

一、试剂盒组成、储存、稳定性

试剂盒组成	保存	10次 (DP3401)	20次 (DP3402)
细胞核裂解液	室温	90ml	180 ml
蛋白沉淀液	室温	30ml	60 ml
DNA 溶解液	室温	10 ml	20 ml
RNase A(10mg/ml)	-20℃	300ul	600 μl

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

注意事项

1. 环境温度低时细胞核裂解液中某些去污剂成份会析出出现浑浊或者沉淀，可在 37℃ 水浴加热几分钟，轻轻旋摇，即可恢复澄清，**不要剧烈摇晃**，以免形成过量的泡沫。
2. 蛋白沉淀液可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 水浴几分钟帮助重新溶解，**如果不能完全溶解，也不影响使用效果**，直接取用上层溶液即可。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

六、疑难解答 (Trouble shooting)

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
DNA产量低	使用了不恰当的裂解液，造成裂解不完全	处理材料不要过量。
	有的组织如肌肉，鼠尾处理困难	尽量将材料研磨细，匀浆完全。
	DNA 沉淀在洗涤的时候丢失了	异丙醇沉淀后用乙醇洗涤的过程中，倒弃上清的时候要格外小心，不要把 DNA 沉淀也倒掉了。
A260/A280>1.9	RNA 酶处理时间不够造成 RNA 污染	可以加大 RNA 酶用量或者处理时间延长到 1 小时。
	DNA 剪切断了	严格按照操作步骤，动作不可以太剧烈。
A260/A280 <1.6	蛋白质残留高	保证重复的裂解液用量和时间；看看后面“未见到蛋白沉淀”问题的解决方法，确保蛋白通过沉淀去除。另外请参见步骤 7，防止蛋白污染。
	测定吸光值时用水稀释 DNA 会降低 A260/A280	使用 TE 缓冲液来稀释 DNA,保证 PH 值大于 8.0。
	DNA 没有完全溶解	可在 65℃ 温育帮助重新溶解（不要超过一小时）然后室温或者 4℃ 放置过夜，期间可以颠倒轻弹帮助溶解。
变色的DNA	如果异丙醇沉淀后没有迅速进行 70%乙醇漂洗的步骤，有的组织如肝脏提取出的 DNA 可能会变色	异丙醇沉淀离心后，马上进行 70%乙醇清洗的步骤。

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
DNA长度小于20kb	样品太旧或者不正确的存放, 反复冻融等, 造成DNA降解	选用新鲜的样品。
	操作不当, 造成对基因组DNA的剪切	混匀轻柔, 不可以用手剧烈振荡离心管, 选用大口径的枪头转移或者混匀DNA。
未见到蛋白沉淀	加入蛋白沉淀液前, 裂解物没有冷却回室温	冷却至室温或者冰上放置5分钟后, 再加入蛋白沉淀液。
	蛋白沉淀液没有和裂解混合物充分混匀	应该连续高速涡旋振荡混匀25秒, 涡旋并不会剪切断DNA。
	加入蛋白沉淀液后, 混合物没有在冰上放5分钟	离心前在冰上放置5分钟帮助沉淀。
DNA沉淀难以重新溶解水化	晾干DNA沉淀时过度了	晾干时候密切观察, 不要干燥过头, 注意应该观察管底的DNA沉淀, 有时候管壁上的残留乙醇已经挥发, 但留下一些水分还没有干, 只要管底DNA干了就可以加入DNA溶解液。可在65°C温育帮助重新溶解(不要超过一小时)然后室温或者4°C放置过夜, 期间可以颠倒轻弹帮助溶解。
下游酶切不开, 或者PCR反应受抑制	DNA未干燥完全, 残留乙醇太多	敞开离心管口, 在65°C温育几分钟, 让乙醇挥发。

一、试剂盒组成、储存、稳定性.....	1
二、原理简介.....	2
三、试剂盒特点.....	2
四、注意事项.....	2
五、操作步骤.....	3
六、疑难解答.....	6