

目 录

| | |
|--|----|
| 简介..... | 2 |
| 保质期..... | 2 |
| 组 成..... | 3 |
| 1. HiPure Plasmid Plus Micro Kit 离心方案..... | 5 |
| 2. HiPure Plasmid Plus Mini Kit 离心方案..... | 7 |
| 3. HiPure Plasmid Plus Midi Kit 离心方案..... | 9 |
| 4. HiPure Plasmid Plus Maxi Kit 离心方案..... | 11 |
| 质粒的浓缩..... | 13 |
| 简易的负压抽滤装置..... | 14 |
| 常见问题回答..... | 15 |

版本: 2019-04

简介

HiPure Plasmid Plus Kits 适合于从各种野生型菌株，革兰氏阳性/阴性菌株中抽提高纯度的质粒 DNA。该方法结合特殊的碱性蛋白酶，可高效水解去除核酸酶，因而得到的质粒纯度更高，质粒更加稳定。该试剂盒也适合于从富含核酸酶的菌株中抽提质粒，如 HB101 或其它野生型菌株。试剂盒采用硅胶柱纯化技术，可在 50 分钟完成抽提工作，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，标记和存档等。

| | Plasmid Plus Micro Kit | Plasmid Plus Mini Kit | Plasmid Plus Midi Kit | Plasmid Plus Maxi Kit |
|--------|---------------------------|--------------------------|---------------------------------------|--------------------------|
| 编号 | P1121 | P1124 | P1122 | P1123 |
| 菌液用量 | 1-7 ml | 5-15ml | 15-50ml | 50-200ml |
| 柱子结合能力 | 30 µg | 70µg | 150 µg | 500 µg |
| 使用的离心机 | 小型离心机 | 小型离心机 | 桶状水平离心机(50ml) 离心力, 3,000-4,000 × g | |
| 洗脱体积 | 30-100µl | 60-100µl | 300-500µl | 0.5-1.0 ml |

保存条件与保质期

HiPure 质粒提取系列试剂盒可在室温下（15-25℃）干燥保存 18 个月。RNase A 和 Magen Protease 干粉采用室温运输和保存，长期保存(>3 个月)放置于-20~8℃。收到产品后把 RNase A 和 Magen Protease 放置 2-8℃或-20℃保存。低温下，Buffer P2 Plus 和 Buffer P3 可能会有沉淀形成。使用前 37℃水浴使沉淀完全溶解。当 RNase A 加入 Buffer P1 后，可在 2-8℃保存 6 个月。

组 成

HiPure Plasmid Plus Micro Kit

| Cat.No. | P1121-01 | P1121-02 | P1121-03 |
|---------------------------|----------|----------|-----------|
| 包装次数 | 10 次 | 50 次 | 250 次 |
| RNase A | 1 mg | 5 mg | 10 mg |
| Buffer P1 Plus | 6 ml | 20 ml | 80 ml |
| Buffer P2 Plus | 6 ml | 20 ml | 80 ml |
| Buffer P3 | 9 ml | 30 ml | 100 ml |
| Buffer PW1 | 6 ml | 30 ml | 140 ml |
| Buffer PW2* | 3 ml | 20 ml | 2 x 50 ml |
| Buffer TE | 1.8 ml | 1.5 ml | 60 ml |
| Magen Protease | 0.2 ml | 0.6 ml | 3 ml |
| HiPure DNA Mini Column II | 10 | 50 | 250 |
| 2 ml Collection Tube | 10 | 50 | 250 |

HiPure Plasmid Plus Mini Kit

| Cat.No. | P1124-01 | P1124-02 | P1124-03 |
|----------------------------|----------|----------|-----------|
| 包装次数 | 10 次 | 50 次 | 250 次 |
| RNase A | 1 mg | 5 mg | 10 mg |
| Buffer P1 Plus | 6 ml | 30 ml | 140 ml |
| Buffer P2 Plus | 6 ml | 30 ml | 140 ml |
| Buffer P3 | 9 ml | 40 ml | 200 ml |
| Buffer PW1 | 6 ml | 30 ml | 140 ml |
| Buffer PW2* | 6 ml | 20 ml | 2 x 50 ml |
| Buffer TE | 1.8 ml | 1.5 ml | 60 ml |
| Magen Protease | 0.3 ml | 1.4 ml | 6 ml |
| HiPure DNA Mini Column III | 10 | 50 | 250 |
| 2 ml Collection Tube | 10 | 50 | 250 |

组 成

HiPure Plasmid Plus Midi Kit

| Cat.No. | P1122-01 | P1122-02 | P1122-03 |
|--------------------------|----------|----------|----------|
| 包装次数 | 2 次 | 10 次 | 50 次 |
| RNase A | 1 mg | 5 mg | 20 mg |
| Buffer P1 Plus | 6 ml | 30 ml | 140 ml |
| Buffer P2 Plus | 6 ml | 30 ml | 140 ml |
| Buffer P3 | 9 ml | 40 ml | 200 ml |
| Buffer PW1 | 6 ml | 30 ml | 140 ml |
| Buffer PW2 | 6 ml | 20 ml | 100 ml |
| Buffer TE | 1.8 ml | 60 ml | 120 ml |
| Magen Protease | 0.2 ml | 0.6 ml | 3 ml |
| HiPure DNA Midi Column I | 2 | 10 | 50 |
| 15 ml Collection Tube | 2 | 10 | 50 |

HiPure Plasmid Plus Maxi Kit

| Cat.No. | P1123-01 | P1123-02 | P1123-03 |
|---------------------------|----------|----------|------------|
| 包装次数 | 2 次 | 10 次 | 50 次 |
| RNase A | 1 mg | 5 mg | 20 mg |
| Buffer P1 Plus | 30 ml | 120 ml | 550 ml |
| Buffer P2 Plus | 30 ml | 120 ml | 550 ml |
| Buffer P3 | 40 ml | 170 ml | 2 x 400 ml |
| Buffer PW1 | 30 ml | 120 ml | 550 ml |
| Buffer PW2* | 20 ml | 50 ml | 3 x 100 ml |
| Buffer TE | 15 ml | 60 ml | 120 ml |
| Magen Protease | 0.3 ml | 1.4 ml | 6 ml |
| HiPure DNA Maxi Column II | 2 | 10 | 50 |
| 50ml Collection Tube | 2 | 10 | 50 |

1. HiPure Plasmid Plus Micro Kit 质粒提取方案(P1121)

该方案采用硅胶柱纯化方案，适合于从 1-7ml 细菌培养液中提取高纯度的质粒 DNA。

准备工作

- 加入 0.2~0.5ml Buffer P1 至 RNase A 干粉中，吸打混匀 5~10 次让 RNase A 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。
- 灭菌的离心管，用于收集洗脱 DNA
- LB 培养液和相应的培养管或培养瓶
- 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 至 Magen Protease 中，至终浓度为 20mg/ml。轻轻颠倒混匀使之溶解，分装保存于-20℃。
- 在 Buffer PV2 中，按瓶子标签所示加入无水乙醇，并于室温保存。

操作流程

1. 将含质粒的菌种接种于含有 1~7ml LB/抗生素培养液的 10-30ml 培养管中。37℃ 摇床培养 12~16 小时扩增质粒。
处理高拷贝数的质粒时，只需培养 1-4ml 菌液即可。处理野生型菌株或低拷贝数的质粒时，建议培养 5-7ml 菌液。
2. 10,000 × g 离心 1 分钟，收集 1-7ml 菌体。
3. 倒弃培养液，把离心管反扣于吸水纸吸尽残液。**加入 300µl Buffer P1 Plus**，涡旋充分重悬细菌。
注：使用前，须确保 RNase A 已加到 Buffer P1 Plus 中。彻底重悬细菌对获得高产量是相当重要的。若需要从革兰氏阳性细菌提取质粒，加入溶菌酶到 Buffer P1 Plus 中，溶菌酶终浓度为 10mg/ml。涡旋重悬细菌。室温放置 15-30 分钟消化细菌细胞壁。
4. **往重悬液中加入 300µl Buffer P2 Plus**，轻轻颠倒离心管 2-3 次。
5. **加入 10µl Magen Protease 至裂解液中，颠倒混匀 5-10 次**。室温静置 10 分钟，其间偶尔颠倒混匀几次。
6. **加入 420µl Buffer P3**，立即颠倒 10~15 次让溶液彻底中和。

7. 13,000 × g 离心 10 分钟。
8. 将 HiPure DNA Mini Column II 在收集管中。转移上清液转至柱子中。8,000 × g 离心 30-60 秒。
9. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 500µl Buffer PW1 至柱子中。静置 5 分钟。8,000 × g 离心 30-60 秒。
10. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 650 µl Buffer PW2 (已用无水乙醇稀释)至柱子中。8,000 × g 离心 30-60 秒。
使用前 Buffer PW2 必须用无水乙醇稀释。稀释条件请按瓶子上的标签指示。若低温保存，请平衡至室温后使用。
11. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 650 µl Buffer PW2 (已用无水乙醇稀释)至柱子中。8,000 × g 离心 30-60 秒。
12. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。13,000 × g 离心 1 分钟干燥柱子去除乙醇。
注：不要忽略此步。这一步可去除残留在柱子的乙醇。
13. 把柱子套在灭菌的 1.5ml 离心管中。加入 30-50µl Buffer TE 或灭菌水至柱子的膜中央。静置 1 分钟，13,000 × g 离心 1 分钟洗脱 DNA。
注：柱子最低的洗脱体积为 30µl。低于 30µl 会导致洗脱效率急剧下降。30µl 可洗脱 65-75%的质粒 DNA。50µl 可洗脱出 80-85%的质粒 DNA。若需要获得最高产量，可重复第 13 步进行第二次洗脱。
14. 弃去柱子，把质粒保存于-20℃。

2. HiPure Plasmid Plus Mini Kit 质粒提取方案(P1124)

该方案采用硅胶柱纯化方案，适合于从 5-15ml 细菌培养液中提取高纯度的质粒 DNA。

准备工作

- 加入 0.2~0.5ml Buffer P1 至 RNase A 干粉中，吸打混匀 5~10 次让 RNase A 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。
- 灭菌的离心管，用于收集洗脱 DNA。
- LB 培养液和相应的培养瓶。
- 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 至 Magen Protease 中，至终浓度为 20mg/ml。轻轻颠倒混匀使之溶解，分装保存于-20℃。
- 在 Buffer PV2 中，按瓶子标签所示加入无水乙醇，并于室温保存。

1. 将含质粒的菌种接种于含有 5~15ml LB/抗生素培养液的 30-50ml 培养瓶中。37℃ 摇床培养 12~16 小时扩增质粒。

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。处理高拷贝数的质粒时，只需培养 1-3ml 菌液即可。处理野生型菌株或低拷贝数的质粒时，建议培养 5-7ml 菌液。

2. 5,000 × g 离心 5 分钟，收集 5-15ml 菌体。
3. 倒弃培养液，把离心管反扣于吸水纸吸尽残液。**加入 500μl Buffer P1 Plus**，涡旋充分重悬细菌。

注：使用前，须确保 RNase A 已加到 Buffer P1 Plus 中。彻底重悬细菌对获得高产量是相当重要的。若需要从革兰氏阳性细菌提取质粒，加入溶菌酶到 Buffer P1 Plus 中，溶菌酶终浓度为 10mg/ml。涡旋重悬细菌。室温放置 15-30 分钟消化细菌细胞壁。

4. **往重悬液中加入 500μl Buffer P2 Plus**，轻轻颠倒离心管 3~5 次。
5. **往裂解液中加入 20μl Magen Protease**，轻轻颠倒离心管 5-10 次。室温静置 10 分钟，其间偶尔颠倒混匀几次。
6. **加入 700μl Buffer P3**，立即颠倒 10~15 次让溶液彻底中和。把中和液转移至 2ml 离心管中。

7. 13,000 × g 离心 15 分钟。
8. 将 HiPure DNA Mini Column III 在收集管中。转移一半体积的上清液转至柱子中。
8,000 × g 离心 30-60 秒。
9. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。转移剩余的上清液至柱子中。8,000 × g 离心
30-60 秒。
10. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 500µl Buffer PW1 至柱子中。静置 3 分
钟。8,000 × g 离心 30-60 秒；
11. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 650µl Buffer PW2 (已用无水乙醇稀释)至
柱子中。8,000 × g 离心 30-60 秒；
使用前 Buffer PW2 必须用无水乙醇稀释。稀释条件请按瓶子上的标签指示。
12. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 650µl Buffer PW2 (已用无水乙醇稀释)至
柱子中。8,000 × g 离心 30-60 秒；
13. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。13,000 × g 离心 2 分钟干燥柱子去除乙醇。
注：不要忽略此步。这一步可去除残留在柱子的乙醇。
14. 把柱子套在灭菌的 1.5ml 离心管中。加入 60-100µl Buffer TE 或灭菌水至柱子的膜
中央。静置 1 分钟，13,000 × g 离心 1 分钟洗脱 DNA。
注：柱子最低的洗脱体积为 60µl。低于 60µl 会导致洗脱效率急剧下降。60µl 可洗脱 65-75%的质
粒 DNA。100µl 可洗脱出 80-85%的质粒 DNA。若需要获得最高产量，可重复第 14 步进行第二
次洗脱。
15. 弃去柱子，把质粒保存于-20℃。

3. HiPure Plasmid Plus Midi Kit 提取方案(P1122)

该方案采用硅胶柱纯化方案,适合于从 15-50ml 细菌培养液中提取高纯度的质粒 DNA。

准备工作

- 加入 0.2~0.5ml Buffer P1 至 RNase A 干粉中,吸打混匀 5~10 次让 RNase A 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。
- 灭菌的离心管,用于收集洗脱 DNA。
- LB 培养液和相应的培养管或培养瓶。
- 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 至 Magen Protease 中,至终浓度为 20mg/ml。轻轻颠倒混匀使之溶解,分装保存于-20℃。
- 在 Buffer PV2 中,按瓶子标签所示加入无水乙醇,并于室温保存。

1. 将带有目的质粒的 E.coli 接种于含有 1 ml LB/抗生素培养基的 5-10ml 培养管中,37℃ 摇床培养 8 小时以小量扩增菌液。

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。处理高拷贝数的质粒时,只需培养 15-30ml 菌液即可。处理野生型菌株或低拷贝数的质粒时,建议培养 30-50ml 菌液。

2. 在 200ml 培养瓶加入 15-50ml LB/抗生素培养液。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 15-50ml 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 Buffer P1 Plus**,涡旋充分重悬细菌。

注:使用前,须确保 RNase A 已加到 Buffer P1 Plus 中。彻底重悬细菌对获得高产量是相当重要的。若需要从革兰氏阳性细菌提取质粒,加入溶菌酶到 Buffer P1 Plus 中,溶菌酶终浓度为 10mg/ml。涡旋重悬细菌。37℃ 水浴 15-30 分钟消化细菌细胞壁。

5. **加入 2.5ml Buffer P2 Plus**,轻轻颠倒离心管 3-5 次。

6. **往裂解液中加入 50μl Magen Protease**,轻轻颠倒离心管 5-10 次。室温静置 10 分钟,其间偶尔颠倒混匀几次。

7. **加入 3.5 ml Buffer P3，立即颠倒混匀 15-20 次。**
8. 12,000 × g 离心 15 分钟。
9. 将 HiPure DNA Midi Column I 套在 15ml 收集管中。转移一半体积的上清液至柱子中。2,000 × g 离心 3 分钟。
10. 倒弃流出液，把柱子套回收集管中。转移剩余的上清液至柱子中。2,000 × g 离心 3 分钟。
11. 倒弃流出液，把柱子套回收集管中。**加入 2ml Buffer PW1 至柱子中。**室温静置 5 分钟。4,000 × g 离心 3 分钟。
12. 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。**4,000 × 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或说明书。如果低温保存，请平衡至室温后使用。
13. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。4,000 × g 离心 10 分钟。
低速离心或缩短离心时间都有可能致乙醇的残留。
14. 把柱子套在另一个灭菌的 15ml 离心管中(自备)。**加入 0.25-0.5ml Buffer TE 或灭菌水至柱子膜中央。**静置 1 分钟，4,000 × g 离心 3 分钟。
15. 弃去柱子，把质粒保存于-20℃。

4. HiPure Plasmid Plus Maxi Kit 提取方案(P1123)

该方案采用离心方法，适合于从 50-200ml 细菌培养液中提取 0.2-0.5mg 高纯度的质粒 DNA。

准备工作

- 加入 0.2~0.5ml Buffer P1 至 RNase A 干粉中，吸打混匀 5~10 次让 RNase A 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。
 - 灭菌的离心管，用于收集洗脱 DNA。
 - LB 培养液和相应的培养管或培养瓶。
 - 加入适量的 Protease Dissolve Buffer 至 Magen Protease 中，至终浓度为 20mg/ml。轻轻颠倒混匀使之溶解，分装保存于-20℃。
 - 在 Buffer PV2 中，按瓶子标签所示加入无水乙醇，并于室温保存。
1. 将含质粒的菌种接种于含有 1 ml LB/抗生素培养基的 10ml 培养管中。37℃ 摇床培养 8 小时。

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。处理高拷贝数的质粒时，只需培养 50-100ml 菌液即可。处理野生型菌株或低拷贝数的质粒时，建议培养 100-200ml 菌液。
 2. 在 1L 培养瓶中加入 50-200ml 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. 3,000-4,000 × g 离心 10 分钟，收集 50-200ml 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 Buffer P1 Plus**，涡旋重悬细菌。

注：使用前，须确保 RNase A 已加到 Buffer P1 Plus 中。彻底重悬细菌对获得高产量是相当重要的。若需要从革兰氏阳性细菌提取质粒，加入溶菌酶到 Buffer P1 Plus 中，溶菌酶终浓度为 1-10mg/ml。涡旋重悬细菌。37℃ 水浴 15-30 分钟消化细菌细胞壁。
 5. **加入 10 ml Buffer P2 Plus**，轻轻颠倒离心管 3~5 次。
 6. **往裂解液中加入 100µl Magen Protease**，轻轻颠倒离心管 5-10 次。室温静置 10

分钟，其间偶尔颠倒混匀几次。

7. **加入 14 ml Buffer P3，轻轻颠倒混匀 10-15 次。**
8. 12,000 × g 离心 15 分钟。
9. 将 HiPure DNA Maxi Column II 套在 50 ml 收集管中。转移一半体积的上清液至柱子中。2,000 × g 离心 3 分钟。
注：由于 HiPure DNA Maxi Column II 柱子的内径较大，须在桶状水平式离心机进行。不要使用固定角度离心机。固定角度离心机离心时会引起膜变形而导致产量的下降。若无桶状水平式离心机，建议采用负压抽滤方案
10. 倒弃流出液，把柱子套回收集管中。把剩余的上清液转移至柱子中。2,000 × g 离心 3 分钟。
11. 倒弃流出液，把柱子套回收集管中。加入 10ml Buffer PW1 至柱子中。室温静置 5 分钟。4,000 × g 离心 3 分钟。
12. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中，加入 10ml Buffer PW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。4,000 × g 离心 3 分钟。
注：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。
13. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中，加入 10ml Buffer PW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。4,000 × g 离心 3 分钟。
14. 倒弃滤液，把柱子套回 50ml 收集管中。4,000 × g 离心 15 分钟。
不要改变此步离心时间。这一步的离心速度最好能达至 4,500 × g。
15. 把柱子套在灭菌的 50ml 离心管中(自备)。加入 **> 1ml Buffer TE 或灭菌水至柱子膜中央**。静置 1 分钟。≥4,000 × g 离心 3 分钟。
16. 丢去柱子，把质粒保存于 -20℃。

5. 质粒的浓缩

HiPure Plasmid Plus Midi Kit 和 HiPure Plasmid Plus Maxi Kit 含有较厚的硅胶膜，需较大的洗脱体积才能高效地洗脱出质粒 DNA。HiPure Plasmid Plus 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。我们推荐使用 BigBind Plasmid Concentrate Kit 进行浓缩，该试剂盒可在 30 分钟内完成质粒的浓缩工作，质粒浓度可达 5 μ g/ μ l。

1. 取 1ml 质粒 DNA 至 2ml 离心管中。加入 0.1ml 3M NaAc, pH5.5 和 0.8ml 异丙醇，涡旋混匀。
2. 室温下，12,000 \times g 离心 10 分钟沉淀 DNA；小心倒弃上清液。
3. 加入 1ml 70%乙醇，涡旋混匀；室温下，12,000 \times g 离心 3 分钟。
4. 倒弃上清液，反扣于吸水纸上放置 10 分钟。
5. 加入适量 Elution Buffer 或灭菌水溶解质粒 DNA。

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 Column 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，加大碱裂解溶液用量。 |
| 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，建议先划板活化菌种，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 Plus 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。 |
| 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 Plus 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降低柱子的结合效率。

基因组 DNA 污染

Buffer P2 Plus 裂解 加入 Buffer P2 Plus 时，必须轻柔颠倒混匀。
出现问题

Buffer P3 中和时出 加入 Buffer P3 后，应立即轻轻颠倒混匀，一般需要 6~10 次。
现问题 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 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
长 培养时间不要超过 16 小时。

RNA 污染

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

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

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。

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 10,000×g 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。

订购信息

| 产品 | 菌液用量 | 结合力 | 编号 | 规格 | 价格 |
|----------------------------------|----------|-------------|----------|---------|-------|
| 常规质粒提抽系列 | | | | | |
| HiPure Plasmid Micro Kit | 1-5ml | 30 μ g | P1001-01 | 50 | 178 |
| | | | P1001-02 | 100 | 278 |
| | | | P1001-03 | 250 | 655 |
| HiPure Plasmid Midi Kit | 15-50ml | 200 μ g | P1003-02 | 10 | 455 |
| | | | P1003-03 | 50 | 1985 |
| HiPure Plasmid Maxi Kit | 50-200ml | 1mg | P1004-02 | 10 | 785 |
| | | | P1004-03 | 50 | 3690 |
| HiPure Plasmid 96 Kit II | 1.3 ml | 异丙醇沉淀 | P1005-02 | 4 x 96 | 950 |
| | | | P1005-03 | 20 x 96 | 4585 |
| HiPure Filter Plasmid 96 Kit | 1.3 ml | 20 μ g | P1006-02 | 4 x 96 | 1345 |
| | | | P1006-03 | 20 x 96 | 6515 |
| HiPure Plasmid 96 Kit I | 1-5 ml | 20 μ g | P1007-02 | 4 x 96 | 950 |
| | | | P1007-03 | 20 x 96 | 4585 |
| 无内毒素质粒提抽系列 | | | | | |
| HiPure Plasmid EF Micro Kit | 1-10ml | 100 μ g | P1111-02 | 50 | 450 |
| | | | P1111-03 | 250 | 2098 |
| HiPure Plasmid EF Maxi Kit | 50-200ml | 2.5mg | P1114-02 | 10 | 885 |
| | | | P1114-03 | 50 | 3985 |
| HiPure Plasmid EF 96 Kit | 1.3 ml | 20 μ g | P1115-02 | 4 x 96 | 1638 |
| | | | P1115-03 | 20 x 96 | 7885 |
| 低拷贝数质粒提抽系列 | | | | | |
| HiPure Low Copy Plasmid Mini Kit | 1-20ml | 20 μ g | P1124-02 | 50 | 485 |
| | | | P1124-03 | 250 | 1985 |
| HiPure Low Copy Plasmid Maxi Kit | 50-500ml | 0.5mg | P1125-02 | 10 | 995 |
| | | | P1125-03 | 50 | 4785 |
| HiPure Low Copy Plasmid Mega Kit | 2L | 5mg | P1126-02 | 10 | 2758 |
| | | | P1126-03 | 50 | 12890 |

| 产品 | 菌液用量 | 结合力 | 编号 | 规格 | 价格 |
|--------------------------------|-----------|-------------|----------|-----|-----------|
| 酵母质粒提取系列 | | | | | |
| HiPure Yeast Plasmid Mini Kit | 1-3ml | 10 μ g | P1131-02 | 50 | 458 |
| | | | P1131-03 | 250 | 1985 |
| HiPure Yeast Plasmid Midi kit | 10-30ml | 50 μ g | P1132-02 | 10 | 732 |
| | | | P1132-03 | 50 | 3342 |
| 大型质粒提取系列 | | | | | |
| HiPure BAC Mini Kit | 1-10ml | 10 μ g | P1151-02 | 50 | 395 |
| | | | P1151-03 | 250 | 1685 |
| HiPure BAC Maxi Kit | 100-400ml | 200 μ g | P1152-02 | 10 | 1085 |
| | | | P1152-03 | 50 | 5238 |
| HiPure Plasmid/BAC EF Mico Kit | 1-5 ml | 40 μ g | P1153-02 | 50 | 420 |
| | | | P1153-03 | 250 | 2085 |
| HiPure Plasmid/BAC EF Maxi Kit | 50-500ml | 1mg | P1156-02 | 10 | 885 |
| | | | P1156-03 | 50 | 4255 |
| 噬菌体 DNA 提取系列 | | | | | |
| HiPure Lambda DNA Mini Kit | 1-3ml | 30 μ g | P1161-02 | 50 | 856 |
| | | | P1161-03 | 250 | 4056 |
| HiPure M13 DNA Mini Kit | 1-3ml | 30 μ g | P1171-02 | 50 | 455 |
| | | | P1171-03 | 250 | 1985 |
| 改良硅胶柱常规质粒 DNA 提取系列 | | | | | |
| MaxPure Plasmid Micro Kit | 10ml | 100 μ g | P1210-02 | 50 | 385 |
| | | | P1210-03 | 250 | 1675 |
| MaxPure Plasmid Maxi Kit | 500ml | 5mg | P1213-02 | 10 | 2388 |
| | | | P1213-03 | 50 | 9985 |
| MaxPure Plasmid Mega Kit | 1L | 10mg | P1214-02 | 10 | 3485 |
| | | | P1214-03 | 50 | 1468 8 |
| MaxPure Plasmid Giga Kit | 5L | 50 μ g | P1215-02 | 10 | 7285 |
| | | | P1215-03 | 50 | 3185 0 |

| | | | | | |
|--------------------------------|-------------|-------------|-----------|-----------|-----------|
| MaxPure Plasmid Plus 96 Kit | 5ml | 30 μ g | P1216-02 | 4 x 96 | 1585 |
| | | | P1216-03 | 20 x 96 | 6885 |
| 产品 | 菌液用量 | 结合力 | 编号 | 规格 | 价格 |
| 改良硅胶柱超低内毒素质粒 DNA 提取系列 | | | | | |
| MaxPure Plasmid EF Micro Kit | 10ml | 100 μ g | P1220-02 | 50 | 545 |
| | | | P1220-03 | 250 | 2485 |
| MaxPure Plasmid EF Maxi Kit | 500ml | 5mg | P1223-02 | 10 | 2688 |
| | | | P1223-03 | 50 | 1088 |
| | | | | 5 | |
| MaxPure Plasmid EF Mega Kit | 1L | 10mg | P1224-02 | 10 | 3985 |
| | | | P1224-03 | 50 | 1688 |
| | | | | 5 | |
| MaxPure Plasmid EF Giga Kit | 5L | 50mg | P1225-02 | 10 | 7895 |
| | | | P1225-03 | 50 | 3385 |
| | | | | 0 | |
| MaxPure Plasmid EF Plus 96 Kit | 5ml | 30 μ g | P1226-02 | 4 x 96 | 1985 |
| | | | P1226-03 | 20 x 96 | 8580 |