

MagPure Plasmid LQ Kit

磁珠法质粒小提试剂盒

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 1~3ml 细菌培养液中提取高达 20 μ g 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。

产品组份

产品编号	P1812-01	P1812-01	P1812-03	P1812-04
包装次数	100 次	500 次	5000 次	50000 次
RNase A	10 mg	20 mg	2 x 100 mg	2 g
Buffer P1	25 ml	120 ml	2 x 600 ml	12 L
Buffer P2	25 ml	120 ml	2 x 600 ml	12 L
Buffer N3	25 ml	120 ml	2 x 600 ml	12 L
Bind Beads	25 ml	120 ml	2 x 600 ml	12 L

保存条件

本产品除 RNase A 外，其它组份可在室温（15-25 $^{\circ}$ C）保存 18 个月。RNase A 室温运输，收到产品后把 RNase A 保存于-20-8 $^{\circ}$ C。低温下，Buffer P2 可能会有沉淀形成。使用前 37 $^{\circ}$ C 水浴使沉淀完全溶解。当 RNase A 加入 Buffer P1 后，可在 2-8 $^{\circ}$ C 保存 6 个月。

准备事项

- 短暂离心 RNase 酶管，把全部 RNase A 转移至 Buffer P1 中，于 2-8 $^{\circ}$ C 保存。每 20~30ml Buffer P1 加入 100ul RNase A。2~8 $^{\circ}$ C 保存，有效期为 6 个月。

方案 1. 单管式操作

1. 将含目的载体的菌种接种于含 1~2ml LB/抗生素培养液的 10~20ml 培养管中，37°C 摇床培养 12~16 小时。
2. 10,000 × g 离心 1 分钟，收集 1~2ml 菌体。
3. 倒弃培养基，在吸水纸上轻轻拍打吸尽残液。**加入 200µl Buffer P1/RNase A 混和液，高速涡旋重悬细菌。**
4. **往重悬液中加入 200µl Buffer P2，颠倒混匀 8~10 次。**
5. **加入 200µl Buffer N3，立即颠倒 8~10 次让溶液彻底中和。**
6. 13,000 × g 离心 10 分钟。
7. 转移 400µl 上清液至新的 1.5ml 离心管中。
8. **加入 200µl Bind Beads，涡旋混匀 10 秒，静置 3~5 分钟，其间颠倒混匀数次。**
9. 转移至磁力架上吸附 3~5 分钟，吸弃或倒弃所有的溶液。
10. **加入 500µl 75%乙醇，涡旋混匀 15 秒，转移至磁力架上吸附 1 分钟。吸弃溶液。**
11. (可选)重复第 10 步一次。
12. 短暂离心，吸弃所有溶液，空气干燥 3~5 分钟。
13. **加入 25~50µl 灭菌水，混匀 20 秒，室温静置 3 分钟。**
14. 转移至磁力架上吸附 2 分钟，把 DNA 转移至新的 1.5ml 离心管中。

方案 2. 96 孔板高通量手工提取

1. 在 96 深孔板中，加入 0.7~1ml 2 × YT 或 TB 培养液，将含目的质粒的菌种接种于每个孔中，贴上可透气的封口膜或盖上盖子。37°C，220rpm 摇床培养 20~24 小时扩增质粒。2,500-3,000 × g 离心 10 分钟收集菌体。
2. 撕弃封口膜，倒弃培养液，并把 96 孔板反扣于吸水纸上，轻轻拍打几下以吸尽残液。**每孔中加入 200µl Buffer P1/RNase A 混和液**，放置于 IKA MS3 涡旋仪上，最高速度涡旋 3-5 分钟重悬细菌。
3. **加入 200µl Buffer P2**，放置于 IKA MS3 涡旋仪上，300-600rpm 振荡混匀 5 分钟。
4. **加入 200µl Buffer N3**，放置于 IKA MS3 涡旋仪上，300-600rpm 振荡混 5 分钟。
5. 3,000~5,000 × g 离心 20 分钟。
6. **用 8 通道移液枪转移 400µl 上清液至新的 1.1ml 或 2.2ml 的 96 孔板中。**
7. **加入 200µl Bind Beads**，放置于 IKA MS3 涡旋仪上，700~900rpm 振荡混 2 分钟。室温放置 10 分钟。转移至磁力架上吸附 3~5 分钟。将磁力架和 96 孔板扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液
8. **加入 500µl 75%乙醇**，放置于 IKA MS3 涡旋仪上，700~900rpm 振荡混 1 分钟。转移至磁力架上吸附 1 分钟。将磁力架和 96 孔板扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。
9. 重复第 10 步一次。让磁力架和 96 孔板反扣于吸水纸 3 分钟彻底吸弃残液。
10. 空气干燥 10~15 分钟。
11. **加入 30~50µl 灭菌水，荡混匀 30~60 秒，室温静置 3 分钟**，700~900rpm 振荡混 1 分钟。转移至磁力架上吸附 3 分钟，把 DNA 转移至新的 96 孔板中。

方案 3. 移液工作站流程设计

1. 在 96 深孔板中，加入 0.6~1ml 2 x YT 或 TB 培养液，将含目的质粒的菌种接种于每个孔中，贴上可透气的封口膜或盖上盖子。37°C，220rpm 摇床培养 20~24 小时扩增质粒。
2. 2,500-3,000 × g 离心 10 分钟收集菌体。
3. 撕弃封口膜，倒弃培养液，并把 96 孔板反扣于吸水纸上，轻轻拍打几下以吸尽残液。**每孔中加入 200µl Buffer P1/RNase A 混和液**，放置于 IKA MS3 涡旋仪上，最高速度涡旋 3-5 分钟重悬细菌。
4. **加入 200µl Buffer P2**，放置于 IKA MS3 涡旋仪上，300-600rpm 振荡混匀 5 分钟。
5. **加入 200µl Buffer N3**，放置于 IKA MS3 涡旋仪上，300-600rpm 振荡混 5 分钟。
6. 3,000~5,000 × g 离心 20 分钟。
7. **用移液工作站转移 400µl 上清液至新的 96 孔板中。**
8. **加入 200µl Bind Beads，振荡混匀 60~120 秒，静置 10 分钟。**转移至 96 孔磁力架上吸附 3~5 分钟。吸弃所有的溶液。
9. (可选) **加入 300µl Buffer PW1**，放置于 IKA MS3 涡旋仪上，700~900rpm 振荡混 2 分钟。转移至磁力架上吸附 2 分钟。吸弃溶液

加入 Buffer PW1 进行清洗，有利于提高质粒的稳定性和减少 RNA 污染。Buffer PW1 需要另外订购。
10. **加入 300µl 75%乙醇，振荡混匀 30~60 秒。**转移至磁力架上吸附 2 分钟。吸弃溶液。
11. (可选)重复第 10 步一次。
12. 空气干燥 10~15 分钟。
13. **加入~50µl 灭菌水，荡混匀 30~60 秒，室温静置 3 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。