

For research use only

Version Number: 1.1

## Buccal Swab/FTA Card DNA Isolation Kit

For genomic DNA purification from buccal swab and FTA card

试剂盒组成	DE-05811
	50 T
Linear Acrylamide	200 µL
Buffer ST1	15 mL
Buffer ST2 *	15.5 mL
Buffer PW *	25 mL
Buffer WB	25 mL
Buffer EB	10 mL
Foregene Protease	1 mL
DNA-Only Column	50 套
说明书	1 份

\*: Buffer SL2、Buffer PW 中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

### 产品简介

本试剂盒提供了高效、快速从口腔拭子、FTA Card(血斑)中纯化得到较高浓度基因组 DNA 的方法。采用本公司特有的 DNA-only 硅胶膜离心柱和配方，搭配 Foregene Protease，可以在 80 分钟提取到较高浓度、高质量的基因组 DNA。专门设计的微小纯化柱结合基因组 DNA，可用微量(15 µL)洗脱体系洗脱 DNA，提高获得的基因组 DNA 的浓度，便于下游检测或实验。试剂盒一次可处理一个或多个样品，且纯化过程不需要用到酚、氯仿等有机物抽提以及耗时的异丙醇或乙醇沉淀，操作简捷省时。

本试剂盒离心柱采用的 DNA-only 硅胶膜为本公司特有新型材料，高效、特异吸附 DNA，可最大限度的去除 RNA、杂质蛋白、离子及细胞中其他有机化合物。获得的 DNA 片段大，纯度高、质量稳定可靠，可用于酶切、PCR、Southern 杂交、文库构建等分子生物学实验。

### 储存条件

- ❖ 本试剂盒在常温(15-25°C)干燥条件下，可保存 24 个月；如需保存更长时间可置于 2-8°C。  
注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。
- ❖ Foregene Protease 溶液具有独特配方，常温保存长期(3 个月)具有活性；在 4°C 保存，其活性和稳定性会更好，因此建议将其置于 4°C 保存，切记不能置于 -20°C 保存。
- ❖ Linear Acrylamide 为保证长期有效性，置于 -20°C 保存。

### 注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ❖ 每个纯化体系使用一个口腔拭子即可，多个口腔拭子请使用多个纯化柱进行纯化。
- ❖ 单次纯化推荐使用 1-3 片直径约 3 mm 的 FTA Card 进行实验。若血卡保存质量不佳，可增加使用量。
- ❖ 使用前，仔细检查 Buffer ST1、Buffer ST2 和 Buffer PW 中是否有沉淀析出，若有沉淀析出，请将其置于 37°C 溶解，混匀后再使用。
- ❖ 试剂盒使用前，请务必检查 Buffer WB 是否按说明添加了无水乙醇。Buffer WB 在使用前添加 60 mL 无水乙醇(DE-05811)。
- ❖ 在样品裂解过程中，应始终保持样品浸于裂解缓冲液中，若样品黏附在管盖及内壁，可通过短暂离心进行处理。
- ❖ 洗脱体积： Buffer EB 不应少于 15 µL，否则会影响 DNA 产量。
- ❖ 切记不要在任何 Buffer 中添加 RNA 酶。
- ❖ 所有离心步骤均为使用台式离心机常温(15-25°C)离心。
- ❖ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)进行。

## 材料取用说明

### 口腔拭子:

- ❖ 口腔拭子取样方式: 使用无菌口腔拭子在面颊内反复擦拭 10-15 次。

注意: 为了保证样本不被食物或饮品污染, 取样前 30 分钟内请勿进食和饮水。

- ❖ 口腔拭子取样后处理: 用剪刀将口腔拭子上棉签部分从杆上剪下, 置于 2ml 离心管中备用。

### FTA Card(血斑):

- ❖ 血斑样本制备: 轻轻混匀装有血液的抗凝管; 用移液器取 70-80  $\mu\text{L}$  的抗凝全血, 对准 FTA Card(d=2.5 cm)上采样圈中心缓慢将血液滴加到血卡的圆圈上, 并注意避免气泡产生。将 FTA Card 置于干燥、清洁、平整、无吸水性的桌面上或专业纸质干燥架上自然风干。

注意: 不可置于阳光下晾晒或用人工方法加速干燥。

- ❖ 血斑样本质量控制及有效性判断: 合格血斑应满足 70-80  $\mu\text{L}$  血样尽量填满 FTA Card 上样本采集圆圈、血样充分浸透血卡、血斑无褪色和污染、无血清环出现、血斑未分层。合格血斑见下图:

合格血斑



- ❖ 血斑样本采集后处理: 剪取血斑, 放置于干净的 2 mL 离心管中备用。

## 操作步骤 (请严格按照本操作说明进行相关实验操作)

使用前请先在 Buffer WB 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

1. 将一根取得样本的口腔拭子, 将棉签部分剪下, 放置干净的 2 mL 离心管中或将 1-3 片直径约 3 mm 的血斑放置于干净的 2 mL 离心管中。

2. 向该离心管中加入 **300  $\mu\text{L}$  Buffer ST1**, 涡旋混匀。
3. 向上述体系中加入 **20  $\mu\text{L}$  Foregene Protease**, 涡旋混匀 5 sec。简短离心以收集附着在离心管盖及内壁的液滴。
4. 将离心管放置于 65°C 金属浴或水浴中 1 hr, 其间每间隔 15 min 涡旋混匀 5 sec。
5. 加入 **310  $\mu\text{L}$  Buffer ST2**, 混匀后加入 **4  $\mu\text{L}$  Linear Acrylamide**, 涡旋混匀 5 sec, 简短离心以收集附着在离心管盖及内壁的液滴。
6. 将离心管放置于 65°C 金属浴或水浴中 10 min, 其间每间隔 3 min 轻摇混匀一次, 简短离心以收集附着在离心管盖及内壁的液滴。
7. 弃掉溶液中的口腔拭子, 加入 **200  $\mu\text{L}$  无水乙醇**, 涡旋震荡混匀 5 sec, 此时可能会出现絮状沉淀。
8. 将上一步所得溶液和絮状沉淀移至离心柱(DNA-Only Column)中, 12,000 rpm(~13,400  $\times\text{g}$ ) 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
9. 将离心柱放回收集管中, 向离心柱中加入 **500  $\mu\text{L}$  Buffer PW**, 12,000 rpm(~13,400  $\times\text{g}$ )离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
10. 将离心柱放回收集管中, 向离心柱中加入 **700  $\mu\text{L}$  Buffer WB**, 12,000 rpm(~13,400  $\times\text{g}$ )离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
11. 重复步骤 10 一次。
12. 将离心柱放回收集管中, 12,000 rpm(~13,400  $\times\text{g}$ )空管离心 1 min。
13. 将离心柱转移至新的 1.5 mL 离心管中, 向膜中央悬空滴加 **15-100  $\mu\text{L}$  已于 65°C 预热的 Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 5 min, 12,000 rpm(~13,400  $\times\text{g}$ ) 离心 1 min。

注意: Buffer EB 的体积不应少于 15  $\mu\text{L}$ , 在推荐洗脱体积范围内, 适当增加 Buffer EB 体积, 可提高 DNA 得率。如果希望提高 DNA 的浓度, 可将第 1 次离心得到的溶液重新加回离心柱中, 12,000 rpm (~13,400  $\times\text{g}$ ) 离心 1 min。