

# MolPure<sup>®</sup> Mag96 Plasmid Mini Kit (Prepackaged)

## 磁珠法 96 孔质粒小量提取试剂盒 (预封装)

### 产品简介

MolPure<sup>®</sup> Mag96 Plasmid Mini Kit (Prepackaged) 磁珠法 96 孔质粒小量提取试剂盒 (预封装) 采用碱裂解法裂解细胞, 通过独特的磁珠和精心优化的缓冲体系从菌体中提取纯化高质量的质粒 DNA, 提取过程中不需要用到有毒的酚氯仿等有机物。本试剂盒适用于提取 1-5 mL 过夜培养的大肠杆菌, 质粒提取得率和质量与质粒拷贝数、宿主菌种类以及细菌培养条件等因素相关。从 2 mL 过夜培养的菌液中一般能够获得 8-12  $\mu\text{g}$  的高质量质粒 DNA。本试剂盒提取到的质粒 DNA 可直接用于后续酶切、转化和测序等实验。

### 产品信息

货号	18541ES96
规格	96 T

### 组分信息

类别	组分编号	组分名称	18541ES96
Part I	18541-A	RNase A	250 $\mu\text{L}$
Part II	18541-B	Buffer P1	24 mL
	18541-C	Buffer P2	24 mL
	18541-D	Buffer P3	24 mL
	18541-E	结合板	1 块 $\times$ 1
	18541-F	漂洗板	1 块 $\times$ 1
	18541-G	磁珠+洗涤板	1 块 $\times$ 1
	18541-H	洗涤板	1 块 $\times$ 1
	18541-I	洗脱板	1 块 $\times$ 1
	18541-J	96 深孔磁棒套	1 块/包 $\times$ 1

### 储存条件

- 1.Part I 冰袋运输,  $-25\sim-15^{\circ}\text{C}$  保存, 有效期 2 年;
- 2.Part II 室温运输, 室温保存, 有效期 18 个月。

### 注意事项:

1. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。
2. Buffer P2 和 Buffer P3 中含有刺激性物质, 操作过程中应穿上实验服, 戴好乳胶手套, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服, 防止吸入口鼻。沾染皮肤或眼睛后, 请立即用清水或生理盐水冲洗, 必要时寻求医生的帮助。
3. 本产品仅作科研用途!

### 实验前准备:

1. 自备仪器与试剂：台式离心机、小型离心机、涡旋振荡仪、96 通道核酸提取仪。
2. 首次使用前，将 RNase A (18541-A)全部加入到 Buffer P1 (18541-B) 瓶中，充分混匀后使用，并做好标记，储存于 2-8°C。
3. 使用前请检查 Buffer P2 (18541-C)是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请于 37°C水浴重新溶解。

## 操作方法

### 一、样本预处理：

1. 从新鲜培养的平板中挑取一个单克隆菌落，接种到含对应抗生素的 LB 培养基中，37°C剧烈振荡培养 12-16 h。  
 【注】：细菌培养时间不应超过 16 h。培养时间超过 16 h 的细菌开始出现溶解现象，可能导致质粒 DNA 的得率降低。  
 【注】：用于细菌培养的培养基所占容器的体积不应大于 1/4。  
 【注】：长时间储存的甘油菌中的细菌可能已经出现细菌个体间基因型的分化，并混有丢失质粒的细菌。甘油菌必须在含有抗生素的平板上划线筛选，挑选生长良好的单菌落用于接种培养。
2. 取 1-5 mL 过夜培养的菌液，12,000 rpm 离心 1 min，吸弃上清液，收集菌体沉淀。  
 【注】：菌液较多时，可通过多次离心将菌体沉淀收集在一个离心管中。
3. 向菌体沉淀中加入 250 μL Buffer P1，吹打或涡旋重悬菌体沉淀。  
 【注】：确保菌体彻底重悬，否则影响得率和质量。  
 【注】：确保 Buffer P1 中已添加 RNase A。
4. 加入 250 μL Buffer P2，立即温和地上下翻转 6-8 次以充分裂解菌体。  
 【注】：使用 Buffer P2 前确认溶液中没有沉淀存在；Buffer P2 使用后应盖紧瓶盖，避免与空气长期接触。  
 【注】：裂解时间与菌量相关，当细菌裂解充分时，溶液应呈粘稠的透明状；如果达不到上述效果，可能是细菌用量过多所致，可增加翻转的次数以达到粘稠的透明状,此步骤最长不能超过 5 min。  
 【注】：此步骤不可用旋涡振荡器混匀，否则将导致最后制备的质粒中混有基因组 DNA。
5. 加入 250 μL Buffer P3，立即温和地上下翻转 6-8 次充分混匀，此时将出现白色絮状沉淀。12,000 rpm 室温离心 10 min，小心地将吸取 700 μL 上清液至新的 1.5 mL 离心管中，此为**样本预处理液**。

### 二、自动化提取：

1. 从试剂盒中取出预装板，正反颠倒数次使磁珠重悬，轻甩孔板使试剂和磁珠都集中到孔板底部，小心撕去预装板封膜。
2. 小心地吸取**样本预处理液**至结合板（18541-E）。
3. 将预装板正确安放在核酸提取仪中，并正确安装磁棒套。
4. 运行如下程序，程序结束后，将洗脱得到的核酸溶液（18541-I，洗脱板）转移至新的离心管中，溶液可置于-20°C短期保存，-80°C长期保存。

翌圣 96 通道自动化核酸提取仪 AP-96N 提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步
板位	3	1	2	3	4	6	3
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:04:00	00:00:00
混合模式	M1	M3	M3	M2	M2	M3	M1
混合时间	00:00:12	00:05:00	00:02:00	00:01:30	00:01:00	00:06:00	00:00:12
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:00:30	00:01:20	00:00:30	00:00:30	00:00:30	00:01:20	00:00:00

体积	500 $\mu$ L	1000 $\mu$ L	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L	70 $\mu$ L	500 $\mu$ L
温度	-	-	-	-	-	65 $^{\circ}$ C	-
混合模式	M1	混合时间 10 s, 混合速度 100000					
混合模式	M2	混合时间 10 s, 混合速度 200000					
混合模式	M3	混合时间 10 s, 混合速度 300000					