

## 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

版本号: 2021-05

## 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 Proteinase K Solution 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 放置-20℃，Proteinase K Solution 放置 2-8℃。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	15 ml	60 ml
Proteinase K Solution	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	15 ml	60 ml
Proteinase K Solution	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
Proteinase K Solution	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
Proteinase K Solution	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
- 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 Proteinase K Solution 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 500 $\mu$ l Buffer PW1 至柱子中。静置 5 分钟。8,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
10. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 650  $\mu$ l Buffer PW2 (已用无水乙醇稀释)至柱子中。8,000  $\times$  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  $\mu$ l Buffer PW2 (已用无水乙醇稀释)至柱子中。8,000  $\times$  g 离心 30-60 秒。
12. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。13,000  $\times$  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 30-50 $\mu$ l Buffer TE 或灭菌水至柱子的膜中央。静置 1 分钟，13,000  $\times$  g 离心 1 分钟洗脱 DNA。  
注：柱子最低的洗脱体积为 30 $\mu$ l。低于 30 $\mu$ l 会导致洗脱效率急剧下降。30 $\mu$ l 可洗脱 65-75%的质粒 DNA。50 $\mu$ l 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 $^{\circ}$ C。

## 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。
- 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 Proteinase K Solution**，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。
- 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率是相当重要的。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 Proteinase K Solution, 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.  $12,000 \times g$  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。 $2,000 \times g$  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。 $2,000 \times g$  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。 $4,000 \times g$  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。** $4,000 \times g$  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。 $4,000 \times g$  离心 10 分钟。  
低速离心或缩短离心时间都有可能导出乙醇的残留。
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， $4,000 \times g$  离心 3 分钟。
15. 弃去柱子，把质粒保存于 $-20^{\circ}\text{C}$ 。

## 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。
- 在 Buffer PW2 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 Proteinase K Solution**，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.  $12,000 \times g$  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。 $2,000 \times g$  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。 $2,000 \times g$  离心 3 分钟。
11. 倒弃流出液，把柱子套回收集管中。加入 10ml Buffer PVW1 至柱子中。室温静置 5 分钟。 $4,000 \times g$  离心 3 分钟。
12. 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。 $4,000 \times g$  离心 3 分钟。  
注：使用 Buffer PVW2 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 PVW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。 $4,000 \times g$  离心 3 分钟。
14. 倒弃滤液，把柱子套回 50ml 收集管中。 $4,000 \times g$  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  $4,500 \times g$ 。
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。 $\geq 4,000 \times g$  离心 3 分钟。
16. 丢去柱子，把质粒保存于  $-20^{\circ}\text{C}$ 。

## 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/ $\mu$ 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 $\mu$ g/ $\mu$ 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
<b>产量低或无产量</b>	
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 <sub>2</sub> 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 10,000xg 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。

## 订购信息

产品	菌液用量	结合力	编号	规格	价格
<b>常规质粒提取系列</b>					
HiPure Plasmid Micro Kit	1-5ml	30 $\mu$ g	P1001-01	50	178
			P1001-02	100	278
			P1001-03	250	655
HiPure Plasmid Midi Kit	15-50ml	200 $\mu$ 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 $\mu$ g	P1006-02	4 x 96	1345
			P1006-03	20 x 96	6515
HiPure Plasmid 96 Kit I	1-5 ml	20 $\mu$ g	P1007-02	4 x 96	950
			P1007-03	20 x 96	4585
<b>无内毒素质粒提取系列</b>					
HiPure Plasmid EF Micro Kit	1-10ml	100 $\mu$ 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 $\mu$ g	P1115-02	4 x 96	1638
			P1115-03	20 x 96	7885
<b>低拷贝数质粒提取系列</b>					
HiPure Low Copy Plasmid Mini Kit	1-20ml	20 $\mu$ 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
<b>酵母质粒提取系列</b>					
HiPure Yeast Plasmid Mini Kit	1-3ml	10 $\mu$ g	P1131-02	50	458
			P1131-03	250	1985
HiPure Yeast Plasmid Midi kit	10-30ml	50 $\mu$ g	P1132-02	10	732
			P1132-03	50	3342
<b>大型质粒提取系列</b>					
HiPure BAC Mini Kit	1-10ml	10 $\mu$ g	P1151-02	50	395
			P1151-03	250	1685
HiPure BAC Maxi Kit	100-400ml	200 $\mu$ g	P1152-02	10	1085
			P1152-03	50	5238
HiPure Plasmid/BAC EF Mico Kit	1-5 ml	40 $\mu$ 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
<b>噬菌体 DNA 提取系列</b>					
HiPure Lambda DNA Mini Kit	1-3ml	30 $\mu$ g	P1161-02	50	856
			P1161-03	250	4056
HiPure M13 DNA Mini Kit	1-3ml	30 $\mu$ g	P1171-02	50	455
			P1171-03	250	1985
<b>改良硅胶柱常规质粒 DNA 提取系列</b>					
MaxPure Plasmid Micro Kit	10ml	100 $\mu$ 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 $\mu$ g	P1215-02	10	7285
			P1215-03	50	3185 0

MaxPure Plasmid Plus 96 Kit	5ml	30 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ g	P1226-02	4 x 96	1985
			P1226-03	20 x 96	8580

Note: