

# D3392 Blood DNA Kit

## 血液 DNA 提取 常见问题及排除方法

1. 实验前检查 BL Buffer 是否有沉淀物析出，久置或低温都会让 BL Buffer 析出沉淀，如有沉淀析出，需按照说明书中提示：在 37°C 水浴并轻轻摇动至沉淀完全溶解。
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. 注意样品用量，不建议使用超过说明书提到的最大样品量（不超过 250 $\mu$ l 全血），否则容易导致堵柱子。如加入裂解液后出现流动性差，粘稠拉丝等情况，请在下次提取时，减少样品用量（并用 Elution Buffer 补足体积至 250 $\mu$ l 再开始提取），可有效缓解堵柱问题。
5. 对于 DNA 含量较低的样品，可按比例增加样品和以下试剂（OB Protease, Buffer BL 和乙醇）的用量，将所有样品裂解液过同一个柱子。
6. 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。
7. 将混合液转移到 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 前，必须按说明书标注量加入无水乙醇混匀，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. 如试剂盒购买时间较长，或 HiBind<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> DNA Mini Column 套入到 2mL 收集管中，加入 100 $\mu$ l 3M NaOH 平衡缓冲液至柱子中，室温放置 3-5min；
  - 2) 室温下，10,000xg 离心 1min，弃滤液；
  - 3) 将 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 重新套回到 2mL 收集管中，加入 100 $\mu$ l 灭菌水至柱子中；
  - 4) 室温下，10,000xg 离心 1min，弃滤液；
  - 5) 将 HiBind<sup>®</sup> 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。

9. 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。

10. 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 Mini Column，室温等待 2-3min，再次离心。

11. 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。