质粒小抽常见的几个小问题

1、 提不到质粒或质粒产量很低：

b. 检查溶液 II 是否有沉淀。溶液 II 在室温较低时特别是在冬天，容易产生沉淀。如果有沉淀产生，一定要水浴（如 37 度水浴）加热溶解，并混匀后才能使用。

c. 检查溶液 IV 中是否已经按照说明书的要求加入适量的乙醇，并检查加入的乙醇质量。我们发现有些有些厂家生产的所谓分析纯无水乙醇（可能是假冒的），轻轻闻一下，有乙酸的酸味，明显是劣质乙醇。如果使用发酸的劣质乙醇，会导致质粒产量下降，甚至没有质粒。

d. 检查抗生素是否失效，如果抗生素失效，或浓度太低可能会导致杂菌大量扩增，从而得不到质粒或得到很少质粒。

e. 大肠杆菌生长时间过长或过短，也会导致抽提不到质粒或质粒产量很低。一般对数期的细菌最适合质粒抽提。DH5alpha，JM109 等菌一般以 37 度摇过夜，约 16 小时比较合适，而 TG1 等生长较为快速的菌不宜摇过夜。细菌量以加入裂解液后能裂解成透明容易为上限，适当多一些的菌量，可以得到更多的质粒，但是以质粒纯化柱的容量 20 微克为限。

f. 检查菌种本身是否有问题。一方面，可以用抽提过的好的菌种作一个正对照用我们的试剂盒抽提看能否得到预期量的质粒。另一方面，可以用其它方法，如常规的碱裂解方法抽提相同的菌，看菌本身及生长条件是否有问题。

g. 溶液 I 加入后一定要充分悬浮细菌，要保证看不到结块的菌，否则细菌不易被裂解，质粒产量会显著下降。

h. 洗脱液最好使用闪晶生物提供的洗脱液，不要使用重蒸水或 MiliQ 水洗脱，如用水洗脱，一定要保证水的 pH 值在 8.0-8.5 之间。如果洗脱液使用时间较长，并且盖子经

常不盖紧，由于空气中的二氧化碳的作用会使洗脱液酸化，使 pH 值低于 8.0。如发现洗脱液 pH 值低于 7.5 请不要再使用。可以改用 pH8.0 的 TE 或 pH 值在 8.0-8.5 之间的水。

i. 在加入溶液 IV（即洗涤液）后需离心 15 秒，倒弃收集管内液体后，需再离心 1 分钟。千万不能把两次离心合并，仅离心一次，否则会因为洗涤液的污染，而导致产量下降或抽不到质粒。

j. 一定要严格按照说明书操作，特别要注意说明书中的注意事项。

k. 如果排除了上述可能性，还是有问题请和闪晶生物联系。我们会免费给您更换试剂，以排除诸如加错乙醇，溶液被其它试剂污染等可能出现的问题。

2. 有 RNA 污染：

质粒抽提试剂盒有时确实会有少量 RNA 污染，但并不影响后续的常规操，就象常规的碱裂解方法抽提质粒也会有 RNA 污染一样。如果后续要作酶切分析，且预期的酶切片断在 100-500bp 左右，请将抽提好的质粒再用 RNaseA 消化，以去除 RNA 的干扰。