

D3373 Mollusc DNA Kit

软体动物 DNA 提取 常见问题及排除方法

1. 实验前检查试剂盒中的溶液是否有沉淀物析出，久置或低温都会让溶液析出沉淀，如有沉淀析出，需按照说明书提示：在 65°C 水浴至沉淀完全溶解。
2. 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. 将混合液转移到 HiBind® DNA Mini Column 前，必须加入与转移出的上清液等体积的 Buffer MBL 和 1/2 体积无水乙醇混匀，正确调节 DNA 与柱子的结合条件。如没有加入 Buffer MBL 和无水乙醇，DNA 将被全部冲掉，致提取失败。
4. 若出现堵柱子的情况，注意以下几个方面：
 - (1) 初始样品量：节肢动物组织不宜大于 50mg，软体动物（或其他软组织无脊椎动物）样品量不宜超过 30mg，过多的样品量不但不会增加产量，反而可能会导致堵柱子；
 - (2) 注意将样品完全匀浆裂解，使用液氮研磨可获得良好的效果；
 - (3) 裂解不充分：如不宜减少样品用量，则需增加 Buffer ML1 和 Proteinase K 的孵育时间，如有必要，可过夜孵育；
 - (4) 在加入氯仿：异戊醇，涡旋混匀后离心转移上清时，注意不要转移到沉淀物。
5. 注意不要省略空柱子离心步骤，该步骤能除去柱子中残留的乙醇，否则可能会影响下游实验。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。
6. 如产物浓度偏低，建议按照说明书，可先将 Elution Buffer 在 70°C 预热后再加入柱子中洗脱，且建议进行第二次洗脱。洗脱方法：将第一次洗脱的 Elution Buffer 重新吸回 HiBind® DNA Column，室温等待 2-3min，再次离心。
7. 若产物 A260/A280 比值偏低：
 - (1) 洗脱步骤应注意避免用高于说明书提到的速度离心，可适当延长洗脱步骤的离心时间而不是提高离心速度；
 - (2) 可适当延长加入 Buffer ML1 后的孵育时间，如有必要，可过夜孵育。
8. 不要随意缩小说明书中的洗脱体积至小于 50µl，过低的洗脱体积会大幅降低洗脱效率。

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。