

D6950B Endo-Free Plasmid Mini Kit II-fast

快速法无内毒素质粒小量提取 II 常见问题及排除方法

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,可在 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;注意 Solution II 应该密封保存。
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。
4. 加完 Solution I 后注意彻底涡旋混匀,必须对光观察直至看不到有任何菌体颗粒。
5. 加入 Solution II 和 N3 Buffer 后应注意充分混匀,可进行多次颠倒混匀。
6. 将混合液转移到 HiBind[®] DNA Mini Column II 前,必须加入转移出上清的等体积的 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。
7. 如试剂盒购买时间较长,或 HiBind[®] DNA Mini Column II 暴露在空气中的时间较长,可配制 3M NaOH 活化柱子,具体操作如下:
 - 1) 将一个新的 HiBind[®] DNA Mini Column II 套入到 2mL 收集管中,加入 200 μ L 3M NaOH 平衡缓冲液至柱子中;
 - 2) 室温放置 3-5min;
 - 3) 室温下, 12,000xg 离心 2min, 弃滤液;
 - 4) 将 HiBind[®] DNA Mini Column II 重新套回到 2mL 收集管中,加入 700 μ L 灭菌水至柱子中;
 - 5) 室温下, 12,000xg 离心 2min, 弃滤液;
 - 6) 将 HiBind[®] DNA Mini Column II 重新套回到 2mL 收集管中。以上操作称为柱平衡,平衡好的柱子即可按照说明书中的步骤提取,经过柱平衡处理的柱子可在室温下放置 1-2 周。
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 重新吸回柱子,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 60-100 μ L,该试剂盒柱子的膜比一般柱子的膜厚,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) 若点样时出现样品无法沉孔的情况，即是产物残留有乙醇所致，注意不要省略空甩步骤，空甩时可适当加大离心速度，空甩后可闻一下柱子中是否仍有乙醇残留的气味，可将柱子放置到通风橱干燥几分钟；
- 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。