

D6948B Endo-Free Plasmid Mini Kit I

快速法无内毒素质粒小量提取 I 常见问题及排查方法

1. 实验前检查 Solution II 和 HBC Buffer 是否有沉淀物析出，久置或低温都会让 Solution II 和 HBC Buffer 析出沉淀，如有沉淀析出，需按照说明书提示：在 37°C 水浴至沉淀完全溶解；如 Solution II 未能完全溶解，可能会导致菌体无法裂解。
2. 实验前，HBC Buffer 必须按照说明书加入【异丙醇】稀释备用。请开盖闻气味确认已加入醇类稀释。稀释错误或未稀释会导致 DNA 无法挂柱结合，致提取失败。
3. 实验前，DNA Wash Buffer 必须按照说明书加入【无水乙醇】稀释备用。请开盖闻气味确认是否已加入醇类稀释。稀释错误或未稀释会导致 DNA 无法挂柱结合，致提取失败。
4. 加完 Solution I 后注意彻底涡旋混匀，必须对光观察直至看不到有任何菌体颗粒。
5. 加入 Solution II 和 N3 Buffer 后应注意充分混匀，可进行多次颠倒混匀。
6. 将混合液转移到 HiBind[®] DNA Mini Column II 前，必须加入转移出上清的等体积的 ETR Binding Buffer 混匀，正确调节 DNA 与柱子的结合条件。如没有正确加入 ETR Binding Buffer，DNA 将被全部冲掉，致提取失败。
7. 如试剂盒购买时间较长，或 HiBind[®] DNA Mini Column 暴露在空气中的时间较长，可配制 3M NaOH 活化柱子，具体操作如下：
 - 1) 将一个新的 HiBind[®] DNA Mini Column 套入到 2mL 收集管中，加入 200 μ l 3M NaOH 平衡缓冲液至柱子中；
 - 2) 室温放置 3-5min；
 - 3) 室温下，12,000xg 离心 2min，弃滤液；
 - 4) 将 HiBind[®] DNA Mini Column 重新套回到 2mL 收集管中，加入 700 μ l 灭菌水至柱子中；
 - 5) 室温下，12,000xg 离心 2min，弃滤液；
 - 6) 将 HiBind[®] DNA Mini Column 重新套回到 2mL 收集管中。以上操作称为柱平衡，平衡好的柱子即可按照说明书中的步骤提取，经过柱平衡处理的柱子可在室温下放置 1-2 周。
8. 如产物浓度偏低，建议按照说明书进行第二次洗脱。洗脱方法：将第一次洗脱的 Elution Buffer 重新吸回 HiBind[®] DNA Mini Column，室温等待 2-3min，再次离心。
9. 不要随意缩小说明书中的洗脱体积 30-100 μ l，过低的洗脱体积会大幅降低洗脱效率。
10. 如跑电泳没有条带或条带不正常：
 - 1) 先检查 Loading Buffer 是否正常，可尝试更换新的 Loading Buffer 重新点样；
 - 2) 检查肉眼可见的 Loading Buffer 指示带是否还在电泳胶上，排除由于跑胶时间过

长跑脱板的情况；

3) 如产物点电泳时无法正常沉降，绝大部分情况下由于空甩不完全，乙醇残留所致，可在下次提取中，提高离心机速度或延长空甩时间至 5~10min，可解决残留问题；

4) 尝试检测产物浓度，若浓度过低，请保证上样质粒总量在 100ng 左右，才能跑出较正常的条带。

如按照上述步骤仍无法排查问题，请提供单位名称及试剂盒条形码（即盒外标签 Lot 开头数字字母组合）核验正品货源，添加技术支持 QQ: 800848200 获取更多信息。