

D6945 Plasmid Mini Kit II

质粒小量提取 II 常见问题及排查方法

1. 实验前检查 Solution II 是否有沉淀物析出,久置或低温都会让 Solution II 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;如 Solution II 未能完全溶解,可能会导致菌体无法裂解。
2. 实验前, HBC Buffer 必须按照说明书加入【异丙醇】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. 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。
4. 吸取菌液时需将菌液彻底摇晃均匀,可避免取菌量不一导致提取结果不稳定。
5. 菌液培养时间不宜过长,用量不宜超过 15mL,如菌密度较大,需按照比例酌情增加 Solution I、II、III 的用量,以免过载。
6. 离心收集菌体后,加入 Solution I 重悬,注意一定要将菌体彻底打散,不要留下菌团,可对着光检查。如菌团未能彻底打散,则加入 Solution II 后会无法彻底裂解,这是导致提取结果不稳定的关键因素之一。
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。
9. 不要随意缩小说明书中的洗脱体积 80-100 μ l,过低的洗脱体积会大幅降低洗脱效率。如果有高浓度譬如 1 μ g/ μ l 的要求,可采用异丙醇沉淀浓缩办法。
10. 如跑电泳没有条带或条带不正常:
 - 1) 先检查 Loading Buffer 是否正常,可尝试更换新的 Loading Buffer 重新点样;
 - 2) 检查肉眼可见的 Loading Buffer 指示带是否还在电泳胶上,排除由于跑胶时间过长跑脱板的情况;
 - 3) 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;
 - 4) 尝试检测产物浓度,若浓度过低,请保证上样质粒总量在 100ng 左右,才能跑出较正常的条带。
11. 如下游需进行转染,请使用货号为 D6950 无内毒素质粒小量提取试剂盒进行提取。
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。