



Buccal Swab/FTA Card DNA Isolation Kit

Cat.No.DE-05811

For genomic DNA purification from buccal swab and FTA card

For research use only

Store at room temperature



目 录

产品介绍	3
产品特点	3
试剂盒应用	4
基因组 DNA 的应用	4
产品质量控制	4
试剂盒内容	5
产品信息	5
储存条件	5
试剂盒组分信息	6
DNA-Only Column 特性	6
基因组 DNA 提取得率和纯度	7
基因组 DNA 片段大小	7
注意事项	8
操作前准备事项	9
实验材料和设备	9
自备试剂	9
安全性	9
操作指南	10
● 材料取用说明	10
● 操作步骤	11
DNA 浓度及纯度测定	12
问题分析指南	13

产品介绍

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 μ L)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。

产品特点

- ◆ 无 RNA 酶污染: 试剂盒提供的 DNA-Only Column 使得实验过程中无需额外添加 RNA 酶即可去除基因组 DNA 中的 RNA, 避免实验室遭受外源 RNA 酶污染。
- ◆ 速度快: Foregene Protease 具有比同类蛋白酶更高的活性, 消化样本速度快; 操作简单。
- ◆ 方便: 离心操作均在常温, 无需 4°C 低温离心或乙醇沉淀 DNA。
- ◆ 安全: 无需有机试剂抽提。
- ◆ 质量高: 提取获得的基因组 DNA 片段大、无 RNA、无 RNA 酶、离子含量极低, 能满足各种实验的要求。
- ◆ 微量洗脱体系: 可以提高基因组 DNA 浓度, 便于下游检测或实验。

试剂盒应用

适用于纯化以下样本基因组 DNA：口腔拭子、FTA Card(血斑)。

基因组 DNA 的应用

Buccal Swab/FTA Card DNA Isolation Kit 纯化获得的基因组 DNA 纯度高，可用于常规分子生物学操作，如：酶切、PCR、Southern 杂交、文库构建等实验。

产品质量控制

按照福际生物试剂盒质量检测体系标准(FOREGENE's Total Quality Management System)，每一批次的口腔拭子/血卡基因组 DNA 提取试剂盒都严格进行多次测试，确保每一批次试剂盒质量的可靠性和稳定性。

试剂盒内容

Buccal Swab/FTA Card DNA Isolation Kit 口腔拭子/血卡基因组 DNA 提取试剂盒	
试剂盒组成	DE-05811
	50 T
Buffer ST1	15 mL
Buffer ST2	15.5 mL
Linear Acrylamide	200 μ L
Buffer PW	25 mL
Buffer WB	25 mL
Buffer EB	10 mL
Foregene Protease	1 mL
DNA-Only Column	50 个
说明书	1 份

产品信息

型号	离心柱型	纯化组件	Foregene 离心柱、试剂
通量	1-24 个样品	制备时间	80 min (24 个样品)
离心机	台式离心机	组织酶解物分离	离心分离
纯化柱 DNA 承载量	30 μ g	离心柱液体盛装量	800 μ L
洗脱体积	15-30 μ L	样本处理量	1 根口腔拭子 1-3 片直径 3 mm 血斑

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。

试剂盒组分信息

- ◆ Buffer ST1：提供组织样本酶解环境。
- ◆ Foregene Protease：在 Buffer ST1 的环境下酶解组织样本。
- ◆ Buffer ST2：失活 Foregene Protease，并提供 DNA 上柱环境。
- ◆ Linear Acrylamide：减少核酸本底吸附，提高 DNA 洗脱效率。
- ◆ Buffer PW：去除 DNA 中的蛋白质、RNA 等杂质。
- ◆ Buffer WB：去除 DNA 中的残留的盐离子。
- ◆ Buffer EB：洗脱纯化柱膜上的 DNA。
- ◆ DNA-Only Column：特异吸附裂解产物中的基因组 DNA。

DNA-Only Column 特性

DNA最大结合能力(Maximum binding capacity)	30 µg
上清最大载量体积(Maximum loading volume)	800 µL
最大DNA片段(Longset DNA fragment)	23 kb
最小洗脱体积(Minimum elution volume) *	15 µL
最佳样本选取(Selection of samples)	口腔拭子、血斑
样本最大初始量(Maximum amount of starting material) *	1个口腔拭子、1-3片血斑

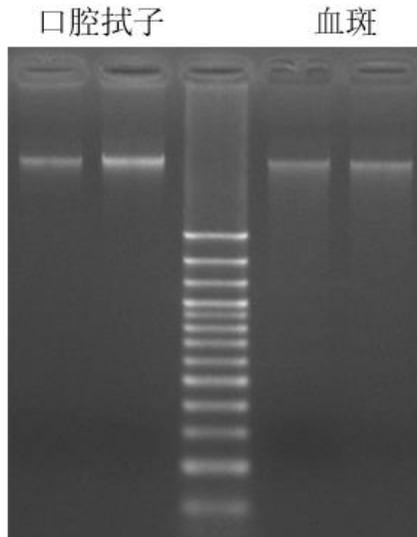
*：15 µL 的最小洗脱体系是在兼顾 DNA 回收率及浓度给出的比较合理的建议体积。如果为了提高 DNA 的产量，可以适当增加洗脱液体积。

基因组 DNA 提取得率和纯度

微量样本基因组 DNA 的产量与样本来源、保存条件、酶解程度以及操作有关，口腔拭子/血卡基因组 DNA 提取试剂盒提供了一种有效的获得微量样本基因组 DNA 的方法，一般一个口腔拭子可获得 0.5-3 μg 的基因组 DNA(与口腔拭子上含有的细胞数量有关)；一个直径为 3 mm 的血斑可获得 0.2-0.5 μg 的基因组 DNA。获得的基因组 DNA 纯度高，其 OD260/280 \approx 1.7-1.9。

基因组 DNA 片段大小

口腔拭子/血卡基因组 DNA 提取试剂盒是采用硅胶膜柱分离纯化多种样本来源的基因组 DNA，纯化获得的基因组 DNA 片段大小均在 23 kb 附近。见下图：



分别提取 1 根口腔拭子、3 个直径为 3 mm 血斑的基因组 DNA，每种样本的两个重复，均按照 30 μL Buffer EB 洗脱；取 5 μL 的基因组 DNA 于 1%琼脂糖凝胶电泳。

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 在使用前分别添加 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：采用微量洗脱体系会提高 DNA 浓度，但 Buffer EB 不应少于 15 μ L，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。

操作前准备事项

使用本试剂盒前，请务必仔细阅读说明书。口腔拭子/血卡基因组 DNA 提取试剂盒操作简单、方便、快速，说明书提供了整个试剂盒的完整信息和正确使用方法。请在使用前准备好必要的实验材料和设备。

实验材料和设备

- ◆ 单次纯化体系：一根口腔拭子或 1-3 片直径约 3 mm 的血斑。
- ◆ 1.5 mL 或 2 mL 无菌离心管。
- ◆ 台式离心机($\geq 13,400 \times g$)、65°C 水浴或金属浴、移液器、涡旋仪等。

自备试剂

- ◆ 无水乙醇

安全性

- ◆ 本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床医学、食品及化妆品等用途。
- ◆ 使用化学品时，穿戴合适的实验服，手套，防护眼镜等。
- ◆ Buffer ST2 含有胍盐：变性剂，刺激性。
- ◆ Buffer PW 含有胍盐：变性剂，刺激性。
- ◆ Buffer WB 含有无水乙醇：易燃。
- ◆ Foregene Protease：增敏剂，刺激性。

操作指南

口腔拭子/血卡基因组 DNA 提取试剂盒提供了一种快速处理口腔拭子、血卡或血斑，纯化基因组 DNA 的方法，请严格按照说明书进行基因组 DNA 提取相关操作。

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 μL 的抗凝全血，对准 FTA Card($d=2.5\text{ cm}$)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 μL 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(制备方法见 Page 10)放置于干净的 2 mL 离心管中。
2. 向该离心管中加入 **300 μ L Buffer ST1**，涡旋混匀。
3. 向上述体系中加入 **20 μ 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 μ L Buffer ST2**，混匀后加入 **4 μ 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 μ 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 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 μ L Buffer PW**，12,000 rpm (~13,400 \times 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 μ L Buffer WB**，12,000 rpm (~13,400 \times 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 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 μ 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 g) 离心 1 min。
注意：Buffer EB 的体积不应少于 15 μ 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 g) 离心 1 min。

DNA 浓度及纯度检测

- ◆ 得到的基因组 DNA 的质量与操作过程中的多种因素有关。DNA 可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。
- ◆ DNA 的 OD260 值为 1 相当于大约 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 双链 DNA。
- ◆ DNA 的 $\text{OD}260/280 \approx 1.7-1.9$ 。如果洗脱时不使用洗脱缓冲液 Buffer EB, 而使用去离子水, 比值会偏低, 因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值, 但并不表示纯度低。

问题分析指南

以下针对口腔拭子/血卡基因组 DNA 提取中可能遇到的问题进行分析, 希望能对您的实验有所帮助。另外, 对于在操作说明和问题分析以外的其他实验或技术上的问题, 我们设有专门的技术支持帮助您。如有任何需要可联系我们: 028-83360257 或 E-mail: Tech@foregene.com。

纯化柱堵塞

本试剂盒在基因组 DNA 提取操作步骤中, 样本酶解后没有离心步骤直接将样本酶解混合物上纯化柱吸附 DNA, 有可能由于酶解不完全、样本粘稠高等因素导致纯化柱堵塞。

可能存在的原因如下:

1. 组织样本酶解不完全。

建议: 可适当延长 Foregene Protease 处理样本时间或者以 12,000 rpm (~13,400 xg)离心 5 min 后取上清液过柱。

2. 组织样本用量过多或者组织较大。

建议: 样本最好不要超过 1 根口腔拭子; 如果样本过多请相应增加 Buffer ST1、Foregene Protease、Buffer ST2 的用量。

3. 样本粘稠度过高。

建议: 可将样本用 10 mM 的 Tris-HCl 适当稀释后再进行基因组 DNA 的提取操作。

4. 吸取到了血卡的碎片。

建议: 可适当延长血斑(FTA Card)基因组提取第 6 步短暂离心时间。

低产量或无 DNA

通常有多种因素会影响基因组 DNA 产量, 包括样本来源、样本保存条件、样本的预处理、操作等。

提取过程中无法获得基因组 DNA

可能存在的原因如下:

1. 样本保存不当或保存时间太长, 导致基因组 DNA 降解。

建议: 口腔拭子最好是新鲜取样, 不宜使用保存的拭子进行基因组 DNA 提取操作; 血斑样本确保质量合格, 保存时间不宜过长。

2. 组织用量过少可能导致提取不到相应的基因组 DNA。

建议: 按照操作指南里面的口腔拭子取样说明进行操作, 尽量多擦拭几次以便口腔

拭子上能附着足够的细胞进行基因组 DNA 提取；对于血斑样本提取，可适当增加血斑剪取面积。

3. Foregene Protease 保存不当，导致其活性降低或失活。

建议：确认 Foregene Protease 保存条件或者更换新的 Foregene Protease 进行酶解反应。

4. 试剂盒保存不当或存放时间太长，导致试剂盒里面某些组分失效。

建议：购置新的口腔拭子基因组 DNA 提取试剂盒进行相关操作。

5. Buffer WB 没有添加无水乙醇。

建议：确认 Buffer WB 中添加正确体积的无水乙醇。

6. 洗脱液没有正确滴加到硅胶膜上。

建议：将 65°C 预热的洗脱液滴加到硅胶膜的正中间，并在室温放置 5 分钟增加洗脱效率。

提取获得低产量基因组 DNA

可能存在的原因如下：

1. 样本保存不当或保存时间太长，导致基因组 DNA 降解。

建议：口腔拭子最好是新鲜取样，不宜使用保存的拭子进行基因组 DNA 提取操作。

2. 组织样本用量过少，提取到的基因组 DNA 含量会较少。

建议：按照操作指南里面的口腔拭子取样说明进行操作，尽量多擦拭几次以便口腔拭子上能附着足够的细胞进行基因组 DNA 提取。

3. Foregene Protease 保存不当，导致其活性降低或失活。

建议：确认 Foregene Protease 保存条件或者更换新的 Foregene Protease 进行酶解反应。

4. 洗脱液问题。

建议：请使用 Buffer EB 进行洗脱；如果使用 ddH₂O 或其他洗脱液，确认洗脱液的 pH 值在 7.0-8.5 之间。

5. 洗脱液没有正确滴加。

建议：请将洗脱液滴加到硅胶膜的正中间，并在室温放置 5 分钟增加洗脱效率。

6. 洗脱液体积太少。

建议：请按说明书上要求使用洗脱液进行基因组 DNA 洗脱，最少不要低于 15 μ L。

提取获得基因组 DNA 纯度低

基因组 DNA 纯度低会导致下游实验的失败或效果不理想，如：酶切不开，PCR 得不到目的基因片段等。

可能存在的原因如下：

1. 杂蛋白污染、RNA 污染。

分析：没有使用 Buffer PW 洗涤纯化柱；Buffer PW 洗涤纯化柱没有使用正确的离心转速。

建议：在添加乙醇之前保证上清液中无沉淀；务必按说明书进行 Buffer PW 洗涤纯化柱，并且此步骤不能省略。

2. 杂质离子污染。

分析：省略了 Buffer WB 洗涤纯化柱或者只洗涤了一次，导致残留的离子污染。

建议：务必按说明书使用 Buffer WB 洗涤 2 次，以尽量去除残留的离子。

3. RNA 酶污染。

分析：Buffer 中添加了外源的 RNA 酶；Buffer PW 洗涤操作不正确，导致 RNA 酶残留，影响下游 RNA 实验操作，如：体外转录等。

建议：Foregene 系列核酸提取试剂盒无需额外添加 RNA 酶即可去除 RNA，Buccal Swab/FTA Card DNA Isolation Kit 里面所有试剂均无需添加 RNA 酶；务必按说明书进行 Buffer PW 洗涤纯化柱，并且此步骤不能省略。

4. 乙醇残留。

分析：Buffer WB 洗涤纯化柱后，没有进行空管离心操作。

建议：按说明书进行正确的空管离心操作。

5. 其他杂质污染。

分析：保存样本或特殊样本没有进行预处理。

建议：按操作说明对样本进行彻底的预处理。

中国·凡晶 World's Foregene

成都凡晶生物技术有限公司

电话：028-83360257, 028-83361257

E-mail: info@foregene.com

Http://www.foregene.com

