

D6915B Fastfilter Endo-free Plasmid Midi Kit

快速法无内毒素中量提取 常见问题及排除方法

1. 实验前检查试剂盒中的 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，可在 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. 菌液培养时间不宜过长，用量不宜超过说明书中建议的最大体积 50mL，如菌密度较大，需按照比例酌情增加 Solution I、Solution II 和 Buffer N3 的用量，以免过载。
4. 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。
5. 将混合液转移到 HiBind® DNA Midi Column 前，必须加入裂解液等体积的 ETR Binding Buffer 混匀，正确调节 DNA 与柱子的结合条件。如没有正确加入 ETR Binding Buffer，DNA 将被全部冲掉，致提取失败。
6. 在洗脱前必须按照说明书步骤空柱子离心，如离心后取出柱子仍闻到明显的乙醇的气味，建议按照说明书中的选做步骤进一步干燥柱子。
7. 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 Midi Column，室温等待 2-3min，再次离心。
8. 不要随意缩小说明书中的洗脱体积至小于 0.5mL，过低的洗脱体积会大幅降低洗脱效率。如果有高浓度譬如 1µg/µl 的要求，可采用异丙醇沉淀浓缩办法。
9. 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。

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。