

D0926 Insect DNA Isolation Kit

昆虫 DNA 提取 常见问题及排查方法

1. 实验前检查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. 初始样品量：组织样品用量建议从小于 30mg 的样品量开始，过多的样品量不但不会增加产量，反而可能会导致柱子堵柱。
4. 需要根据样品类型适当调整 Buffer CTL/Proteinase K 加入后的孵育时间，对于裂解困难的样品，可能需要过夜消化。
5. 如裂解后出现流动性差，粘稠拉丝等情况，请在下次提取时，减少样品用量，可有效缓解堵柱问题。对于 DNA 含量较低的样品，如无法下调样品用量，可按比例增加样品和以下试剂（Buffer CTL，Proteinase K，氯仿/异戊醇，Buffer CBL 和无水乙醇）的用量，将所有样品裂解液过同一个柱子。
6. 在加入氯仿：异戊醇（24:1）混匀离心后，需小心转移上层水相至新的 1.5mL 新的离心管中，注意不要转移到有杂质和抑制剂的乳状介质。如水相部分含量非常少，可加入 200 μ l 的 Buffer CTL，涡旋混匀离心后再转移水相。
7. 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。
8. 在过柱子前，需按照转移出上清的体积加入等体积的 Buffer CBL 和无水乙醇，混匀后再过柱，调节 DNA 与柱子的结合条件，否则 DNA 与柱子无法结合，致提取失败。
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，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，建议先将 Elution Buffer 在 60°C 预热后再加入柱子中，孵育 5min 后再离心洗脱，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。
11. 不要随意缩小说明书中的洗脱体积至小于 50 μ l，过低的洗脱体积会大幅降低洗脱效率。
12. 如测得产物的 A260/A280 比值较低，可通过以下操作来缓解：
 - (1) 适当延长洗脱离心步骤的时间；

- (2) 将加入 Buffer CTL 和 Proteinase K 的孵育时间延长;
- (3) 可能存在蛋白污染的情况, 可用 300 μ l 的 Buffer HB 再次洗涤柱子。

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。