

# Gebrauchsanweisung



## FTA®-Karten Von Whatman®

### Beschreibung:

FTA-Karten wurden entwickelt zur Sammlung, zum Transport, zur Archivierung und zur Aufreinigung von Nukleinsäuren bei Raumtemperatur und zur nachfolgenden PCR-Analyse. Die Nukleinsäure kann aus einer breiten Vielfalt von biologischen Proben wie Blut, bukkale Zellen, Gewebe, Kulturzellen, Mikroorganismen sowie Pflanzengewebe u. v. a. gewonnen werden. FTA-Karten werden mit einer patentierten chemischen Reagenzmischung beschichtet, welche die Zellmembranen lysiert und Proteine bei Berührung denaturiert. Nukleinsäuren werden immobilisiert und gegen UV-Schäden und mikrobielle Kontamination bzw. Pilzbefall geschützt. In den Proben enthaltene infektiöse Erreger werden beim Auftragen auf die FTA-Karten inaktiviert. FTA-Karten sind in verschiedenen Ausführungen erhältlich, wie z.B. CLASSIC, MINI, MICRO und die Gene Card. FTA-Farbindikatorkarten färben sich beim Auftrag der Probe von rosarot nach weiß und werden für den Auftrag farbloser Proben empfohlen. Bei der Verwendung der FTA-Karten wird die Probe (Flüssigprobe bzw. gepresstes Gewebe) einfach aufgetragen und bei Zimmertemperatur luftgetrocknet. Dann entnimmt man mit einer speziellen Stanze eine kleine Scheibe (1,2 mm bzw. 2.0 mm, je nach Auftrag) und setzt diese nach dem Waschen bei der PCR-Analyse als Template ein.

### Vorsichtsmaßnahmen:

**Handhabung:** Wir empfehlen dringend das Tragen von Handschuhen, um eine Kontamination der FTA-Karten zu vermeiden. Befolgen Sie immer die üblichen Vorsichtsmaßnahmen bei der Handhabung von biologischen Proben.

**Lagerung:** Lagern Sie die unbenutzten Karten in der Originalverpackung in einer kühlen, trockenen und sauberen Umgebung. Nachdem Sie die Proben aufgetragen haben, lassen Sie diese trocknen. Danach sollen die Proben bei Zimmertemperatur in einer trockenen Umgebung gelagert werden.

### ANWENDUNG:

#### Auftragen von Blutproben (frisches Vollblut bzw. mit gerinnungshemmenden Mitteln: EDTA, Natriumcitrat, ACD oder Heparin):

1. Markieren Sie die FTA-Karte mit der jeweiligen Probenbezeichnung.
2. Tropfen Sie das Blut (<125 µl pro 2,5 cm Kreis, < 75 µl pro 2 cm Kreis) in einer konzentrischen Kreisbewegung auf die Karte innerhalb des markierten Kreises. Vermeiden Sie zu große Mengen Blut, da diese die Chemikalien auf der Karte überladen würden. Verreiben oder verschmieren Sie das Blut nicht auf der Karte.
3. Die auf FTA-Karten aufgetragenen Proben können direkt bei Zimmertemperatur gelagert werden.  
**Hinweis:** Werden die Proben kurz nach dem Auftragen auf FTA-Karten analysiert, so lassen Sie diese vor der Ausstanzung eine Stunde bei Zimmertemperatur trocknen. Bitte nicht erhitzen um die Trocknungsdauer zu verkürzen.
4. Bitte beachten Sie: Trockene Blutstropfen erscheinen dunkler als frische. Diese Farbänderung ist normal und bedeutet keinen Verlust der Probe.
5. Die Probe ist jetzt für *downstream*-Applikationen bzw. zur Archivierung bereit.

#### Sammeln und Auftragen von bukkalen Zellproben:

1. Legen Sie die FTA-Karte (wir empfehlen die FTA-Farbindikatorkarte) auf eine saubere, trockene und flache Oberfläche. Markieren Sie die Karte mit der jeweiligen Probenbezeichnung.
2. Entnehmen Sie den Schwammapplicator laut Anweisung aus der Schutzverpackung.
3. Halten Sie den Kunststoffgriff des Applikators, legen Sie den Schwammkopf in den Mund und reiben Sie die Innenwange 30 Sekunden lang mit einer Seite des Schwammkopfes. Wiederholen Sie diesen Vorgang, indem Sie die andere Seite des Schwammkopfes für die zweite Wangeninnenseite benutzen. Führen Sie den Schwammkopf am Zahnfleisch und an den Wangenfalten entlang sowie unter der Zunge. Saugen Sie so viel Speichelflüssigkeit wie möglich auf. Entnehmen Sie den Applikator aus dem Mund.
4. Heben Sie das Papierdeckblatt der FTA-Farbindikatorkarte an, um den rosaroten Probenbereich freizulegen. Drücken Sie die flache Oberfläche des Applikatorenkopfes innerhalb des Probenkreises auf die Karte. Ohne den Schwammkopf von der Karte anzuheben, drücken Sie den Kopf aus, indem Sie den Griff von einer Seite zur anderen drehen (90° in jeder Richtung). Drücken Sie dreimal, um das Probenfeld vollständig

- durchzutrinken. Drehen Sie den Applikator jetzt um und wiederholen Sie den Vorgang mit der anderen Seite des Kopfes im selben Kreis. Das Probenfeld wird sich weiß verfärben und die Position der Probe anzeigen.
5. Werden keine Farbindikatorkarten eingesetzt, so kreisen Sie die Position der Probe mit einem Kugelschreiber oder Bleistift ein.
  6. Entsorgen Sie den Applikator gemäß den Laborrichtlinien. Führen Sie das Schwammstäbchen nach Berührung mit der FTA-Karte nicht wieder in den Mund ein.
  7. Werden bukkale Zellen auf mehrere FTA-Kreise auftragen, benutzen Sie bitte immer einen neuen Applikator und wiederholen Sie die Schritte 1 bis 6.
  8. Die auf FTA-Karten aufgetragenen Proben können direkt bei Zimmertemperatur gelagert werden.  
**Hinweis:** Werden die Proben kurz nach dem Auftragen auf FTA-Karten analysiert, so lassen Sie diese vor der Ausstanzung eine Stunde bei Zimmertemperatur trocknen. Bitte nicht erhitzen um die Trocknungsdauer zu verkürzen.
  9. Die Probe ist jetzt für *downstream*-Applikationen bzw. zur Archivierung bereit.

#### Auftragen von Gewebe- und Zellkulturproben:

1. Bei Gewebekulturzellen wird eine Konzentration von >100 Zellen / µl für die DNA-Analyse und >1000 Zellen / µl für die RNA-Analyse in Medium, Trypsin oder PBS-Puffer auf die FTA-Karten aufgetragen. Ca. 65 µl der Probe wird benötigt, um einen 2,5 cm Kreis auf der FTA-Karte zu füllen.
2. Die auf FTA-Karten aufgetragenen Proben können direkt bei Zimmertemperatur gelagert werden.  
**Hinweis:** Werden die Proben kurz nach dem Auftragen auf FTA-Karten analysiert, so lassen Sie diese vor der Ausstanzung eine Stunde bei Zimmertemperatur trocknen. Bitte nicht erhitzen um die Trocknungsdauer zu verkürzen.
3. Die Probe ist jetzt für *downstream*-Applikationen bzw. zur Archivierung bereit.

#### Auftragen von pflanzlichen Proben:

##### Direktes Pressen der Blätter:

1. Legen Sie das Blattmaterial direkt auf die FTA-Karte. Bedecken Sie das Blatt mit etwas Parafilm.
2. Drücken bzw. schlagen Sie das Blatt leicht mit einem stumpfen Gegenstand, z.B. einem Hammer oder Pistill.
3. Wenn der Extrakt auf der Rückseite der FTA-Karte sichtbar wird, ist der Sammelprozess beendet.
4. Die auf FTA-Karten aufgetragenen Proben können direkt bei Zimmertemperatur gelagert werden.  
**Hinweis:** Werden die Proben kurz nach dem Auftragen auf FTA-Karten analysiert, so lassen Sie diese vor der Ausstanzung eine Stunde bei Zimmertemperatur trocknen. Bitte nicht erhitzen um die Trocknungsdauer zu verkürzen.

- Die Probe ist jetzt für *downstream*-Applikationen bzw. zur Archivierung bereit.

#### **Pflanzengewebehomogenat:**

- Verwenden Sie ca. 10-20 mg Pflanzengewebe für das Homogenat.
- Fügen Sie dem Pflanzengewebe ca. 5 Volumina PBS-Puffer zu. Zermahlen sie das Gewebe mit einem Pistill bis ein Teil der Pflanzengewebe deutlich homogenisiert wird. Das Homogenat braucht in der Konsistenz nicht glatt zu sein.
- Mit einer Pipette tragen Sie ca. 25 µl des Pflanzenhomogenates auf jeden Kreis der FTA-Karte auf.
- Die auf FTA-Karten aufgetragenen Proben können direkt bei Zimmertemperatur gelagert werden.

- Hinweis:** Werden die Proben kurz nach dem Auftragen auf FTA-Karten analysiert, so lassen Sie diese vor der Ausstanzung eine Stunde bei Zimmertemperatur trocknen. Bitte nicht erhitzen um die Trocknungsdauer zu verkürzen.
- Die Probe ist jetzt für *downstream*-Applikationen bzw. zur Archivierung bereit.

#### **Auftragen bakteriellen Proben (für bakterielle genomische DNA)**

- Nehmen Sie eine Agarkolonie und lösen Sie diese in 5-10 µl bakteriellem Kulturmedium, PBS- oder TE<sup>-1</sup>-Puffer (10 mM Tris-HCl, 0,1 mM EDTA, pH 8,0).
- Tragen Sie 5-10 µl bakterieller Suspension auf die FTA-Karte auf, (wir empfehlen Farbindikatorenkarten). Werden keine Farbindikatorenkarten eingesetzt, so kreisen Sie die Position der Probe mit einem Kugelschreiber oder Bleistift ein.
- Die auf FTA-Karten aufgetragenen Proben können direkt bei Zimmertemperatur gelagert werden.  
**Hinweis:** Werden die Proben kurz nach dem Auftragen auf FTA-Karten analysiert, so lassen Sie diese vor der Ausstanzung eine Stunde bei Zimmertemperatur trocknen. Bitte nicht erhitzen um die Trocknungsdauer zu verkürzen.
- Die Probe ist jetzt für *downstream*-Applikationen bzw. zur Archivierung bereit.

#### **Bakterielle über-Nacht-Kulturen:**

- Nehmen Sie ca. 65 µl einer über Nacht vorbereiteten Kultur and und tragen Sie diese auf die FTA-Karte auf (wir empfehlen Farbindikatorenkarten). Werden keine Farbindikatorenkarten eingesetzt, so kreisen Sie die Position der Probe mit einem Kugelschreiber oder Bleistift ein.
- Die auf FTA-Karten aufgetragenen Proben können direkt bei Zimmertemperatur gelagert werden.

- Hinweis:** Werden die Proben kurz nach dem Auftragen auf FTA-Karten analysiert, so lassen Sie diese vor der Ausstanzung eine Stunde bei Zimmertemperatur trocknen. Bitte nicht erhitzen um die Trocknungsdauer zu verkürzen.
- Die Probe ist jetzt für *downstream*-Applikationen bzw. zur Archivierung bereit.

#### **Archivierung der Proben auf FTA-Karten:**

Die auf FTA-Karten aufgetragenen biologischen Proben werden bei Zimmertemperatur in einer Multi-Barrier Tasche mit einem Trockenmittel archiviert bzw. in einer Feuchtekontrollierten, kühlen und trockenen Umgebung gelagert. Proben für die RNA-Analyse sollen bei -20 °C (bzw. -70 °C bei Langzeitlagerung) gelagert werden.

#### **Vorbereitung von DNA-Proben für die *downstream*-Analyse:**

- Stechen Sie eine Probenscheibe aus dem Probenfeld heraus. Eine 1,2 mm Scheibe wird für Blutproben und bakteriell genomische DNA-Proben empfohlen. Benutzen Sie eine 2,0 mm Scheibe für sonstige Proben. Legen Sie die Probenscheibe in ein PCR-Röhrchen.
- Fügen Sie in das PCR-Röhrchen 200 µl FTA-Aufreinigungsreagenz hinzu.
- Inkubieren Sie für 5 Minuten bei Raumtemperatur, der Inhalt des Röhrchens kann bei Bedarf leicht gemischt werden.
- Entfernen und entsorgen Sie das verbrauchte Aufreinigungsreagenz mit einer Pipette.
- Wiederholen Sie die Schritte 2-4 zweimal, für insgesamt drei Waschgänge mit FTA-Aufreinigungsreagenz.
- Fügen Sie 200 µl TE<sup>-1</sup>-Puffer (10 mM Tris-HCl, 0,1 mM EDTA, pH 8,0) in das PCR-Röhrchen hinzu.
- Inkubieren Sie für 5 Minuten bei Raumtemperatur.
- Entfernen und entsorgen Sie das verbrauchte Aufreinigungsreagenz mit einer Pipette.
- Wiederholen Sie Schritte 6-8 einmal für insgesamt zwei Waschgänge mit TE<sup>-1</sup>-Puffer.
- Lassen Sie die Scheibe bei Zimmertemperatur für ca. eine Stunde trocknen. Sie können den Trocknungsvorgang der Scheibe durch Wärme bei 56 °C auf 10 Minuten beschleunigen. Die FTA-Scheibe ist jetzt einsatzfähig für die PCR.

Wird die Probenscheibe von einer pflanzlichen oder bakteriellen Kultur aufgereinigt, sind lediglich zwei Waschgänge mit dem FTA-Aufreinigungsreagenz notwendig.

#### **Downstream-PCR-Aufwendungen:**

Die gewaschene, getrocknete Scheibe kann jetzt für die PCR-Analyse eingesetzt werden. Für eine 25 µl Reaktion empfehlen wir eine 1,2 mm Scheibe bei Blutproben und eine 2,0 mm Scheibe für bukkale und bakterielle Proben. Die Scheibe wird direkt als Template in die PCR-Reaktion eingesetzt. Keine Änderungen der PCR-Reaktionsmischung bzw. der Zyklusbedingungen sind erforderlich.

Weitere Protokollinformationen erhalten Sie unter [info@carlroth.de](mailto:info@carlroth.de), oder gehen Sie zu [WWW.WHATMAN.com](http://WWW.WHATMAN.com) für das Anwendungshandbuch.

<b>FTA® Karten MINI</b>		CL90.1
<b>FTA® Karten MINI mit Farbindikator</b>		CL91.1
<b>FTA® Tasche MINI</b>		CL92.1
<b>FTA® Karten CLASSIC</b>		CL93.1
<b>FTA® Karten CLASSIC mit Farbindikator</b>		CL94.1
<b>FTA® Tasche MAXI</b>		CL95.1
<b>FTA® Aufreinigungsreagenz</b>		CL99.1
<b>FTA® Schwammappikator</b>		HP14.1
<b>Harris Uni-Core Stanzen 1 mm</b>	25 Stck	6729.1
<b>Harris Uni-Core Stanzen 1.2 mm</b>	4 Stck*	HP15.1
	25 Stck	HP15.2
<b>Harris Uni-Core Stanzen 2 mm</b>	4 Stck*	HP16.1
	25 Stck	HP16.2
<b>Harris Uni-Core Stanzen 3 mm</b>	4 Stck*	6798.1
	25 Stck	6798.2
<b>Harris Uni-Core Stanzen 6 mm</b>	4 Stck*	6799.1
	25 Stck	6799.2

\* inkl. 2 Schneidematten

#### ***Carl Roth GmbH + Co. KG***

Schoemperlenstraße 3-5  
76185 Karlsruhe  
Postfach 100121  
76231 Karlsruhe  
Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0  
Telefax: +49 (0) 721/ 5606-149  
E-Mail: [info@carlroth.de](mailto:info@carlroth.de)  
Internet: [www.carlroth.de](http://www.carlroth.de)

gh 01/2020