

# D3390 Fungal DNA Mini Kit

## 真菌 DNA 提取 常见问题及排查方法

1. 实验前检查 FG1 Buffer、FG3 Buffer 是否有沉淀物析出，久置或低温都会让 FG1 Buffer、FG3 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. 对于干燥或新鲜/冻存样品，务必在加入 FG1 Buffer 之前先将样品研磨成细碎的粉末状。
4. 如产物浓度/产量不理想，可按实际情况适当延长 65°C 孵育时间至 10-30min。
5. 将混合液转移到 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 前，必须加入与重悬菌体所用无菌水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。
6. 若出现堵柱子的情况，注意以下几个方面：
  - (1) 在简短操作方案中，不要使用超过说明书中提示的最大样品用量（干样不超过 50mg，鲜样不超过 200mg）；
  - (2) 在加入 FG2 Buffer 后，注意不要转移到沉淀物；
  - (3) 在干燥和新鲜/冻存样品提取时，注意在加入 FG3 Buffer 和乙醇前需在 65°C 孵育至 DNA 沉淀物完全溶解，否则可能造成堵柱子；
  - (4) 如有堵柱子的情况发生，可适当提高离心速度或延长离心时间至溶液全部通过柱子。
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，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<sup>®</sup> DNA 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。