

# D2485 HP Plant DNA Kit

## 高纯植物 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 ( $-50^{\circ}\text{C}$ 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 CSPL Buffer 和 CXD Buffer 是否有沉淀物析出, 久置或低温都会让 CSPL Buffer 和 CXD Buffer 析出沉淀, 如有沉淀析出, 需按照说明书指示: 在  $37^{\circ}\text{C}$  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. 对于干燥或新鲜的样品, 都必须在加入 CSPL Buffer 前先将样品研磨成细碎的粉末状。加入 CSPL Buffer 后尽快混匀, 可有效遏制褐化, 达到更好的提取效果。
5. 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 (CSPL Buffer、氯仿: 异戊醇、CXD Buffer 和无水乙醇等) 的用量, 将所有样品裂解液过同一个柱子。
6. 将混合液转移到 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 前, 必须加入转移上清液 1/2 体积的 CXD Buffer 与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 CXD 与乙醇, DNA 将被全部冲掉, 致提取失败。
7. 若出现堵柱子的情况, 注意以下几个方面:
  - (1) 不要使用超过说明书中提示的最大样品用量 (干样不超过 50mg, 鲜样不超过 200mg) ;
  - (2) 裂解不充分: 如不宜减少样品用量, 则需增加 CSPL Buffer、醇类和 CXD Buffer 的用量;
  - (3) 在加入氯仿: 异戊醇, 涡旋混匀后离心转移上清时, 注意不要转移到沉淀物;
  - (4) 在提取低 DNA 含量样品时, 需确保在加入 CXD Buffer 和乙醇前, DNA 已经溶解在水中, 在  $65^{\circ}\text{C}$  孵育并涡旋可以帮助 DNA 溶解。
8. 如产物颜色很深或有颜色残留, 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 后在柱子内静置一分钟再离心, 而不是加入就立刻离心去除。
9. 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。

10. 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。