

# D3370 Yeast DNA Kit

## 酵母 DNA 提取 常见问题及排除方法

1. 实验前检查试剂盒中的 Buffer YL 和 Buffer YDL 是否有沉淀物析出，久置或低温都会让 Buffer YL 和 Buffer YDL 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。
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. 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 $\leq 3\text{mL}$  菌液 ( $\leq 2 \times 10^7$  细胞量)；
  - 2) 可适量延长蛋白酶 K 的孵育时间至 30-60min，以使细胞壁完全裂解；
4. 如样品完整性不理想，出现涂抹拖带，可适当缩短玻璃珠涡旋时间至 2~3min，可帮助缓解拖带现象。
5. 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（增加至 10 $\mu\text{l}$ ）或使用更高浓度的 RNase 试剂（如提高至 50mg/mL）。
6. 在加入 Buffer YDL 和无水乙醇后注意混匀。
7. 将混合液转移到 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 前，必须加入与转移上清等倍体积的 Buffer YDL 和无水乙醇混匀，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<sup>®</sup> DNA Mini 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 50-100 $\mu\text{l}$ ，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。