

# D3096 MicroElute Genomic DNA Kit

## 微量基因组 DNA 提取 常见问题及排除方法

1. 实验前检查试剂盒中的 Buffer TL 和 Buffer BL 是否有沉淀物析出，久置或低温都会让 Buffer TL 和 Buffer BL 析出沉淀，如有沉淀析出，需按照说明书提示：在 37°C 水浴至沉淀完全溶解。
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. 将混合液转移到 HiBind® MicroElute column 前，必须加入与裂解液混合液或转移出的上清液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。
4. 若出现堵柱子的情况，注意以下几个方面：
  - (1) 初始样品量：组织不宜超过 10mg，细胞不宜超过  $5 \times 10^6$  个样品量，过多的样品量不但不会增加产量，反而可能会导致堵柱子；
  - (2) 注意将样品完全匀浆裂解，使用液氮研磨可获得良好的效果；
  - (3) 裂解不充分：如不宜减少样品用量，则需增加 OB Protease Solution、Buffer TL、Buffer BL 和乙醇的用量，也可延长加入 OB Protease Solution 后孵育的时间，如有必要，可过夜孵育。
5. 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。
6. 如产物浓度偏低，建议按照说明书，可先将 Elution Buffer 在 70°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® MicroElute column，室温等待 2-3min，再次离心。
7. 提取后产物 A260/A280 值偏低，可按照以下操作进行缓解：
  - (1) 适当延长洗脱离心时间，注意应避免高于说明书中指定的离心速度，可通过适当延长离心时间而不是提高离心速度；
  - (2) 加入 Buffer BL 后裂解不充分：可将加入 Buffer BL 后的孵育时间适当延长；
  - (3) 适当延长 Buffer TL 和蛋白酶孵育的时间，确保在孵育后裂解充分；
  - (4) 若样品中的蛋白含量比较丰富，建议使用 Buffer HB 重复洗涤两次。
8. 不要随意缩小说明书的洗脱体积至小于 50 $\mu$ l，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。