

一、试剂盒组成、储存、稳定性

试剂盒组成	保存	50 次 (DP6111)
红细胞裂解液	室温	150ml
细胞核裂解液	室温	500ml
蛋白沉淀液	室温	170ml
DNA 溶解液	室温	30ml
蛋白酶 K (20mg/ml)	-20℃	50mg
离心柱	室温	50 套

本试剂盒在室温储存 18 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，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。
4. 蛋白酶 K 使用前加水溶解，分装小份-20℃ 保存。

六、疑难解答 (Trouble shooting)

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
红细胞裂解不完全	血液标本裂解前没有恢复到室温	处理前先把血液标本恢复到室温。
	裂解时间不够	可延长裂解时间至 15 分钟以上。
	裂解过程中没有多次混匀	裂解过程中可以更多次颠倒混匀，或者轻弹管壁帮助裂解。
DNA 产量低	血液标本中本身含有的白细胞数量低	增加起始血液处理量
	白细胞裂解不完全	仔细阅读步骤 6 的操作要领。加入裂解液之前，必须剧烈涡旋振荡打散重悬白细胞沉淀团块，否则很难裂解完全。如果是肝素抗凝的血样，白细胞团块很难打散，加入裂解液后应该在 65℃ 温育帮助裂解直到看不见细胞团块。白细胞数量太大超出裂解能力，适当增加细胞核裂解液体积。
	血液标本存放时间太长	存放在 4℃ 的血液标本超过 5 天的产量可能大大降低，因此不要存放太久。
	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。

接前表

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
DNA长度小于20kb	血液样品太老或者不正确的存放,造成DNA降解	选用新鲜的血液样品。
	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 A260/A280 <1.6	加入蛋白沉淀液前,裂解混合物没有冷却回室温	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。
	污染有蛋白质	看看上述“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9,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℃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。
下游酶切不开	DNA未干燥完全,残留乙醇太多	敞开离心管口,在65℃温育几分钟,让乙醇挥发。

目 录

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

接前表

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
DNA长度小于20kb	血液样品太老或者不正确的存放,造成DNA降解	选用新鲜的血液样品。
	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 A260/A280 <1.6	加入蛋白沉淀液前,裂解混合物没有冷却回室温	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。
	污染有蛋白质	看看上述“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9,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℃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。
下游酶切不开	DNA未干燥完全,残留乙醇太多	敞开离心管口,在65℃温育几分钟,让乙醇挥发。

目 录

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