

D3485 Plant DNA Kit

植物 DNA 提取 常见问题及排查方法

1. 由于植物部分或新鲜程度可直接影响终产物 DNA 质量, 请尽量使用新鲜、幼嫩的植物进行提取。如为冻存样品, 请尽量使用冻存时间较短, 或保存温度较低 (-50°C 以下) 保存的样品, 以确保提取前样本内 DNA 的状态尽可能完好。
2. 实验前检查 Buffer P3 是否有沉淀物析出, 久置或低温都会让 Buffer P3 析出沉淀, 如有沉淀析出, 需按照说明书指示: 在 37°C 水浴并轻轻摇动至沉淀完全溶解。
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. 注意务必在加入 Buffer P1 之前将样品研磨成细碎的粉末状。
5. 对于起始样品量少或标准方案内提取效率不高的样品, 建议采用方案 C 简短步骤来尝试提取 (干燥样品: 不多于 10mg; 新鲜样品: 不多于 40mg)。
6. 如裂解后出现流动性差、粘稠拉丝或堵柱的情况, 请在下次提取时减少样品用量, 可有效缓解堵柱问题。对于 DNA 含量比较低的样品, 如无法下调样品用量, 可按比例增加样品和过柱前用到的试剂 (Buffer P1、Buffer P2、异丙醇、Buffer P3 和无水乙醇等) 的用量, 将所有样品裂解液过同一个柱子。
7. 将混合液转移到 HiBind[®] DNA Mini Column 前, 必须加入转移上清液 1/2 体积的 Buffer P3 和等体积的无水乙醇混匀, 正确调节 DNA 与柱子的结合条件。如没有加入乙醇, DNA 将被全部冲掉, 致提取失败。
8. 若出现堵柱子的情况, 注意以下几个方面:
 - (1) 注意不要使用多于说明书提到的最大样品量 (方案 A 和 B: 干燥样品不超过 50mg, 新鲜/冻存样品不超过 100mg; 方案 C: 干燥样品最多 10mg, 新鲜/冻存样品最多 40mg);
 - (2) 在加入 Buffer P2, 涡旋混匀离心后, 注意观察沉淀情况, 如沉淀不完全则需延长离心时间, 注意在转移上清时应注意不要转移到沉淀物;
 - (3) 在加入 Buffer P3 和无水乙醇后, 可能会有白色絮状物析出, 属正常现象, 需使用枪头吸打或置于 65°C 孵育至其溶解后再转移过柱。
9. 如产物颜色很重或有颜色残留, 建议减少样品用量, 或者增加一次 DNA wash Buffer 的洗涤, 具体做法是: 加入 DNA Wash Buffer 后, 在柱子内静置 1min 再离心, 而不是加入就立刻离心去除。
10. 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，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。

11. 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 Column，室温等待 2-3min，再次离心。

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。