

循環セルフリーDNA キット  
QuickGene cfDNA isolation kit  
(CF-L)

## Contents

1. はじめに.....	3
2. キット内容物と保存条件.....	3
2-1. キット内容物.....	3
2-2. 保存条件.....	3
3. キット以外にご準備いただくもの.....	4
4. 取扱上の安全注意事項.....	4
5. 使用上の注意事項.....	5
6. 品質管理.....	6
7. プロトコール.....	7
7-1. 試薬の準備.....	7
7-2. QG-Auto240L を用いた抽出プロトコール -全自動プロトコール-.....	8
7-3. ライセート作製プロトコール.....	9
7-4. QG-Auto240L を用いた抽出プロトコール -半自動プロトコール-.....	10
7-5. QG-Mini8L を用いた抽出プロトコール.....	11
8. トラブルシューティング.....	14
9. オーダリング・インフォメーション.....	15
付録. 血漿の調製方法について.....	15

### **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

薄さ 100µm 以下の多孔質フィルターを用い、加圧法による核酸分離システムを実現しました。

このキットの特徴は以下のとおりです。

- このキットをご使用いただくことにより、簡便に血漿 (2ml) から循環セルフリーDNA (以下 cfDNA) を分離することができます。
- サンプルセット後の分離時間は以下のとおりです。  
QuickGene-Auto240L (以下 QG-Auto240L) を使用する場合: 24 サンプル 約 170 分
- ライセートセット後の分離時間は以下のとおりです。  
QuickGene-Mini8L (以下 QG-Mini8L) を使用する場合: 8 サンプル 約 80 分
- 得られた cfDNA は PCR などのアプリケーションに適しています。

QuickGene を用いて分離を行う際は、各装置の取扱説明書をよくお読みください。

## 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 cfDNA 分離用試薬が含まれています。

試薬名・構成部品名	数量	容量
Protease (ECF)	5本	凍結乾燥品
Lysis Buffer (LCF)	2本	70ml
Wash Buffer (WCF)	4本	160ml
Elution Buffer (CCF)	1本	100ml
Cartridges (CAL2)	1袋	48個
Waste Tubes (WTL)	1袋	48個

### 2-2. 保存条件

指定の温度 (15 ~ 28°C) 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 ECF を冷蔵 (4°C) で保存した場合、2 か月間安定です。溶解後の ECF は冷凍保存により少なくとも 6 か月は性能維持して保管できます。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。

### 3. キット以外にご準備いただくもの

#### ① 試薬

- 特級エタノール(>99%)(分子生物学用グレード/純度 $\geq$ 99.5%)
- ヌクレアーゼフリー水

#### ② 器具・機材

- QG-Auto240L または QG-Mini8L
- 15 ml または 50 ml の遠沈管(\*)
- マイクロピペット
- マイクロピペット用チップ
- 1.5 ml マイクロチューブ(溶出液のコレクションチューブとして使用) (\*\*)
- チューブスタンド

(\*): 15 ml または 50 ml の遠沈管は、サンプルを前処理する容器として使用します。

(\*\*): ボールロック付マイクロチューブは、ご使用になれません。

#### ③ QG-Mini8L 使用時に追加で必要なもの

- チューブミキサー(2,500rpm 程度の攪拌ができるもの)
- 卓上恒温水槽(56°Cで 50 ml または 15 ml 遠沈管を保温可能なもの)

#### ④ QG-Auto240L 使用時に追加で必要なもの

- サンプル用チューブ(\*\*\*)  
採血管サイズ: 6ml:  $\phi$  13 x 100mm  
10ml:  $\phi$  16 x 100mm
- Matrix チューブ(\*\*\*\*)  
\*Matrix™ 2D Barcoded Open-Top Storage Tubes Cat. No. 3791, 3792
- 消耗品キット(240L-CK)

(\*\*\*)血漿は適した採血管サイズのチューブに分取してください。

(\*\*\*\*): 1.5 ml マイクロチューブを回収用で使用する場合は不要。

### 4. 取扱上の安全注意事項

#### ◆ Protease ECF

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。

#### ◆ LCF (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メガネを着用してください。

#### ◆ WCF (Wash 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。

#### ◆ CCF (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。

◆ LCF は、温度の高い場所での使用、保存は避けてください。

◆ LCF 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

感染性のおそれのあるサンプルを使用し、使用后廃棄する場合は、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、溶融、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量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扱いに関する詳細情報は、SDS(製品安全データシート)を参照してください。

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

- 対応可能な試料：EDTA・2Na、EDTA・2K またはクエン酸ナトリウムにて抗凝固処理された全血から採取された血漿
- 血漿は採血後、速やかに調製してください。血球が壊れ、ゲノム DNA の混入量が増えます。全血から血漿を採取するまで時間を要する際は、cfDNA 分離専用の採血管での採血をおすすめします。
- 採取後の血漿はお早めに DNA 抽出に使用してください。血漿を調製した日に使用しない場合は、-30℃以下で凍結保存してください。
- 検体の容量が 2 ml 以下の場合、PBS(滅菌済)等で希釈して 2ml になるように調整してください。

#### ◆ 試薬に関する注意事項

- ECF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(CAL2)が詰まることがあります。
- キットは室温(15 ~ 28°C)でご使用ください。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。
- 溶解液(LCF)は、温度の高い場所(28°C以上)での使用、保存は避けてください。また漂白剤を含む消毒剤と混合しないでください。

#### ◆ 操作に関する注意事項

- チューブミキサーは 2,500rpm 以上の攪拌ができるものを使用してください。ボルテックスが弱いと溶解が不十分となり、目的の収量が得られないことやカートリッジ(CAL2)が詰まる場合があります。
- 抽出の途中では時間をおかず、操作は素早く行ってください。
- 収量はサンプルの状態により変動します。cfDNA 収量は血漿 2mL あたり 5~40 ng です。
- 本キットは 100 µl の CCF で溶出を行うことを前提にしています。CCF 量は変更可能ですが、溶出効率が変化する可能性があります。

## 6. 品質管理

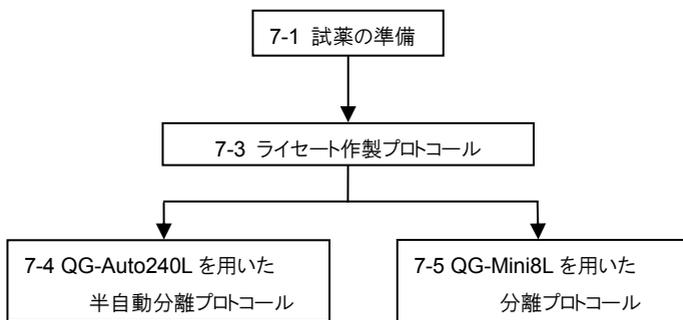
- 品質管理基準を設け、全てのロットで品質管理基準を満たすことを確認しています。
- cfDNA の収量や品質は、マイクロチップ電気泳動法により確認しています。

## 7. プロトコル

### 【Overview Flow Chart① QG-Auto240L-全自動プロトコルの場合】



### 【Overview Flow Chart② QG-Auto240L-半自動プロトコル、QG-Mini8L の場合】



### 7-1. 試薬の準備

#### ◆ ECF(凍結乾燥品)

凍結乾燥品を含む瓶に 3.3ml 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 ECF は冷蔵(4℃)で保存する場合、2 か月間安定です。冷凍保存により少なくとも 6 か月は性能維持して保管できます。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。

ECF 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。

3.3ml 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(CAL2)が詰まることがあります。

## ◆ LCF

使用前に十分に混和してください。

析出物が生じた場合は、37°Cで溶解後、室温に戻してから使用してください。

## ◆ WCF

濃縮状態でお届けします。

使用前に、ボトルに 160ml の特級エタノール(>99%)を添加し、よく混和してください。エタノール添加後はボトル蓋ラベルの「ethanol added?」チェックボックスにチェックを入れてください。また、エタノール添加後は揮発を防ぐために、ボトルの蓋をしっかりと閉めてください。

## ◆ CCF

cfDNA 溶出時には、必ず CCF を使用してください。

## 7-2. QG-Auto240L を用いた抽出プロトコール -全自動プロトコール-

- ご使用になる前にQG-Auto240Lの取扱説明書をよくお読みになり、必要な準備をしてください。
- 各付属品、消耗品をセットする順番を守り、正しくセットしてください。
- ウェイストチューブ、カートリッジ、コレクションチューブは正しい位置にセットしてください。

### QG-Auto240L 抽出フロー(全自動)

- <1>(試薬のセット) QG-Auto240L 用の試薬容器に必要な量の試薬を分取します。試薬の入った試薬容器をセット位置番号に合わせて試薬容器ホルダにセットします。使用しない試薬、および廃液容器のセット位置には空の試薬容器と廃液容器をセットします。試薬容器ホルダを本装置の試薬容器ホルダスロットにセットします。洗浄液ボトルをドローワー内の洗浄液ボトルラックにセットします。
- <2>(消耗品/付属品の準備)1.2ml チップ、および 10ml チップを試薬チップホルダにセットします。サンプル数分のウェイストチューブをウェイストチューブホルダにセットします。セット後、カートリッジホルダを上から取り付けます。サンプル数分のカートリッジをカートリッジホルダにセットします。セット後、ホルダのカバーを閉じ、3 箇所のロックをかけます。サンプル数分のコレクションチューブをコレクションチューブホルダにセットします。
- <3>(ホルダ・廃棄コンテナのセット)準備した各ホルダを装置のそれぞれの対応するスロットにセットします。装置の廃棄コンテナラックに廃棄コンテナをセットします。廃棄コンテナは必ず、付属のものを空の状態ですべて正しくセットしてください。付属でないもの、中身が入った状態のものを使用、または誤ったセット状態で使用した場合、廃棄物が溢れる可能性があります。
- <4>(ライセートチューブのセット) QG-Auto240L 本体のライセートユニットの攪拌カバーを開け、空のライセートチューブをセットします。ライセートチューブをセットした後、カチッと音がす

るまで攪拌カバーを閉めます。

<5>(サンプルの準備) 血漿を適したサイズのサンプルチューブに入れ、サンプルチューブをサンプルホルダにセットします。血漿の詳細な調整方法は「p.17 付録:血漿の調製方法について」をご参照ください。サンプルチューブがセットされたサンプルホルダを装置にセットします。

<6>(分離操作)QG-Auto240L 取扱説明書「3.6 装置の起動方法」を参照し、装置の電源を入れてモードセレクト画面へ移行します。「AUTOMATED OPERATION」を選択し、「PLASMA DNA 2ml FULL-AUTO」を選択します。セットしたサンプル数を選択し、サンプル数と一致していることを確認し、「OK」ボタンを押します。使用する試薬について、画面に表示されている情報を参照し、必要量が正しい位置にセットしている事を確認します。確認した試薬の「CHECK」ボタンを押し、「OK」ボタンを押します。「START」ボタンを押すと、自動運転を開始します。

<7>(運転終了・分離サンプルの回収)「AUTOMATIC OPERATION END」の画面が表示されたら運転終了です。装置の電源スイッチを押し、電源を切ります。QG-Auto240L 本体からコレクションチューブホルダを取り出します。コレクションチューブの蓋を開けて、コレクションチューブホルダから取り出します。すぐに cfDNA を使用しない場合は、回収容器の蓋を確実に閉めて、4°Cまたは-20°Cで保存してください。長期間 cfDNA を保存される場合、-20°Cで保存することをお勧めします。

<8>(消耗品および廃棄物の処分)

各ホルダから取り出したカートリッジ、廃液容器、廃液は規定に従って廃棄してください。

詳しくは、QG-Auto240L 取扱説明書「3.9 消耗品および廃棄物の処分」を参照してください。

### 7-3. ライセート作製プロトコール

- 本キットは 1 処理あたり血漿 2ml に対応しています。血漿は、EDTA・2Na、EDTA・2K またはクエン酸ナトリウムで採血した全血から採取したものをご使用ください。
- サンプル量は以下の分離フローに記載された量を厳守してください。指定された量を超えてセットされた場合には、分離効率が低下する場合があります。また、機器動作に支障をきたす場合もありますのでご注意ください。

1. ECF(ヌクレアーゼフリー水で溶解済み) 300  $\mu$ l を遠沈管の底に添加します。

(50ml 遠沈管をお使いになることも可能です。)

2. 血漿 2ml を添加します。

血漿添加後、直ちに3. にお進みください。また、3.および4.は 1 サンプルずつ連続して行ってください。

長時間放置しますと、目的の収量が得られないことがあります。

3. 以下の振とう混和とチューブミキサー混合は、1 サンプルずつ連続して行ってください。

溶解液(LCF)2.5 ml を添加し、遠沈管をすぐに上下に 10 回激しく振とう混和します。確実に溶解を行うために、LCF 添加直後に液を十分に混合することは極めて重要です。15 ml 遠沈管をお使いの場合は 50ml 遠沈管より混ぜりにくいので混和を確実にを行い、ECF、全血、LCF が十分に混合するようにしてください。

チューブミキサーにて、15 秒間最大回転数で混合します。その際、遠沈管のキャップ部分に近いところを持ってください。遠沈管の下のほうを持つと十分に混合しないおそれがあります。推奨は、2,500rpm 以上です。混合が十分でないと、目的の収量が得られないことやカートリッジが詰まる場合があります。

4. 56°Cで 5 分間、恒温水槽でインキュベートします。

ヒートブロック恒温槽などをお使いになる場合は、恒温槽の能力に応じて相応の時間延長をしないと収量が低下する場合があります。設定温度 56°Cに対し実際の溶液温度が低い場合は、溶液温度が 56°Cになるよう設定温度を調整してください。

5. 以下の振とう混和とチューブミキサー混合は、1 サンプルずつ連続して行ってください。

特級エタノールを 1.2ml 添加し、遠沈管をすぐに上下に 10 回激しく振とう混和します。エタノール添加直後に液を十分に混合することは極めて重要です。15ml 遠沈管をお使いの場合は 50ml 遠沈管より混ぜりにくいので混和を確実にを行い、エタノールが十分に混合するようにしてください。

チューブミキサーにて、15 秒間最大回転数で混和し、ライセート完成です。その際、遠沈管のキャップ部分に近いところを持ってください。遠沈管の下のほうを持つと十分に混合しないおそれがあります。推奨は、2,500rpm 以上です。混合が十分でないと、目的の収量が得られないことやカートリッジが詰まる場合があります。

ライセート完成後は、速やかに抽出操作を行ってください。

## 7-4. QG-Auto240L を用いた抽出プロトコール -半自動プロトコール-

- ご使用になる前にQG-Auto240Lの取扱説明書をよくお読みになり、必要な準備をしてください。
- 各付属品、消耗品をセットする順番を守り、ウェイトチューブ、カートリッジ、コレクションチューブは正しい位置にセットしてください。
- 詳しくはQG-Auto240L取扱説明書:4操作方法-半自動プロトコール-を参照ください。

### QG-Auto240L 抽出フロー(半自動)

<1>(試薬のセット) QG-Auto240L 用の試薬容器に必要な量の試薬を分取します。試薬の入った試薬容器をセット位置番号に合わせて試薬容器ホルダにセットします。使用しない試薬、および廃液容器のセット位置には空の試薬容器をセットします。試薬容器ホルダを本装置の試薬容器ホルダスロットにセットします。洗浄液ボトルをドロー内内の洗浄液ボ

ルラックにセットします。

- <2>(消耗品/付属品の準備)1.2ml チップ、および 10ml チップを試薬チップホルダにセットします。サンプル数分のウェイトチューブをウェイトチューブホルダにセットします。セット後、カートリッジホルダを上から取り付けます。サンプル数分のカートリッジをカートリッジホルダにセットします。セット後、ホルダのカバーを閉じ、3 箇所のロックをかけます。サンプル数分のコレクションチューブをコレクションチューブホルダにセットします。
- <3>(ホルダ・廃棄コンテナのセット)準備した各ホルダを装置のそれぞれの対応するスロットにセットします。装置の廃棄コンテナラックに廃棄コンテナをセットします。廃棄コンテナは必ず、付属のものを空の状態ですく正しくセットしてください。付属でないもの、中身が入った状態のものを使用、または誤ったセット状態で使用した場合、廃棄物が溢れる可能性があります。
- <4>(ライセートチューブのセット)7-3 で作製したライセートを QG-Auto240L 専用のライセートチューブに添加します。QG-Auto240L 本体のライセートユニットの攪拌カバーを開け、ライセートの入ったライセートチューブをセットします。ライセートチューブをセットした後、カチッと音がするまで攪拌カバーを閉めます。
- <5>(分離操作)QG-Auto240L 取扱説明書「3.6 装置の起動方法」を参照し、装置の電源を入れてモードセレクト画面へ移行します。「AUTOMATED OPERATION」を選択し、「PLASMA DNA 2ml SEMI-AUTO」を選択します。セットしたサンプル数を選択し、サンプル数と一致していることを確認し、「OK」ボタンを押します。使用する試薬について、画面に表示されている情報を参照し、必要量が正しい位置にセットしている事を確認します。確認した試薬の「CHECK」ボタンを押し、「OK」ボタンを押します。「START」ボタンを押すと、自動運転を開始します。
- <6>(運転終了・分離サンプルの回収)「AUTOMATIC OPERATION END」の画面が表示されたら運転終了です。装置の電源スイッチを押し、電源を切ります。QG-Auto240L 本体からコレクションチューブホルダを取り出します。コレクションチューブの蓋を閉めて、コレクションチューブホルダから取り出します。すぐに cfDNA を使用しない場合は、回収容器の蓋を確実に閉めて、4°Cまたは-20°Cで保存してください。長期間 cfDNA を保存される場合、-20°Cで保存することをお勧めします。
- <7>(消耗品および廃棄物の処分)  
各ホルダから取り出したカートリッジ、廃液容器、廃液は規定に従って廃棄してください。詳しくは、QG-Auto240L 取扱説明書「3.9 消耗品および廃棄物の処分」を参照してください。

## 7-5.QG-Mini8L を用いた抽出プロトコール

- ご使用になる前にQG-Mini8Lの取扱説明書をよくお読みになり、必要な準備をしてください。

- 各付属品、消耗品をセットする順番を守り、正しくセットしてください。
- ウェイストチューブ、カートリッジ、コレクションチューブは正しい位置にセットしてください。
- WCFに160mlの特級エタノール(>99%)が添加されていることを確認してください。
- QG-Mini8Lのチューブホルダにウェイストチューブ(WTL)と1.5mlマイクロチューブをセットしてください。
- 1.5mlマイクロチューブとウェイストチューブ(WTL)をセットした後、QG-Mini8Lのチューブホルダの上からカートリッジホルダをセットします。QG-Mini8Lのカートリッジホルダは各穴部の真下がウェイストチューブとなるようにセットしてください。各チューブをセットした位置と対応する位置となるようにカートリッジホルダにカートリッジをセットします。
- LCF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し、使用后廃棄する場合は、感染性産業廃棄物に該当しますので、適切な処理を行ってください。

### QG-Mini8L 抽出プロトコール詳細

<1>(ライセート添加) 7-3 で調整したライセート全量のカートリッジ(CAL2)に注入します。その際、カートリッジの縁およびカートリッジ周辺にライセートが触れないように気をつけてください。ライセートを注入したカートリッジホルダの列に加圧シールプレートをセットします。カートリッジホルダとチューブホルダを本体にセットし、カートリッジホルダの列が加圧ノズルの真下に来る位置までホルダをゆっくりと押し込みます。ライセートを添加してから 10 分静置した後、QG-Mini8L 本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。ライセートがカートリッジに残っていないことを確認し、加圧スイッチを元の位置に戻します。加圧はおおよそ 70 秒で自動的に終了します。加圧が自動的にストップした後もライセートがカートリッジ内に残っている場合は、加圧スイッチをいったん元の位置に戻し、再度加圧スイッチを手前に回して加圧を行ってください。

<2>(洗浄 1 回目)カートリッジホルダとチューブホルダを手前に引き出し、ピペットを使用し、WCF 7.5mlを加圧シールプレートの穴からカートリッジへ添加します。加圧シールプレートに洗浄液が付着した場合は、やわらかい紙などでふき取ってください。洗浄液を注入したカートリッジホルダの列に加圧シールプレートをセットします。カートリッジホルダとチューブホルダを本体にセットし、カートリッジホルダの列が加圧ノズルの真下に来る位置までホルダをゆっくりと押し込みます。洗浄液を添加してから 5 分静置した後、QG-Mini8L 本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。洗浄液がカートリッジに残っていないことを確認し、加圧スイッチを元の位置に戻します。

<3>(洗浄 2 回目)カートリッジホルダとチューブホルダを手前に引き出し、ピペットを使用し、WCF 6.5mlを加圧シールプレートの穴からカートリッジへ添加します。加圧シールプレートに洗浄液が付着した場合は、やわらかい紙などでふき取ってください。洗浄液を注入したカートリッジホルダの列に加圧シールプレートをセットします。カートリッジホルダとチューブホルダを本体にセットし、カートリッジホルダの列が加圧ノズルの真下に来る位置までホルダをゆっくりと押し込みます。洗浄液を添加してから 5 分静置した後、QG-Mini8L 本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。洗浄液がカートリッジに残ってい

ないことを確認し、加圧スイッチを元の位置に戻します。

- <4> (洗淨 3 回目) カートリッジホルダとチューブホルダを手前に引き出し、ピペットを使用し、WCF 5.5ml を加圧シールプレートの穴からカートリッジへ添加します。加圧シールプレートに洗淨液が付着した場合は、やわらかい紙などでふき取ってください。洗淨液を注入したカートリッジホルダの列に加圧シールプレートをセットします。カートリッジホルダとチューブホルダを本体にセットし、カートリッジホルダの列が加圧ノズルの真下に来る位置までホルダをゆっくりと押し込みます。洗淨液を添加してから 5 分静置した後、QG-Mini8L 本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。3 回目の洗淨は、計 5 回加圧し、洗淨液をできるだけぎり除去します。洗淨液がカートリッジに残っていないことを確認し、加圧スイッチを元の位置に戻します。
- <5> (回収) カートリッジホルダとチューブホルダを手前に引き出します。カートリッジホルダを上側へ持ち上げ、チューブホルダから外し、カートリッジの下側がマイクロチューブと対応する位置へ移動させます。ピペットを使用し、CCF を加圧シールプレートの穴からカートリッジへ添加します。回収液を注入したカートリッジホルダの列に加圧シールプレートをセットします。カートリッジホルダとチューブホルダを本体にセットし、カートリッジホルダの列が加圧ノズルの真下に来る位置までホルダをゆっくりと押し込みます。CCF 添加 90 秒経過後、QG-Mini8L 本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。溶出液がカートリッジに残っていないことを確認し、加圧スイッチを元の位置に戻します。詳しい操作方法は、QG-Mini8L 取扱説明書(p.22 2: 操作方法-回収)を参照ください。
- <6> (運転終了・廃液・消耗品の処分) カートリッジホルダとチューブホルダを引き出し、カートリッジホルダをはずし、カートリッジ(CAL2)を廃棄します。1.5 ml マイクロチューブの蓋をしっかりと閉めてから取り出してください。ウェイトチューブホルダから廃液容器を取り出し、規定に従って廃棄してください。すぐに cfDNA を使用しない場合は、1.5ml マイクロチューブの蓋をしっかりと閉めた後、4°C または - 20°C で保存してください。長期間 cfDNA を保存される場合、-20°C で保存することをお勧めします。

## 8.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
前処理酵素(ECF)の溶解が不十分	ヌクレアーゼフリーの水を添加後、時々攪拌させながら 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ご使用ください。
試薬、血漿の添加順序が不適切	ライセート調製時、15 ml 遠沈管には、前処理酵素(ECF:ヌクレアーゼフリー水 3.3ml で溶解済み)→血漿→溶解液(LCF)の順で添加してください。
血漿量が多すぎる	所定量まで血漿量を減らしてください。
溶解液(LCF)添加後のホモジナイズが不十分	溶解液(LCF)添加直後に、上下に激しく振とう混和を十分行い、その後十分にボルテックス(15 秒)してください。ボルテックスは最大回転数(2,500rpm 以上推奨)で行ってください。
エタノール添加後のホモジナイズが不十分	エタノール添加直後に、上下に激しく振とう混和を十分行い、その後十分にボルテックス(15 秒)してください。ボルテックスは最大回転数(2,500rpm 以上推奨)で行ってください。
洗浄液(WCF)に所定量のエタノールを加えていない	洗浄液(WCF)使用前には、必ず所定量のエタノールを加えたことをご確認ください。
古い洗浄液(WCF:エタノール添加済み)を使用した	洗浄液(WCF:エタノール添加済み)を指定核酸抽出装置に 1 週間以上セットされたものを使用していないか、ご確認ください。洗浄液(WCF)を 1 週間以上使用しない場合は、ボトルの蓋を閉めて保管してください。
カードリッジ(CAL2)ヘライセートが添加しきれていない	ライセートに凝集物が見られた場合は、エタノール添加後のホモジナイズが不十分なので、十分に混和およびボルテックスをおこなってください。
セット試薬の不足	試薬容器、洗浄液ボトルに試薬が残っていることをご確認ください。

### (2) カードリッジ(CAL2)が詰まる

原因	対策
前処理酵素(ECF)の溶解が不十分	ヌクレアーゼフリーの水を添加後、時々攪拌させながら 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ご使用ください。
血漿が多すぎる	所定量まで血漿量を減らしてください。
溶解液(LCF)添加後のホモジナイズが不十分	溶解液(LCF)添加直後に、上下に激しく振とう混和を十分行い、その後十分にボルテックス(15 秒)してください。ボルテックスは最大回転数(2,500rpm 以上推奨)で行ってください。

### (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 DNA 量が不十分	分離したDNAについて、マイクロチップ電気泳動法で170bp付近のcfDNA量を確認してください。

#### (4) 試薬に沈殿物が生じた

原因	対策
低温に保存している	指定の温度(15 ~ 28°C)で保存してください。 沈殿物が生じた場合は、37°Cにて加温し、沈殿物を溶解させてください。

## 9. オーダリング・インフォメーション

製品	Cat #
QuickGene cfDNA isolation kit	CF-L
QuickGene cfDNA 抽出キット	
QuickGene DNA Blood kit L	DB-L
QuickGene DNA 全血キット	
QuickGene DNA Tissue kit L	DT-L
QuickGene DNA 組織キット	
QuickGene Auto240L Consumables Kit	240L-CK
消耗品キット	

## 付録. 血漿の調製方法について

一例として弊社で実施している血漿の分離方法を紹介します。

1. 全血を採血管あるいは適した大きさのチューブへ分取します。  
例、全血 10 ml を 15 ml 遠沈管に分取する、など。
2. 4°Cで 15 分間、1,900×g で遠心分離します。
3. 分離層を乱さないように、血漿上清を注意深く吸引します。  
全血 10 ml から約 4~5 ml の血漿を採取できます。
4. 4°Cで 15 分間、1,900×g で遠心分離します。
5. 血漿上清を注意深く吸引し、新しいチューブに移します。
6. 採取した血漿を cfDNA 分離に使用します。  
QG-Auto240L-全自動プロトコールで使用する際は、「p.5 3-④QG-Auto240L 使用時に追加が必要なもの」に記載の適した採血管サイズのサンプルチューブに血漿を採取してください。

＊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/>