

D3399 FFPE DNA Kit

石蜡包埋组织 DNA 提取 常见问题及排查方法

1. 实验前检查 BL Buffer、TL Buffer 是否有沉淀物析出，久置或低温都会让 BL Buffer、TL Buffer 析出沉淀，如有沉淀析出，需按照说明书指示：在 37°C 水浴并轻轻摇动至沉淀完全溶解。
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. 注意样品量不要超过 30mg，如果样品量大于 30mg，需增加 OB 蛋白酶、TL Buffer、BL Buffer 和乙醇的用量，将样品分开过两个柱子。
4. 对于组织样品，必须将其剪碎，为了裂解充分，可在加入 TL Buffer 和 OB 蛋白酶后，适当延长 55°C 孵育时间至过夜。
5. 90°C 高温孵育 60min 是为了打开固定时 DNA 的交联情况，请勿省略。
6. 将混合液转移到 HiBind® DNA MicroElute Column 前，必须加入转移出上清的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。
7. 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，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。
8. 如产物浓度偏低，建议按照说明书，可在加入 Elution Buffer 后，在 70°C 孵育 5min 再洗脱，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 MicroElute Column，室温等待 2-3min，再次离心。
9. 如纯度不理想，在进行脱蜡处理前，请尽量切除多余蜡块，仅保留组织，减少进入系统的蜡块/蜡片可有效帮助提高产物纯度。
10. 固定样品的 DNA 在操作提取前会随固定时间，保存条件等因素而发生不同程度的降解，故在电泳检测时常出现涂抹拖带的情况，属正常情况，一般不影响下游 PCR 扩增。如产物严重降解，请尽量使用保存时间短或不暴露空气的样品进行提取，以便获取相对完整的 DNA。
11. 快速法没有进行脱蜡处理，提取纯度会稍低于标准方案，适用于组织含量极低，较难切除多余蜡块的样品。如样品不属于这种情况，请尽量使用标准方案进行脱蜡处理。

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。