

RNA FFPE キット  
QuickGene-AutoS RNA FFPE Kit  
(AS-RF)

---

# 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 .....         | 6  |
| 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. プロトコール .....                  | 9  |
| 8 - 1. 試薬の準備 .....               | 10 |
| 8 - 2. ライセート作製プロトコール .....       | 11 |
| 8 - 3. 試薬ストリップの準備 .....          | 11 |
| 8 - 4. QG-Auto12S/24S 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 .....      | 13 |

## 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 FFPE(ホルマリン固定パラフィン包埋)切片サンプルから total RNA 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 115 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 115 分 \* 24 サンプル同時に抽出操作を行うことができます。
- タンパク質やカオトロピック塩を含まない、高純度の total RNA が得られます。得られた高品質の total RNA は PCR 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。

|                                                         |      |
|---------------------------------------------------------|------|
| <input type="checkbox"/> DRF (Deparaffinization Buffer) | 1 本  |
| <input type="checkbox"/> ERF (ProteinaseK)              | 1 本  |
| <input type="checkbox"/> 試薬ストリップ                        | 48 個 |
| <input type="checkbox"/> 1 ml Long Tips                 | 48 個 |
| <input type="checkbox"/> Waste Tubes                    | 48 個 |

### 2 - 2. 保存条件

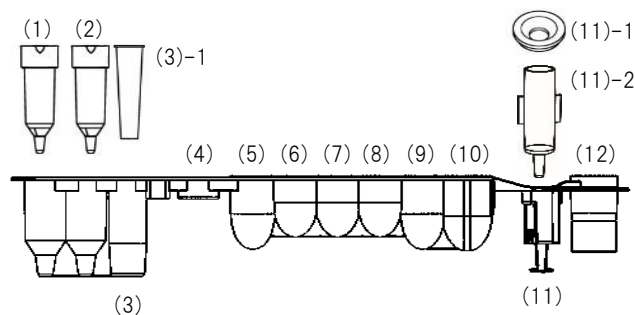
指定の温度(15℃～28℃)で保存してください。有効期限は外箱に表示しています。より安定に保つため ERF 開梱後、冷蔵(2～8℃)で保存することをお勧めします。

## 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。

| ウェル番号  | 構成名・試薬名・用途                | 区分  | 規格               |
|--------|---------------------------|-----|------------------|
| (1)    | Short Tip                 | 成型品 | 2 個/ストリップ        |
| (2)    | Short Tip                 | 成型品 |                  |
| (3)    | 1 ml Long Tip 挿入位置        | 成型品 | 1 個/ストリップ        |
| (3)-1  | Tip Pack                  |     | 1 個/ストリップ        |
| (4)    | Sample tube セット位置         |     | 1 個/ストリップ        |
| (5)    | MRF (Tissue Lysis Buffer) | 試薬  | 240 $\mu$ l/ウェル  |
| (6)    | LRF (Lysis Buffer)        | 試薬  | 190 $\mu$ l/ウェル  |
| (7)    | DNase solution※           | 試薬  |                  |
| (8)    | EtOH ( >99% ) Ethanol )   | 試薬  | 400 $\mu$ l/ウェル  |
| (9)    | WRF (Wash Buffer)         | 試薬  | 750 $\mu$ l/ウェル  |
| (10)   | WRF (Wash Buffer)         | 試薬  | 1500 $\mu$ l/ウェル |
| (11)   | Cartridge セット位置           | 成型品 | 1 個/ストリップ        |
| (11)-1 | Pressure Adapter          |     | 1 個/ストリップ        |
| (11)-2 | Cartridge                 |     | 1 個/ストリップ        |
| (12)   | CRF (Elution Buffer)      | 試薬  | 500 $\mu$ l/ウェル  |

※DNase 処理ありの場合に使用



---

### 3. キット以外にご準備いただくもの

#### ①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. 4020、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(RNA 回収用に使用)

推奨品：BM 機器 Cat.BM4015、Cat.BM4020、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。

- チューブスタンド
- マイクロ遠心機(12,000rpm 程度の遠心が可能なもの)
- ボルテックスミキサー

※必要に応じて用意していただく試薬

- DNase  
[推奨品]
  - ・RQ1 RNase-Free DNase (Promega:Cat. No. M6101)
  - ・Deoxyribonuclease(RT Grade) (ニッポンジーン:Cat. No. 313-03161)
  - ・DNase I, RNase-Free (Thermo Fisher Scientific:Cat. No. AM2222)
  - ・RNase-Free DNase Set (QIAGEN:Cat. No. 79254)

### 4. 取扱上の安全注意事項

#### ◆DRF (Deparaffinization 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。
- この薬品を扱う場合は、適切な保護手袋および保護メガネを着用してください。

#### ◆ERF (Proteinase K)

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。

#### ◆MRF (Tissue Lysis 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。
- 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。

#### ◆LRF (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。

#### ◆WRF (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。

#### ◆CRF (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。

◆ LRF 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

- 本キットは基本的に厚さ 5～10μm FFPE 切片 1 枚～10 枚からの total RNA の分離に対応しています。

表1:処理可能 FFPE 切片量

マウス胎仔(18.5d)での例です。 ※組織面積 120 mm<sup>2</sup> までの対応となります。

| 厚さ    | 枚数   |
|-------|------|
| 5 μm  | 1～10 |
| 10 μm | 1～5  |

- 処理可能 FFPE 切片量は組織の状態、部位などにより変動します。組織部位、状態、パラフィンの状態によっては処理可能組織量が表1に示した量より少なくなることもあります。
- 本キットではじめて分離されるサンプルの場合は、厚さ 5 μm FFPE 切片 1～10 枚から分離をスタートし、予備実験を行ってください。
- 処理可能量を超えた組織量をオーバーロードしてしまうと、性能が顕著に低下します。場合によっては、カートリッジ(CA)が目詰まりを起こす可能性があります。
- 目詰まりが発生した場合は、試薬ホルダー、コレクションホルダーを洗浄してください。

### ◆試薬に関する注意事項

- MRF は保存中に析出物を生じることがあります。析出物が生じた場合、室温に戻してから使用してください。

### ◆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。
  - 試薬ストリップの(5)の位置に ERF 40 μL を添加したこと。
  - 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(FFPE 切片入り)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
  - 試薬ホルダーのフタ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-Auto12 S/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。

# 7. 製品説明

本キットは、厚さ 5～10 μm の FFPE 切片からの total RNA の分離に対応します。  
マウス正常組織より本キットを用いて分離した際の total RNA 収量、純度例(A260/280)は表 2のとおりです。

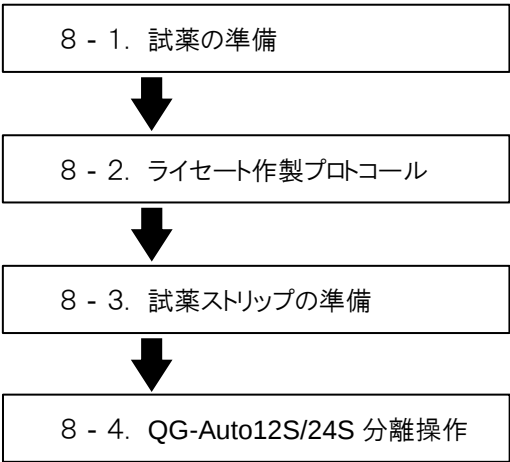
表 2 total RNA の収量例

| 組織    | 切片         | 収量例     | A 2 6 0 / 2 8 0 |
|-------|------------|---------|-----------------|
| マウス胎仔 | 10μm x 3 枚 | 29.1 μg | 2.0             |

- 収量はサンプルの状態により変動します。
- CRF 量の標準量は 100 μl です。最低回収量は 50 μl まで設定可能ですが、溶出効率が低下する可能性があります。

# 8. プロトコール

## [Overview Flow Chart]



## 8 - 1. 試薬の準備

### ◆DRF

使用前に十分混合してください。

### ◆DNase 溶液(DNase 処理をする場合)

以下の表に従い、DNase 溶液を調整してください。

調整後は試薬ストリップの指定の箇所(p.5 試薬ストリップ内容物を参照)に添加してください。

### ◇各社推奨 DNase 溶液調整

| 製品名                                | メーカー名                    | Cat.No.   | 調整方法 | 終濃度                   |
|------------------------------------|--------------------------|-----------|------|-----------------------|
| RQ1 RNase-Free DNase               | Promega                  | M6101     | 1    | 20U/40 µl             |
| DNase I, Amplification Grade       | Thermo Fisher Scientific | 18068-015 |      |                       |
| DNase I, Amplification Grade       | Sigma-Aldrich            | AMP-D1    |      |                       |
| Deoxyribonuclease (RT Grade)       | ニッポンジーン                  | 313-03161 |      |                       |
| DNase I, RNase-Free                | Thermo Fisher Scientific | AM2222    | 2    | 40U/40 µl             |
| RNase-Free DNase Set <sup>※1</sup> | QIAGEN                   | 79254     | 3    | 3.4Kunitz units/40 µl |

※1: 1,500Kunitz units の入ったボトルに添付の RNase フリー水を 550 µl 添加後、DNase ストック溶液を調整してください(DNase 添付の取扱説明書も参照してください)。

#### 調整方法 1)

|                     |       |
|---------------------|-------|
| 1U / µl DNase I     | 20 µl |
| 10× Reaction Buffer | 4 µl  |
| ヌクレアーゼフリー水          | 16 µl |

#### 調整方法 2)

|                     |       |
|---------------------|-------|
| 2U / µl DNase I     | 20 µl |
| 10× Reaction Buffer | 4 µl  |
| ヌクレアーゼフリー水          | 16 µl |

#### 調整方法 3)

|                                            |         |
|--------------------------------------------|---------|
| 2.7Kunitz units / µl DNase I <sup>※2</sup> | 1.25 µl |
| Buffer RDD                                 | 35 µl   |
| ヌクレアーゼフリー水                                 | 3.75 µl |

※2: QIAGEN 社プロトコールどおり DNase 溶液を調整すると、DNase 活性が過剰となる可能性があります。上記条件での DNase 溶液調整をお勧めします。

## 8 - 2. ライセート作製プロトコール

### ご注意

<1>から<5>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。

- 薬品による負傷および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ヌ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/24S の本体取扱説明書をお読みください。

<1>FFPE 包埋サンプルを準備してください。

削りだした FFPE 切片は所定量(基本的には 5µm 1～10 枚)を使用してください。

切片量が多すぎた場合、目詰まり、顕著な収量・純度低下の可能性があります。目詰まりした場合は、切片量を減らして検討してください。

<2>FFPE 切片を 2ml マイクロチューブに入れてください。

<3>DRF 5 滴を添加してください。

DRF はチューブの壁に当たらないよう、出来るだけサンプルに滴下してください。

<4>最大回転数で 15 秒間ボルテックスします。

<5>12,000rpm、15 秒間、室温にて遠心します。

切片をチューブの底に集めます。チューブ上部に切片が残った場合は再度攪拌し、遠心してください。

## 8 - 3. 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ヌ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/24S 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ウエストチューブと、1.5 ml あるいは 2.0 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、ライセートの入った 2 ml マイクロチューブと 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。

<4>試薬ストリップの(5)の位置に ERF 40µl を添加します。

試薬ストリップ(5): MRF の位置に ERF を添加してください。詳しくは、「2-3. 試薬ストリップの内容物」を参照してください。

<5>試薬ストリップの(7)の位置に DNase 溶液 40µl を添加します。

## 8 - 4. QG-Auto12S/24S 分離操作

- 運転開始前に QG-Auto12S/24S 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> Customized protocol 画面で「FFPE RNA」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/24S 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。

- すぐに RNA 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 total RNA を保存する場合は - 80℃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) RNA の収量・純度が低い、RNA が得られない

| 原 因        | 対 策                                                                |
|------------|--------------------------------------------------------------------|
| 組織溶解が不完全   | 試薬ストリップの(5)の位置に ERF を添加してください。<br>添加する際は「2-3. 試薬ストリップの内容物」を参照ください。 |
| サンプル量が多すぎた | 所定量までサンプル量を減らしてください(表 1 p.8 参照)。                                   |

### (2) カートリッジ(CA)が詰まった

| 原 因      | 対 策                                                                |
|----------|--------------------------------------------------------------------|
| 組織量が多すぎた | 所定量まで組織量を減らしてください(表 1 p.8 参照)。                                     |
| 組織溶解が不完全 | 試薬ストリップの(5)の位置に ERF を添加してください。<br>添加する際は「2-3. 試薬ストリップの内容物」を参照ください。 |

### (3) 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 RNA 量が不適切 | Qubit® 蛍光光度計で濃度を確認してください。 |
| RNA の純度が低い     | (1)「RNA の収量・純度が低い」参照      |

### (4) 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。 |

## 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 |
| QuickGene-AutoS DNA FFPE Kit          | 48 回入 | AS-DF |
| QuickGene-AutoS RNA Virus Kit         | 48 回入 | AS-RV |

＊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。



●製造販売元

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 クラボウ先進技術センター 2 階

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

URL: <https://www.kurabo.co.jp/bio/>

AS-RF\_HB-J\_V1.1