

# D3396 Tissue DNA Kit

## 组织 DNA 提取 常见问题及排除方法

1. 实验前检查试剂盒中的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，需按照说明书提示：在 37°C 水浴至沉淀完全溶解。
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. 初始样品量：组织不宜大于 30mg；细胞不宜多于  $5 \times 10^6$  个；如果样品是小鼠尾巴，应注意骨头和毛发是不能消化的，要在加入 OB 蛋白酶过夜消化后离心将其去除；对于石蜡包埋的组织，需要将石蜡去除干净，用无水乙醇洗涤后再消化；如果是提全血或体液的 DNA，注意样品量不要超过 250 $\mu$ l，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。
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（TL Buffer，OB Protease，BL Buffer 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 TL Buffer 和 OB Protease Solution 后，可适当延长 55°C 孵育的时间（最长不超过 3hrs），孵育期间应每隔 20~30min 取出涡旋颠倒一次，可帮助充分裂解。
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上清体积的 BL Buffer 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 70°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<sup>®</sup> DNA Mini 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 $\mu$ 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。