

# D3195 HP Fungal DNA Kit

## 高纯真菌 DNA 提取 常见问题及排查方法

1. 实验前检查 Buffer CPL 和 Buffer CXD 是否有沉淀物析出, 久置或低温都会让 Buffer CPL 和 Buffer CXD 析出沉淀, 如有沉淀析出, 需按照说明书: 在 37°C 水浴并轻轻摇动至沉淀完全溶解。
2. 实验前, SPW 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。
3. 对于干燥样品, 务必在加入 Buffer CPL 之前先将样品研磨成细碎的粉末状。
4. 如产物浓度/产量不理想, 可按实际情况适当延长 65°C 孵育时间至 40-60min。
5. 如产物出现 RNA 污染, 可按说明书在孵育后加入 RNase A 进行消化, 如样品 RNA 丰度较大, 加入 RNase 后仍无法完全消解, 可酌量增加 RNase 的单次使用量或使用更高浓度的 RNase 试剂。
6. 若出现堵柱子的情况, 应注意以下问题:
  - (1) 注意样品用量, 不建议使用超过说明书提到的最大样品量 (干样不超过 30mg, 鲜样不超过 100mg) ;
  - (2) 在加入氯仿/异戊醇离心后, 注意不能转移到沉淀物;
  - (3) 在加入 Buffer CXD 和无水乙醇后如形成沉淀, 可使用枪头反复吹打将沉淀打散, 对于低 DNA 含量的样品提取, 在该步骤有必要时可进行涡旋或在 65°C 孵育至沉淀消失再转移过柱。
7. 将混合液转移到 HiBind® DNA Column 前, 必须加入与转移上清等体积的无水乙醇混匀, 正确调节 DNA 与柱子的结合条件。如没有加入乙醇, DNA 将被全部冲掉, 致提取失败。
8. 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。
9. 如产物浓度偏低, 建议按照说明书, 可先将 Elution Buffer 在 65°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。
10. 不要随意缩小说明书中的洗脱体积, 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。