

目 录

简 介.....	2
原 理.....	3
组 成.....	4
保质期.....	5
1. HiPure Fastfilter Plasmid Midi Kit 离心方案.....	6
2. HiPure Fastfilter Plasmid Midi Kit 负压抽滤方案.....	8
3. HiPure Fastfilter Plasmid Maxi Kit 离心方案.....	9
4. HiPure Fastfilter Plasmid Maxi Kit 负压抽滤方案.....	11
7. 质粒的浓缩.....	13
8. 简易的负压抽滤装置.....	14
常见问题回答.....	15

版本: 2019-05

简介

HiPure Fastfilter Plasmid Kits 为常规的质粒制备提供了快速而经济的解决方案。试剂盒采用硅胶柱纯化技术，可在 15-60 分钟完成抽提工作。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。纯化的质粒可直接用于自动测序、酶切、PCR 和标记等。

- HiPure Fastfilter Plasmid Midi Kit 适合于从 15-50ml 细菌培养液中纯化 30-250 μ g 质粒 DNA。
- HiPure Fastfilter Plasmid Maxi Kit 适合于从 50-200ml 细菌培养液中纯化 0.1-1mg 质粒 DNA。

产品名称	Fastfilter Plasmid Midi Kit	Fastfilter Plasmid Maxi Kit
产品编号	P1013	P1014
菌液用量	15-50 ml	50-200 ml
结合能力	250 μ g	1 mg
离心机	中型离心机(15ml)	桶状水平离心机(50ml) 3,000-4,000 \times g
浓度	0.1-0.5 μ g/ μ l	0.1-0.7 μ g/ μ l
洗脱体积	0.3-0.5 ml	1.0-3.0 ml

原 理

HiPure 质粒提取系列将经典的碱裂解法和硅胶柱纯化技术结合在一起，为常规的质粒制备提供了快速而经济的解决方案。其原理及流程主要包括：

- **碱裂解法处理**

离心收集细菌，加入缓冲液(Buffer P1)重悬细菌，加入碱性裂解液(Buffer P2)裂解细菌，加入带有高盐的中和液(Buffer NP3)进行中和；新型的 Buffer NP3 与其它产品有着很大的差别，得到的混匀液只需 1-2 分钟离心就可获得澄清的滤液；其它产品往往需要离心 10 分钟，而且得到的滤液还经常有颗粒悬浮。

- **硅胶柱吸附**

HiPure DNA 柱（也叫硅胶柱）采用玻璃纤维滤膜为基质，在高盐条件下玻璃纤维滤膜可吸附核酸，而蛋白质，降解的 RNA 等杂质不会被吸附而去除。中和液已加入高盐条件，得到的滤液可直接上柱，经离心或抽滤过滤，质粒 DNA 就会结合至硅胶柱的基质上，而蛋白质和其它杂质不吸附，随溶液一起滤出。

- **洗涤除盐和洗脱出核酸**

硅胶柱吸附质粒后，(可选)加入高盐溶液 (Buffer PW1) 进行洗涤去除痕量的杂质；加入含乙醇的溶液(Buffer PW2)洗涤去除盐份；离心干燥去除膜上残留的乙醇；最后用 Tris 缓冲液或灭菌水洗脱出 DNA。洗脱出来的 DNA 可直接用于下游的各种用途。

组 成

HiPure Fastfilter Plasmid Midi Kit

Cat.No.	P1013-01	P1013-02	P1013-03
包装次数	2 次	10 次	50 次
RNase A	1 mg	10 mg	20 mg
Buffer P1	10 ml	60 ml	250 ml
Buffer P2	10 ml	60 ml	250 ml
Buffer LEN3	5 ml	30 ml	120 ml
Buffer GP	10 ml	60 ml	250 ml
Buffer PW1	6 ml	15 ml	60 ml
Buffer PW2*	6 ml	20 ml	50 ml
Elution Buffer	1.8 ml	15 ml	60 ml
Lysate Clear Midi Syringe	2	10	50
HiPure DNA Midi Column III	2	10	50
15 ml Collection Tube	2	10	50

保 存 条 件 与 保 质 期

HiPure 质粒提取试剂盒在室温下（15-25℃）干燥保存 18 个月。RNase A 干粉室温运输和保存，长期保存(>3 个月)放置于-20~8℃。低温下，Buffer P2 可能会有沉淀形成。使用前 37℃ 水浴使沉淀完全溶解。

组 成

HiPure Fastfilter Plasmid Maxi Kit

Cat.No.	P1014-01	P1014-02	P1014-03
包装次数	2 次	10 次	50 次
RNase A	5 mg	20 mg	2 x 60 mg
Buffer P1	50 ml	220 ml	2 x 550 ml
Buffer P2	50 ml	220 ml	2 x 550 ml
Buffer LEN3	25 ml	120 ml	2 x 300 ml
Buffer GP	50 ml	220 ml	2 x 550 ml
Buffer PW1	20 ml	60 ml	270 ml
Buffer PW2*	20 ml	50 ml	2 x 100 ml
Elution Buffer	20 ml	30 ml	120 ml
Lysate Clear Maxi Syringe	2	10	50
HiPure DNA Maxi Column III	2	10	50
50ml Collection Tube	2	10	50

保 存 条 件 与 保 质 期

HiPure 质粒提取试剂盒在室温下 (15-25℃) 干燥保存 18 个月。RNase A 干粉室温运输和保存, 长期保存(>3 个月)放置于-20~8℃。低温下, Buffer P2 可能会有沉淀形成。使用前 37℃水浴使沉淀完全溶解。

1. HiPure Fastfilter Plasmid Midi Kit 离心方案(P1013)

该方案采用离心方法，适合于从 30-50ml 细菌培养液中提取 50-250 μ g 高拷贝质粒 DNA。提取低拷贝数的质粒时，只需增加一倍 Buffer P1、Buffer P2、Buffer LEN3 和 Buffer GP，即可处理 50-100ml 的细菌培养液，此时需要更多的溶液可单独订购。以下离心均在室温下进行。◆代表高拷贝质粒，■代表中低拷贝质粒。

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 干粉溶解，把 RNase A 全部转移至 Buffer P1 中，于 2-8 $^{\circ}$ C 保存，有效期为 6 个月。
- 按瓶子标签所示，加入适量的无水乙醇至 Buffer PW2 瓶子中于室温保存。
- 灭菌的 15ml 离心管，用于收集洗脱 DNA
- LB 培养液和相应的培养管或培养瓶
- 大型高速离心机，离心力大于 10,000 \times g
- 15-50ml 耐高速的离心管

1. 将含质粒的菌种接种于含有 1 ml LB/抗生素培养基的 5-10ml 培养管中，37 $^{\circ}$ C 摇床培养 8 小时扩增菌液。

甘油保藏的菌种须在固体培养平板上划线挑取单菌落进行小量扩增，不要直接用甘油保藏菌种进行培养。培养瓶或培养管的体积必须大于或等于培养液体积的 4 倍。

2. 在◆200ml 培养瓶加入 30-50ml(高拷贝质粒) LB/抗生素培养液；或在■500ml 培养瓶中加入 50-100ml(低拷贝质粒)LB/抗生素培养液。接种 1/1000 初级菌液至培养瓶中。37 $^{\circ}$ C 摇床培养 12-16 小时；
3. 3,000-5,000 \times g 离心 10 分钟，收集◆30-50ml 或■50-100ml 菌液。

4. 倒弃培养基，并反扣于吸水纸上轻轻拍打吸尽残液。加入◆2.5ml 或■5ml Buffer P1/RNase A 混和液，涡漩重悬细菌。把重悬液转移至高速离心管中。

使用前，须确保 RNase A 已经加到 Buffer P1 中。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。

5. 加入◆ 2.5ml 或■ 5ml Buffer P2，轻轻颠倒离心管 10~12 次。室温静置 2 分钟，其间偶尔颠倒混匀几次。

轻轻颠倒混匀，不要涡漩，否则会引起基因组 DNA 断裂而污染。菌液用量较多时，裂解液会很

粘稠而难混匀。充分裂解后，溶液变得粘稠而透亮。如有必要，可一直缓慢颠倒混匀至裂解液变得粘稠而透亮，但这一步总操作时间不要超过 4 分钟。

6. **加入◆1.3 ml 或■2.5 ml 预冷的 Buffer LEN3，立即颠倒混匀 6~8 次。**
加入 Buffer LEN3 后，应立即颠倒混匀，以防止沉淀团聚而影响中和效果。混匀过程必须轻柔而充分。菌液用量较多时，中和也会较难进行，中和时需要稍用力颠倒数次至溶液彻底中和。
7. **取出过滤器(Clear Midi Syringe)活塞，把过滤器放到 50ml 离心管中(自备)。**
8. **把第 7 步的混合液全部倒入过滤器中，然后加入◆2.0ml 或■4.0ml Buffer GP 至样品中，静置 1-2 分钟让沉淀浮到表面。**
9. **把活塞插入过滤器。缓慢推动活塞使裂解液过滤到 15ml 离心管中，颠倒混匀几次。**
10. **将 HiPure DNA Midi Column III 套在 15ml 收集管中。转移 4ml 滤液至柱子中。3,000-5,000 × g 离心 3 分钟。**
11. **倒弃流出液，把柱子套回收集管中。继续转移滤液至柱子中。3,000-5,000 × g 离心 3 分钟。重复此步直至所有的滤液都转移至柱子中过滤。**
12. **倒弃流出液，把柱子套回收集管中。加入 1ml Buffer PW1 至柱子中，静置 2 分钟。3,000-5,000 × g 离心 3 分钟。**
13. **倒弃流出液，把柱子套回收集管中。加入 4ml Buffer PW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。3,000-5,000 × g 离心 3 分钟。**
在开始使用 Buffer PW2 之前，必须用无水乙醇稀释。稀释条件请按瓶子上的标签所示。
14. **倒弃滤液，把柱子套回收集管中。>4,000 × g 离心 10 分钟。**
15. **取出吸附柱，室温放置 10 分钟晾干吸附膜。**
16. **把柱子套在另一个灭菌的 15ml 离心管中(自备)。加入 0.3~0.5ml Elution Buffer 或灭菌水至柱子膜中央。静置 2 分钟，3,000-5,000 × g 离心 3 分钟。**
若需要更高产量，建议加入 0.5~0.75ml Elution Buffer 至柱子中。
17. **再把洗脱液转移至柱子膜中央，3,000-5,000 × g 离心 3 分钟。弃去柱子，把质粒保存于-20℃。**

2. HiPure Fasfilter Plasmid Midi Kit 负压抽滤方案(P1013)

该方案采用负压抽滤方法，适合于从 15-100ml 细菌培养液中提取 50-250 μ g 高纯度的质粒 DNA。该方案需要准备以下材料或工具：

- 真空泵
 - 真空抽滤盒(若没有真空抽滤盒，可按附表进行简易的真空抽滤方案)
1. 按离心方案 1 第 1~9 步进行操作。
 2. 连接好真空泵和真空抽滤盒，把 HiPure DNA Midi 柱插到真空抽滤盒的接口处。转移 4ml 滤液至柱子中。
 3. 打开真空泵进行抽滤，让溶液从柱子过滤，继续把把滤液转移柱子中进行抽滤，直至所有滤液都从柱子中过滤完毕。
 4. 当溶液过滤完毕后，加入 1ml Buffer PW1 至柱子中。
 5. 当溶液过滤完毕后，加入 4ml Buffer PW2 (已用无水乙醇稀释)至柱子中。
在开始使用 Buffer PW2 之前，必须用无水乙醇稀释。稀释条件请按瓶子上的标签。
 6. 当溶液过滤完毕后，加入 1ml 无水乙醇至柱子中。过滤完毕后，关闭真空泵。
 7. 取下柱子，把柱子套回 15ml 离心管中。3,000-5,000 \times g 离心 10 分钟。
 8. 取出吸附柱，室温放置 10~15 分钟晾干吸附膜。
 9. 把柱子套在另一个灭菌的 15ml 离心管中(自备)。加入 0.5ml Elution Buffer 或灭菌水至柱子膜中央。静置 2 分钟，3,000-5,000 \times g 离心 3 分钟。
 10. 再把洗脱液至柱子膜中央。静置 2 分钟，3,000-5,000 \times g 离心 3 分钟。
 11. 弃去柱子，把质粒保存于-20 $^{\circ}$ C。

3. HiPure Fastfilter Plasmid Maxi Kit 离心方案(P1014)

该方案采用离心方法，适合于从 100-200ml 细菌培养液中提取 0.4-1mg 高拷贝质粒 DNA。提取低拷贝质粒时，只需增加 Buffer P1、Buffer P2、Buffer NP3 的用量，即可处理 200-400ml 细菌培养液。试剂盒只提供高拷贝质粒的溶液用量，不够的试剂可单独订购。以下离心必须在室温下进行。

准备条件

- 加入~0.5ml Buffer P1 至 RNase A 干粉中，吸打 5~10 次让 RNase A 干粉充分溶解，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。
- 按瓶子标签所示，加入无水乙醇至 Buffer PW2 瓶子中于室温保存
- 灭菌的 50ml 离心管，用于收集洗脱 DNA
- LB 培养液和相应的培养管或培养瓶
- 桶状水平式离心机，离心力大于 3,000 × g
- 大型高速离心机，离心力大于 10,000 × g
- 50-100ml 耐高速的离心管

1. 将含质粒的菌种接种于含有 1ml LB/抗生素培养基的 5-10ml 培养管中，37℃ 摇床培养 8 小时扩增菌液。

注：甘油保藏的菌种须在固体培养平板上划线挑取单菌落进行小量扩增，不要直接采用甘油保藏菌种进行培养。培养瓶或培养管的体积必须大于或等于培养液体积的 4 倍。

2. 在◆1L 培养瓶中加入 100-200ml (高拷贝质粒) 含抗生素 LB 培养液；或在■2L 培养瓶中加入 200-400ml(低拷贝质粒)含抗生素 LB 培养液。接种 1/1000 初级菌液至培养瓶中，37℃ 摇床培养 12-16 小时。

3. 3,000-5,000 × g 离心 10 分钟，收集◆100-200ml 或■200-400ml 菌液。

4. 倒弃培养基，并反扣于吸水纸上轻轻拍打以吸尽残液。**加入◆10ml 或■20ml Buffer P1/RNase A 混和液，涡漩重悬细菌。**把重悬液转移至高速离心管中。

使用前，必须确保 RNase A 已经加到 Buffer P1 中。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。

5. **加入◆10 ml 或■20 ml Buffer P2，轻轻颠倒离心管 10~12 次。**室温静置 2 分钟，其间偶尔颠倒混匀几次。

轻轻颠倒混匀，不要涡旋，否则会引起基因组 DNA 断裂而污染。菌液用量较多时，裂解液会很粘稠而难混匀。如有必要，可一直缓慢颠倒混匀，但这一步总的操作时间不要超过 4 分钟。

6. 加入◆ 5 ml 或■ 10 ml 预冷的 Buffer LEN3，颠倒混匀 8~10 次。
7. 取出过滤器(Clear Midi Syringe)活塞，把过滤器放到 50ml 离心管中(自备)。
8. 把第 7 步的混合液全部倒入过滤器中，加入◆ 8 ml 或■ 16 ml Buffer GP 至样品中。静置 2-3 分钟让沉淀浮动表面。
9. 把活塞插入过滤器。缓慢推动活塞使裂解液过滤到 50ml 离心管，过滤完毕后颠倒混匀数次。
若滤液有浑浊的现象，于 4,000~5,000 × g 离心 10 分钟去除杂质。
10. 将 HiPure DNA Maxi Column 套在 50ml 收集管中。转移 20ml 滤液至柱子中。3,000-5,000 × g 离心 3 分钟。
11. 倒弃流出液，把柱子套回收集管中。把剩余的滤液转移至柱子中。3,000-5,000 × g 离心 3 分钟。重复此步直至所有的滤液都转移至柱子中离心过滤。
12. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 5 ml Buffer PVW1 至柱子中，静置 2 分钟。3,000-5,000 × g 离心 3 分钟。
13. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 10ml Buffer PVW2 (已用无水乙醇稀释)至柱子中。3,000-5,000 × g 离心 3 分钟。
14. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。>4,000 × g 离心 10 分钟。
HiPure Maxi Column 柱子底部采用封闭的抽滤设计，第 12~15 步的离心操作必须在水平/桶式离心机中进行操作，并将离心力调至最大。
15. 取出吸附柱，于 50~55°C 烘干 10 分钟。
16. 把柱子套在灭菌的 50ml 离心管中(自备)。加入 1.0ml Buffer TE 至柱子膜中央。静置 2 分钟。>4,000 × g 离心 3 分钟。
17. 再加入 0.5ml Buffer TE 至柱子膜中央，>4,000 × g 离心 3 分钟。
18. 弃去柱子，把质粒保存于-20°C。

4. HiPure Fastfilter Plasmid Maxi Kit 负压抽滤方案(P1014)

该方案采用负压抽滤方法，适合于快速地从 50-400ml 细菌培养液中提取 0.5-1 mg 高纯度的质粒 DNA。该方案需要准备以下材料或工具。

- 真空泵
 - 真空抽滤盒(若没有真空抽滤盒，可按附表进行简易的真空抽滤方案)
1. 按离心方案 3 的第 1-9 步进行操作。
 2. 连接好真空泵和真空抽滤盒，把 HiPure DNA Maxi 柱插到真空抽滤盒的接口处。(若没有真空抽滤盒，可按附表中的简易抽滤方法进行操作。)
 3. 转移 20ml 混合液至柱子中，打开真空泵进行抽滤，让溶液从柱子过滤，继续把把滤液转移柱子中进行抽滤，直至所有滤液都从柱子中过滤完毕。
 4. 当溶液过滤完毕后，加入 5ml Buffer PW1 至柱子中。
 5. 当溶液过滤完毕后，加入 15ml Buffer PW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。
在开始使用 Buffer PW2 之前，须用无水乙醇稀释。稀释条件请按瓶子上的标签所示。
 6. 当溶液过滤完毕后，加入 10ml 无水乙醇至柱子中。过滤完毕后，关闭真空泵。
 7. 取下柱子，把柱子套回 50ml 收集管中。>4,000 × g 离心 10 分钟。
HiPure Maxi Column 柱子底部采用封闭的抽滤设计，第 12~15 步的离心操作必须在水平/桶式离心机中进行操作，并将离心力调至最大。
 8. 取出吸附柱，于 50~55℃ 烘干 10 分钟。
 9. 把柱子套在灭菌的 50ml 离心管中(自备)。加入 1.0ml Buffer TE 至柱子膜中央。静置 2 分钟。>4,000 × g 离心 3 分钟。
 10. 再加入 0.5ml Buffer TE 至柱子膜中央，>4,000 × g 离心 3 分钟。
 11. 弃去柱子，把质粒保存于-20℃。

5. 质粒的浓缩

HiPure Plasmid Kits 纯化质粒的浓度一般为 100-600ng/ μ l。若需要高浓度的质粒 DNA，可按以下方案进行浓缩。

1. 取适量的质粒 DNA 至 2ml 离心管中。
2. 加入 0.1 倍体积 Buffer LEN3 和 0.9 倍体积的异丙醇，涡旋混匀；
举例：1ml 质粒溶液，加入 100 μ l Buffer LEN3 和 900 μ l 异丙醇。
3. 13,000 \times g 离心 10 分钟。小心倒弃滤液。
4. 加入 1ml 70%乙醇，涡旋混匀。
5. 13,000 \times g 离心 3 分钟。小心倒弃滤液。
6. 13,000 \times g 离心 1 分钟；
7. 用 10 μ l 或 200 μ l 的移液枪小心吸弃所有的残液。不要让移液枪的枪头碰到沉淀。
8. 空气干燥 10 分钟。
9. 加入适量 Elution Buffer 或灭菌水充分溶解质粒 DNA。
10. 把质粒 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

6 简单的负压抽滤操作

若没有相应的抽滤盒，可按下述方案进行简易的负压抽滤操作。

1. 用导管连接好三角抽滤瓶和真空泵。
2. 用合适的橡皮塞塞住三角抽滤瓶的瓶口。
3. 在橡皮塞上插入针头，使之穿过橡皮塞。
4. 打开真空泵，检查密封效果和针头处是否有真空。若密封效果好，而针头接口处没有真空，可能是因插入针头时，针头尖端被橡皮碎片堵住了。取出橡皮塞，小心不要被针头扎伤。去除针头尖端处的橡皮碎片。把橡皮塞塞回瓶口。
5. 把 HiPure DNA Columns 底部突出部位插到针头接口处。
6. 按负压抽滤方案进行操作。

常见问题回答

该列表可能有利于解决提取过程所碰到的问题。此外，Magen 的技术人员也可以随时为您提供服务，若您对试剂盒存在问题或建议，或您在分子生物学碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽所能为您排忧解难。

现象及原因	解决方法
产量低或无产量	
质粒拷贝数低；	提高菌液用量，按低拷贝数方案进行操作。
真菌污染；	培养液受到真菌污染。因真菌不受一般抗生素的影响，因培养液受到真菌污染，会出现碱裂解时溶液不清亮，产量明显下降等现象。重新培养。
培养条件有问题	检查培养条件，抗生素用量等。
菌种老化	进行中大量提取时，若菌种是在甘油中保存时，建议先划线活化菌种，挑单菌落接种至 1ml 培养液中培养 8 小时后再扩大培养。
Buffer P2 有沉淀或失效	Buffer P2 中的 SDS 在低温时可能会有沉淀析出，使用前需水浴使用溶解；Buffer P2 可能会被空气中 CO ₂ 中和而失效。可重新配制。(0.2 M NaOH, 1% SDS)
细菌没有彻底重悬	细菌沉淀团必须在 Buffer P1/RNase A 混合液中充分重悬，成团的细菌因无法裂解会降低产量。
Buffer PW2 没有用乙醇稀释	Buffer PW2 在使用前须用无水乙醇进行稀释。收到试剂盒后，应尽快把乙醇加到 Buffer PW2 中，以防止微生物的污染。
洗脱时有问题或洗脱体积太少	洗脱核酸最好使用 Elution Buffer (10mM Tris, pH8.5)，灭菌水因 pH 较低，显酸性，而导致洗脱效率下降。洗脱液必须加到柱子的膜的中央；增加洗脱次数或洗脱液的体积。
裂解不充分	处理较多菌体时，加入 Buffer P2 裂解时释放的基因组 DNA 让溶液变得非常粘稠而难于混匀。增加颠倒混匀的次数，并室温静置 2-3 分钟，其间偶尔颠倒混匀让细菌充分裂解。
中和不充分	处理较多菌体时，裂解液非常粘稠，加入 Buffer P3 需要更多的颠倒混匀次数，以到达充分中和效果。理想的中和效果：白色沉淀物比较分散，溶液均匀，沉淀内部不存在黄色粘稠液体。

角度离心机 HiPure Maxi DNA Column 因内径比较大，须用水平/桶状离心机。使用固定角度离心机大大柱子的结合效率。

基因组 DNA 污染

Buffer P2 裂解出现问题 加入 Buffer P2 时，必须轻柔颠倒混匀；处理多个样品时，加入 Buffer P2 时算起，总时间不要超过 4 分钟。

Buffer NP3 中和时出现问题 加入 Buffer NP3 后，应立即轻轻颠倒混匀，一般需要 6~10 次。若处理菌液较多时，需要 10~20 次才能让溶液充分中和。

细菌培养时间过长 培养太长时间的菌液中含有死去的细菌和降解的 DNA。菌液的培养时间不要超过 16 小时。

RNA 污染

Buffer P1 不含有 RNase A 使用前，没有把 RNase A 加到 Buffer P1 中。

Buffer P1/RNase A 混合液过期 Buffer P1/RNase A 混合液可于 4 度保存 6 个月。超过 6 个月后，可能需要再加入 RNase A。

细菌密度太高 减少菌液的使用量

下游实验结果不理想

盐分污染 加入 Buffer PW2 后，静置 5 分钟后，再离心，然后再加入 80% 乙醇洗涤柱子。

核酸酶污染 使用 endA+ 的菌株如 HB101 或其它野生型菌株，可能含有高丰度的核酸酶，最好使用 HiPure Bacterial Plasmid Mini Kit。

乙醇污染 确保离心干燥时，离心速度必须达到要求。

膜材料脱落 硅胶膜在离心过程中可能会发生脱落。脱落到质粒中硅胶膜是不溶解的。通过 10,000xg 离心 2 分钟，然后再把质粒转移至新的离心管中。

若以上的解答还是无法解决您的问题，请您联系我们。