1、质粒中提试剂准备

1.1使用前，将RNaseA全部加入RB中，混匀后储存于2-8℃待用。

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

1.3从试剂盒中取出预封板，去掉深孔板的外包装，将预封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。

2. 自动化核酸提取仪操作步骤

2.1 样品前处理

(a) 取过夜培养的菌液培养板，7,000×g离心4 分钟收集菌体弃上清，将离心管倒扣在纸巾上以除尽培养基。

*培养基残留将影响裂解效果和降低产量。

(b) 向单次提取量的菌体沉淀中加入0.7 ml RB，涡旋震荡至彻底重悬菌体。

*RB使用前请检查是否已加入RNaseA。未充分重悬菌体将造成质粒产量下降。

(c) 向Plate 1各孔中分别加入全部重悬后的菌体（约0.8 ml/孔）。

(d) 将Plate1放置于旋转振荡仪中，400-500 rpm混匀约90 sec（溶液混匀变为澄清、透亮的蓝色菌体裂解液，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。

(e) 向Plate1各孔加入1ml NB1，置于旋转振荡仪上，500 rpm振荡混匀约90 sec（至溶液从蓝色变为均一的白色浑浊液即可，且肉眼可见成团的白色絮状沉淀物），进入自动化提取阶段。

(f) 将Plate 1- Plate 5分别放置于奥盛 Auto-Pure 24的1-5号工位上，并将Plate6置于8号工位上。

(g) 将24 tip Comb放置于Plate2中。

2.2 运行24通道自动化核酸提取仪程序

*设置洗脱温度56°C，然后按如下表设置程序。

程序①

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Clean Beads	0 min	10 sec	3	30 sec	3000 µl	OFF
3	1	抓沉淀1	0 min	60 sec	4	50 sec	2800 µl	OFF
4	2	弃沉淀1	0 min	10 sec	4	0 sec	3000 µl	OFF
5	1	抓沉淀2	0 min	30 sec	4	50 sec	2800 µl	OFF
6	2	弃沉淀2	0 min	10 sec	4	0 sec	3000 µl	OFF
7	4	Unload	-	-	-	-	-	-

2.4程序①结束后请缓慢取出Plate1，向其中各孔加入0.8 ml异丙醇，将Plate1放回提取仪1号工位，运行程序②。

程序②

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	4	Load	-	-	-	-	-	-
2	4	移DNA Beads	0 min	10 sec	3	50 sec	2000 µl	OFF
3	1	结合	0 min	5 min	4	50 sec	3600 µl	OFF
4	3	漂洗1	0 min	1 min	3	50 sec	2000 µl	OFF
5	4	漂洗2	0 min	1 min	3	50 sec	2000 µl	OFF
6	5	漂洗3	0 min	1 min	3	50 sec	2000 µl	OFF
7	6	洗脱	5 min	5 min	2	50 sec	1000 µl	56°C
8	3	Unload	-	-	-	-	-	-

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45 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溶液若有沉淀存在，请于37°C恒温箱或水浴锅孵育至沉淀完全溶解，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