

DNA 全血キット
QuickGene-AutoS DNA Blood Kit
(AS-DB)

Contents

1. はじめに	4
2. キット内容物と保存条件	4
2 - 1. キット内容物	4
2 - 2. 保存条件	4
2 - 3. 試薬ストリップの内容物	5
3. キット以外にご準備いただくもの	5
4. 取扱上の安全注意事項	6
5. 使用上の注意事項	8
6. 品質管理	9
7. 製品説明	9
8. プロトコル	10
8 - 1. 試薬の準備	10
8 - 2. 試薬ストリップの準備	11
8 - 3. サンプルの準備	11
8 - 4. QG-Auto12S/QG-Auto24S 分離操作	12
9. トラブルシューティング	13
10. オーダーリング・インフォメーション	16

ご注意

本キットに含まれる試薬は、すべて研究用試薬です。
診断および臨床用試薬として使用しないでください。

1. はじめに

本キットは、QuickGene-Auto12S(以下 QG-Auto12S)、あるいは QuickGene-Auto24S(以下 QG-Auto24S)の抽出工程で使用する試薬を処理サンプル個別に封入した ready-to-use の試薬キットです。

本キットの特徴は以下のとおりです。

- 本キットと QG-Auto12S、あるいは QG-Auto24S をご使用いただくことにより、簡便・迅速に全血(200 µl)からゲノムDNAを抽出することができます。
- 抽出時間は以下のとおりです。
 - ・ QG-Auto12S: 約 23 分 * 12 サンプル同時に抽出操作を行うことができます。
 - ・ QG-Auto24S: 約 23 分 * 24 サンプル同時に抽出操作を行うことができます。
- 高純度(タンパク質やカオトロピック塩を含まない)のゲノムDNAが得られます。得られた高品質のゲノムDNAはPCR、制限酵素処理、NGS解析などのアプリケーションに適しています。

2. キット内容物と保存条件

2 - 1. キット内容物

以下の内容物が入っていますので確認してください。

キットには 48 処理分のゲノム DNA 抽出試薬と消耗品が含まれています。

☐ Protease(凍結乾燥品) EDB	1 本
☐ 試薬ストリップ	48 個
☐ 1 ml Long Tips	48 個
☐ Waste Tubes	48 個

2 - 2. 保存条件

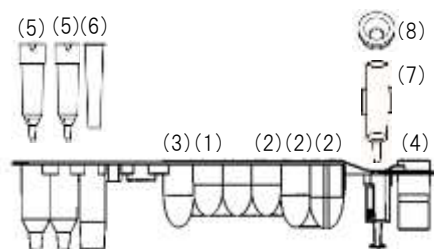
指定の温度(15℃～28℃)で保存してください。有効期限は外箱に表示しています。溶解した EDB を冷蔵で保存した場合、2 ヶ月間安定です。

溶解後の EDB を - 20℃で保存することで酵素の安定期間を長くすることが可能です。その場合は少量ずつ分注するなどして、凍結、融解の繰り返しは避けてください。

2 - 3. 試薬ストリップの内容物

試薬ストリップ 1 本あたり、以下の内容物が入っています。

☐	Lysis Buffer	LDB	270 μ l		下図(1)
☐	Wash Buffer	WDB	750 μ l	x 3 箇所	下図(2)
☐	(>99%) Ethanol	EtOH	270 μ l		下図(3)
☐	Elution Buffer	CDB	250 μ l		下図(4)
☐	Short Tip		2 個		下図(5)
☐	Tip pack		1 個		下図(6)
☐	Cartridge		1 個		下図(7)
☐	Pressure Adapter		1 個		下図(8)



3. キット以外にご準備いただくもの

①試薬

- ヌクレアーゼフリー水 (EDB の溶解に使用)

②器具・機材

- QuickGene-Auto12S/QuickGene-Auto24S
- マイクロピペット
- マイクロピペット用チップ
- 2 ml マイクロチューブ (サンプル用)

推奨品: BM 機器 Cat. BM4020、SARSTEDT Cat.72.695.700、Cat.72.695.500S

推奨品以外のチューブを使用する場合は、事前にストリップ及び装置ヒーター部分との適合性を確認してください。

- 1.5 ml or 2 ml マイクロチューブ (DNA 回収用に使用)

推奨品: BM 機器 Cat.BM4015、SARSTEDT Cat.72.706.700

推奨品以外のチューブを使用する場合は、事前にコレクションホルダーとの適合性を確認してください。

4. 取扱上の安全注意事項

◆ EDB (Protease)

取扱上のご注意：● 目に入れたり、飲んだりしないでください。

● 目、皮膚および衣服についたときには、水で十分に洗ってください。

◆ LDB (Lysis Buffer)

薬品の特性：● 飲むと有害の可能性があります。

取扱上のご注意：● 目に入れたり、飲んだりしないでください。

● 目、皮膚および衣服についたときには、水で十分に洗ってください。

● この薬品を扱う場合は適切な保護手袋および保護めがねを着用してください。

◆ WDB (Wash Buffer)

薬品の特性：● 引火性の液体を含むので、火気に十分注意してください。

取扱上のご注意：● 目に入れたり、飲んだりしないでください。

● 火気に注意するとともに、吸入、皮膚への接触に十分注意してください。

● 目、皮膚および衣服についたときには、水で十分に洗ってください。

◆ CDB (Elution Buffer)

取扱上のご注意：● 目に入れたり、飲んだりしないでください。

● 目、皮膚および衣服についたときには、水で十分に洗ってください。

◆ EtOH (Ethanol)

薬品の特性：● 引火性の高い液体なので、火気に十分注意してください。

取扱上のご注意：● 目に入れたり、飲んだりしないでください。

● 火気に注意するとともに、吸入、皮膚への接触に十分注意してください。

● 目、皮膚および衣服についたときには、水で十分に洗ってください。

◆ 試薬ストリップは、指定の温度(15℃～28℃)以外での使用、保存は避けてください。

◆ LDB を含む溶液や廃液は、絶対に漂白剤と混合しないでください。

◆ 感染性のおそれのあるサンプルを使用する場合

感染性のおそれのあるサンプルを扱う場合は、適切な保護具を着用してください。

◆ 感染性のおそれのあるサンプルを使用し、廃棄する場合

感染性産業廃棄物に該当しますので、関連する法に従い、焼却、溶解、滅菌、消毒などの処理をしてください。なお、処分業者に委託する場合は、特別管理産業廃棄物処分の許可を受けた業者へ、特別管理産業廃棄物管理票(マニフェスト)を添えて処理を委託してください。

◆ 参考情報

各試薬の性状および取り扱いに関する詳細情報は、SDS(安全データシート)をお読みください。SDSは弊社ホームページ(<https://www.kurabo.co.jp/bio/>)からダウンロードできます。

5. 使用上の注意事項

◆サンプルに関する注意事項

- 検体の容量が 200 μ l 以下の場合は、PBS(滅菌済)等で希釈して 200 μ l になるように調整してください。
- EDTA・2NA、EDTA・2K またはヘパリンで採血した全血を使用してください。
- 全血はできる限り採血 3 日以内のものを使用してください。それ以上保存した後の血液を用いた場合、収量低下や DNA の分解を生じることがあります。
- 白血球が 2×10^6 個を超えた場合、ゲノム DNA 収量が低下することがあります。この場合は PBS(滅菌済)等で希釈して 2×10^6 個以下になるように調整してください。
- また、白血球数が 5×10^6 個を超えた場合、カートリッジが詰まる可能性があります。PBS(滅菌済)等で希釈して抽出を行うことをおすすめします。

◆試薬に関する注意事項

- EDB にヌクレアーゼフリー水を添加後は時々攪拌しながら室温に 30 分以上置き、粉末が完全に溶解していることを確認してからお使いください。溶解が不十分の場合、目的の収量が得られないことやカートリッジ(CA)が詰まる場合があります。

◆操作に関する注意事項

- 運転開始前に、以下の点を確認してください。
 - コレクションホルダーに Waste Tube、1.5 ml or 2 ml マイクロチューブ(回収用容器)がセットされていること
 - 試薬ストリップに 1 ml Long Tip、2 ml マイクロチューブ(全血と EDB 入り)がセットされていること
 - 試薬ホルダーに試薬ストリップが正常にセットされていること
 - 試薬ホルダーの蓋が完全に閉まっていること
 - 試薬ホルダー、コレクションホルダーがホルダーガイドに正しくセットされていること
- すべての操作は室温(15~28℃)で行ってください。低温または高温での使用の場合、キットの性能が発揮されないことがあります。詳しい作業環境情報については、QG-Auto12S/24S 本体取扱説明書をお読みください。
- やむを得ない場合を除き、運転の途中で装置の電源を切らないでください。同じ工程からの運転再開はできません。
- 詳しくは、QG-Auto12S/24S の本体取扱説明書をお読みください。

6. 品質管理

- 品質管理基準を設け、全てのロットで品質に問題のないことを確認しています。
- ゲノム DNA の収量や品質は 260 nm の吸光度、260 nm/280 nm の吸光度比によって確認しています。

7. 製品説明

本キットを使用して全血(200 µl から抽出したゲノム DNA 収量および純度(A260/280)を表 1 に示します。

収量はサンプルの状態により変動します。

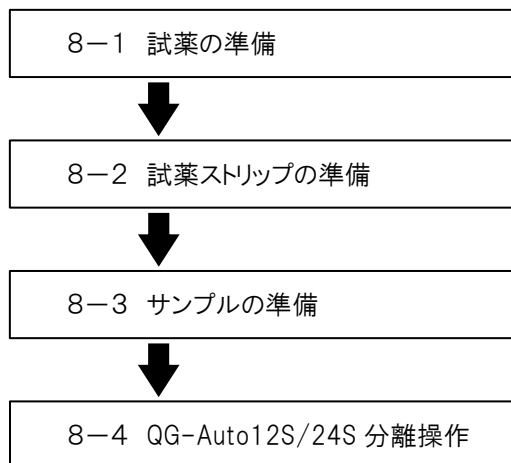
表 1

サンプル	ゲノムDNA収量(µg)	A260／280
全血(200 µl)	5. 8	1. 95

※本キットを使用した場合、DNA と RNA が溶液中に回収されます。

8. プロトコール

〔Overview Flow Chart〕



8 - 1. 試薬の準備

◆EDB(凍結乾燥品)

凍結乾燥品を含む瓶に 3.3 ml のヌクレアーゼフリー水を添加し、完全に溶解させてください。溶解後の EDB は冷蔵(4℃)で保存する場合、2 カ月間安定です。溶解後の EDB を - 20℃で保存することで、2 か月より安定期間を長くすることが可能です。その場合は少量ずつ分注するなどして、凍結、融解の繰り返しは避けてください。



ご注意

EDB は以下の方法で完全に溶解させてから使用してください。

3.3 ml のヌクレアーゼフリー水を添加後、蓋をして転倒混和します。

時々攪拌しながら室温に 30 分以上置き、粉末が完全に溶解していることを確認してから使用してください。溶解が不十分の場合、目的の収量が得られないことやカートリッジが詰まることがあります。

8 - 2. 試薬ストリップの準備

- 試薬ストリップ、各チューブを使用する際はスクレアーゼの混入を避けるため、手袋を着用してください。
- 詳しくは QG-Auto12S/QG-Auto24S の本体取扱説明書をお読みください。

<1> 作業台にコレクションホルダーと試薬ホルダーを準備します。

<2> コレクションホルダーに Waste Tube と、1.5 ml あるいは 2 ml マイクロチューブをセットします。

<3> 試薬ストリップを箱から取り出して試薬ホルダーにセットし、1 ml Long Tip を所定の位置に挿します。試薬ストリップの内容物が正しい位置にセットされていることを確認してください。

8 - 3. サンプルの準備



ご注意

<1>から<3>の工程の順序は必ずお守りください。

順序を変えた場合、目的の収量が得られない可能性があります。

- 感染リスクを抑えるため、適切な保護具を着用してください。
- 試薬ストリップ、各チューブを使用する際はスクレアーゼの混入を避けるため、手袋を着用してください。
- 詳しくは QG-Auto12S/QG-Auto24S の本体取扱説明書をお読みください。

<1> EDB(スクレアーゼフリー水で溶解済)30 μ l を 2 ml マイクロチューブの底に添加します。

2 ml マイクロチューブ推奨品: BM 機器 Cat.BM4020

SARUSTEDT Cat.72.695.700、Cat.72.695.500S

<2> 全血 200 μ lを添加します。

<3> 2 ml マイクロチューブ(全血と EDB 添加済)を試薬ストリップの所定の位置にセットします。

8 - 4. QG-Auto12S/QG-Auto24S 分離操作

- 運転開始前に QG-Auto12S/QG-Auto24S の取扱説明書をよくお読みください。
- 試薬ストリップ、各チューブを使用する際はスクレーパーの混入を避けるため、手袋を着用してください。

<1> コレクションホルダーと試薬ホルダーを装置にセットします。

<2> 装置本体の電源を入れます。

初期チェックと初期動作を行った後、ホームポジションに停止します。

<3> ホーム画面で「DNA WHOLE BLOOD」を選択します。

<4> 「Elution Volume」欄でご希望の溶出液量を選択します。

<5> 「Check List」欄に記載のある消耗品が、試薬ホルダーとコレクションホルダー、あるいは試薬カートリッジに装填されていることを確認します。装填されていればチェックボックスをタッチしてチェックマークを入れます。

<6> 「Next」ボタンをタッチします。

<7> 「Protocol Information」の記載内容を確認して「Start」ボタンをタッチすると運転が開始されます。

- 抽出操作が始まると操作パネルに抽出工程が表示されます。
- 運転状況は工程名 (LYSIS, BINDING, WASH, ELUTE, FINISH) の点滅によって確認できます。
- 運転中は本体のフロントドアを開けないでください。万一フロントドアを開けた場合は、QG-Auto12S/QG-Auto24S の取扱説明書をお読みになって動作を再開してください。
- 一時停止をする場合は、操作パネルの「Pause」ボタンをタッチしてください。終了の確認画面が表示されますので、「Yes」を押して終了してください。

<8> 運転が終了するとビーブ音が鳴り、工程名が「FINISH」と表示され点滅します。

装置が完全に停止していることを確認した後、フロントドアを開け、試薬ホルダーとコレクションホルダーを取り出し、回収チューブを取り出します。

- 全血 200 μ l からの標準的なゲノム DNA 回収量は 4~8 μ g です。
- すぐに DNA を使用しない場合はチューブの蓋をしっかりと閉め、4℃または-20℃で保存してください。長期間ゲノム DNA を保存する場合は -20℃での保存をお勧めします。

9.トラブルシューティング

トラブルが生じた場合には、以下の対策を参照してください。

(1)DNAの収量が低い、DNAが得られない

原 因	対 策
全血の保存方法が不適切	全血は、できる限り採血後 3 日以内のものを使用してください。長期間保存した後の血液を用いた場合、収量の低下やDNAの分解が生じることがあります。
EDBの溶解が不十分	ヌクレアーゼフリー水を添加後、時々攪拌しながら室温に30分以上置き、粉末が完全に溶解していることを確認してから使用してください。
EDBの酵素活性が不十分	溶解したEDBは冷蔵(4℃)で保存する場合、2 カ月間安定です。2 カ月以上保存されたEDBは使用しないでください。溶解後のEDBを - 20℃に保存することで、酵素の安定期間を長くすることが可能です。その場合は少量ずつ分注するなどして、凍結、融解の繰り返しは避けてください。
試薬、全血の添加順序が不適切	サンプルの準備において、2 mlマイクロチューブには、EDB(ヌクレアーゼフリー水 3.3 mlで溶解済み)→全血の順で添加してください。
全血量が不適切	全血量が多すぎる場合は、所定量(200 μ l)まで減らしてください。全血量が所定量(200 μ l)以下の場合には、PBS等で希釈して 200 μ l になるように調整してください。
白血球数が多すぎる	白血球数が 2×10^6 個を超えた場合、DNA収量が低下することがあります。その場合は、PBS等で希釈して 2×10^6 個以下になるように調整してください。
DNAの分解	(3)「DNAが分解した」参照

(2)カートリッジ(CA)が詰まった

原 因	対 策
全血量が多すぎる	所定量(200 μ l)まで全血量を減らしてください。
白血球数が多すぎる	白血球数が 5×10^6 個を超えた場合、カートリッジが目詰まりを起こす可能性があります。 2×10^6 個を超えた場合、DNA収量が低下しますのでPBS等で希釈して 2×10^6 個以下になるように調製して抽出を行うことをお勧めします。

(3)DNAが分解した

原 因	対 策
全血の保存方法が不適切	全血は、できる限り採血後 3 日以内のものを使用してください。長期間保存した後の血液を用いた場合、収量の低下やDNAの分解が生じることがあります。

(4)DNAの純度が低い

原 因	対 策
全血の保存方法が不適切	全血は、できる限り採血後 3 日以内のものを使用してください。長期間保存した後の血液を用いた場合、収量の低下やDNAの分解が生じることがあります。
EDBの酵素活性が不十分	溶解したEDBは冷蔵(4℃)で保存する場合、2 カ月間安定です。2 カ月以上保存されたEDBは使用しないでください。溶解後のEDBを - 20℃に保存することで、酵素の安定期間を長くすることが可能です。その場合は少量ずつ分注するなどして、凍結、解凍の繰り返しは避けてください。

(5)PCRなど、続けて行う実験がうまくいかない

原 因	対 策
使用したDNA量が不適切	260 nm 吸光度から濃度を確認してください。
DNAの純度が低い	(4)「DNAの純度が低い」参照
DNAの分解	(3)「DNAが分解した」参照

(6)試薬に析出物が生じた

原 因	対 策
低温で保存している	指定の温度(15～28℃)で保存してください。 析出物が生じた場合は、37℃で溶解後、室温に戻してから使用してください。

10. オーダーリング・インフォメーション

製 品	内 容	Cat #
QuickGene-AutoS DNA Blood Kit	48 回入	AS-DB
QuickGene-AutoS DNA Tissue Kit	48 回入	AS-DT
QuickGene-AutoS Plasmid Kit	48 回入	AS-PL
QuickGene-AutoS RNA Blood Kit	48 回入	AS-RB
QuickGene-AutoS RNA Tissue Kit	48 回入	AS-RT
QuickGene-AutoS RNA Cultured Cell Kit	48 回入	AS-RC

＊トレードマークと免責事項

本取扱説明書に記載されている登録名などは、特に表示がない場合でも法律によってその権利が保証されています。



●製造元

倉敷紡績株式会社

環境メカトロニクス事業部 バイオメディカル部

〒572-0823 大阪府寝屋川市下木田町14-30

TEL (072) 820-3079 FAX (072) 820-3095

URL; <http://www.kurabo.co.jp/bio/>

AS-DB_HB-J_V11