

D5525 Water DNA Kit

水体 DNA 提取 常见问题及排除方法

1. 实验前检查所有试剂（除 cHTR Reagent 外）是否有沉淀物析出，久置或低温都可能让试剂析出沉淀，如有沉淀析出，需按照说明书中提示：在 37°C 水浴并轻轻摇动至沉淀完全溶解。
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. 水体 DNA 产量大部分来源于水体内含有的微生物，浮游生物等。对于微生物含量较少的水样，可适当增加水样过滤的体积，以此增加微生物的富集量，增加最终的微生物得率。如水体比较脏，可先采用大孔径滤膜去掉一些杂质，再使用小孔径滤膜截留微生物。
4. 若出现堵柱子的情况，可适当增大离心速度或延长离心时间使液体尽量通过柱子。如增加速度延长时间均不奏效，可用枪吸掉柱内残留液体，继续往下操作。如不能接受上清产量的部分损失，请务必在下次提取时减少样品加入量。
5. 如异丙醇沉淀步骤无法看到沉淀（DNA 含量较低），可把离心后的管子置于 -20°C 冻存半小时，取出常温或 4°C 离心 10min，提高离心速度，延长离心时间至 20~30min，均可帮助 DNA 沉淀的析出。
6. 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。
7. 过柱前需正确加入与上清等倍体积的 XP1 Buffer，否则将影响 DNA 与柱子的结合，致提取失败。
8. 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。
9. 如产物浓度偏低，建议按照说明书，可先将 Elution Buffer 在 65°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® DNA Mini Column，室温等待 2-3min，再次离心。
10. 不要随意缩小说明书中的洗脱体积，过低的洗脱体积会大幅降低洗脱效率。
11. 如产物表现为 PCR 无结果，建议梯度稀释模板 2/5/10/50 倍再次进行 PCR，通常放大稀释倍数可以帮助 PCR 成功扩增。

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。