

D5542 SP Fungal DNA Kit

SP 真菌 DNA 提取 常见问题及排除方法

1. 真菌的细胞壁非常厚，提取时必须按照说明书使用石英砂、液氮研磨或自动匀浆仪破碎等较强的物理破碎手段辅助裂解，如直接在样品中混入裂解液 SFG1 Buffer 进行实验，样品是无法得到有效裂解的，即造成 DNA 提取效率低下或提取失败。
2. 实验前检查 SFG3 Buffer 是否有沉淀物析出，久置或低温都会让 SFG3 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。
3. 使用前，SFG3 Buffer 必须按照说明书加入【无水乙醇】稀释备用。请开盖闻气味确定是否已加入醇类稀释。稀释错误或未稀释都会导致 DNA 无法挂柱结合，致提取失败。
4. 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。
5. 如出现堵柱子的情况，需注意以下几点：
 - (1) 注意样品用量：干燥样品不宜超过 30mg，新鲜样品不宜超过 100mg，过多的样品用量不仅不会增加产量，反而可能会导致裂解不充分或造成堵柱子；
 - (2) 注意在加入 SFG1 Buffer 前需将干燥或新鲜的样品研磨成均匀的细粉末状，在加入 SFG1 Buffer 和 RNase A 后需注意将样品彻底重悬打散，否则将导致样品裂解不充分，进而可能导致提取失败；
 - (3) 如有堵柱子的情况发生，可通过适当增大离心速度或延长离心时间至溶液全部通过柱子，并在下次提取时减少样品用量；
 - (4) 如果无法减少样品量，则需增加过柱前试剂（SFG1 Buffer、RNase A、SFG2 Buffer、SFG3 Buffer）的用量，过柱后的试剂用量无需增加。
6. 将混合液转移到 HiBind[®] DNA Mini column 前，必须加入转移出的澄清裂解液 1.5 倍体积用无水乙醇稀释的 SFG3 Buffer，正确调节 DNA 与柱子的结合条件。如没有加入或加入错误，DNA 将会被全部冲掉，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。
8. 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。

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。