

DNA 全血キット  
QuickGene DNA whole blood kit L  
(DB-L)



# 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
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.....	5
5. 使用上の注意事項.....	7
6. 品質管理.....	8
7. プロトコール.....	9
【Overview Flow Chart】.....	9
7 - 1. 試薬の準備.....	9
7 - 2. QG-Auto240L を用いた分離プロトコール-全自動プロトコール-.....	11
7 - 3. ライセート作製プロトコール.....	12
7 - 4. QG-Auto240L を用いた分離プロトコール-半自動プロトコール-.....	13
7 - 5. QG-Mini8L を用いた分離プロトコール.....	14
7 - 6. QG-610L を用いた分離プロトコール.....	16
8. トラブルシューティング.....	18
9. オーダリング・インフォメーション.....	20
付録 1 自動核酸分離装置 QG-610L パラメータについて.....	21

## 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 100 $\mu$ m 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、簡便に全血(2ml)からゲノム DNA 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 60 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 20 分  
QuickGene-610L(以下 QG-610L)を使用する場合:6 サンプル 約 12 分
- 得られた高純度(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、サザンブロットティング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 処理分のゲノム DNA 分離用試薬が含まれています。

試薬名・構成成分名	数量	容量
Protease (EDB)	5本	凍結乾燥品
Lysis Buffer (LDB)	2本	70ml
Wash Buffer (WDB)	4本	160ml
Elution Buffer (CDB)	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 $^{\circ}$ 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 EDB を冷蔵(4 $^{\circ}$ C)で保存した場合、2 か月間安定です。溶解後の EDB を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, QG-610L
- 15 ml および 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)遠沈管は、サンプルを前処理する容器として使用します。

50 ml 遠沈管は、QG-610L で回収液(CDB)を入れ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-610L, 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)

(\*\*\*) 適した採血管サイズのチューブを使用してください。

(\*\*\*\*) : 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 EDB

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)

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。

◆ 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。

◆ LDB は、温度の高い場所での使用、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業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 またはヘパリンにて抗凝固処理された全血
- 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。
- 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。
- 白血球が  $2 \times 10^7$  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  $2 \times 10^7$  個以下になるように調整してください。白血球数が  $5 \times 10^7$  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)で等で希釈して分離を行うことをおすすめします。
- 採血後の全血をお早めに DNA 分離に使用してください。4℃で冷蔵保存の全血を 3 日以内に DNA 分離試験に使用してください。

### ◆ 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℃) 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(LDB)は、温度の高い場所 (28℃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。
- 分離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。標準的なゲノム DNA 収量は全血 2mL あたり 30~80 µg です。
- 本キットは 500 µl の CDB で溶出を行うことを前提にしています。CDB 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。
- QG-610L でご使用になる場合は、特級エタノールを指定量添加した洗浄液(WDB)をボトルのまま、回収液(CDB)は指定の遠沈管に分注後、決められた場所にセットしてください。使い始めには必ずディスチャージを実施してください。詳しくは、QG-610L の取扱説明書をご覧ください。

---

## 6. 品質管理

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

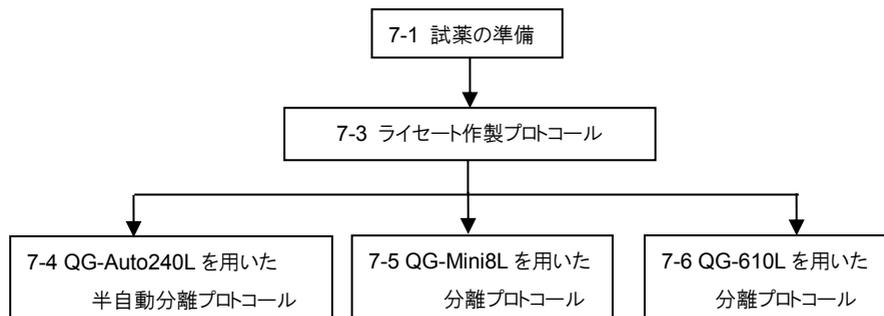
## 7. プロトコール

### 【Overview Flow Chart】

#### ① QG-Auto240L-全自動プロトコールの場合-



#### ② QG-Auto240L-半自動プロトコール-, QG-Mini8L, QG-610L の場合-



### 7 - 1. 試薬の準備

#### ◆EDB(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EDB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。

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。

3.3ml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)が詰まる場合があります。

#### ◆ LDB

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℃で溶解後、室温に戻してから使用してください。

#### ◆ WDB

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。

#### ◆ CDB

ゲノム DNA 溶出時には、必ず CDB を使用してください。

#### ◆ WDB(特級エタノール添加済み)および CDB の必要量(QG-610L をご使用の場合)

下表を参考に、QG-610L を使用する場合、分離処理をするサンプル数に応じて、所定量の特級エタノールを加えた洗浄液(WDB)はボトルのまま、回収液(CDB)は指定の遠沈管に移して必要量を準備してください。準備した液は、QG-610L のホルダーの所定の位置にセットしてください。

サンプル数	所定量の特級エタノールを加えた洗浄液(WDB)	回収液(CDB)
6	160ml(ボトル半分)	11 ml
12	320ml(ボトル 1 本)	16 ml
18	480ml(ボトル 1.5 本)	24 ml
24	640ml(ボトル 2 本)	32 ml
30	800ml(ボトル 2.5 本)	40 ml
36	960ml(ボトル 3 本)	48ml
42	1120ml(ボトル 3.5 本)	56ml
48	1280ml(ボトル 4 本)	64ml

## 7 - 2. QG-Auto240L を用いた分離プロトコール-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。

<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ーにセットします。使用しない試薬、およびウェイストチューブのセット位置には空の試薬容器をセットします。試薬容器ホルダー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ーにセットします。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ーにセットします。セット後、カートリッジホルダー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ーにセットします。セット後、ホルダーのカバーを閉じ、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ーにセットします。

<3>(ホルダー・廃棄コンテナのセット)準備した各ホルダー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) 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、カチツ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)採血管を転倒混和にて緩やかに混合します。蓋を除去した採血管をサンプルホルダーにセットします。採血管がセットされたサンプルホルダー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、「W BLOOD 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されていることを確認します。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。すぐにゲノム DNA を使用しない場合は、コレクションチューブ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。長期間ゲノム DNA 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 - 3. ライセート作製プロトコール

- 本キットは 1 処理あたり全血2ml に対応しています。全血は、EDTA・2Na、EDTA・2K またはヘパリンで採血した全血をご使用ください。
- 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. <1a>から<1c>までの工程の順序は必ずお守りください。EDB を遠沈管に添加した後、直接 LDB を添加しないでください。順序を変えた場合、目的の収量が得られなくなります。

<1a> EDB(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。)

<1b> 全血 2 ml を添加します。

全血添加後、直ちに<1c>にお進みください。

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。

<1c> 溶解液(LDB)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、LDB 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、EDB、全血、LDB が十分に混合するようにしてください。

2. チューブミキサーにて、15 秒間最大回転数で行います。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。
3. 56°Cで 5 分間、恒温水槽でインキュベートします。インキュベーション時間は、5 分間延長までは収量に影響しません。  
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。(参考:アルミブロックの場合 56°C 30 分)。  
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。
4. 特級エタノールを 2.5ml 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 遠沈管より混ざりにくいので混和を確実に、エタノールが十分に混合するようにしてください。ボルテックスを 15 秒行って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、速やかに分離操作を行ってください。

## 7 - 4. QG-Auto240L を用いた分離プロトコール-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。
- 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 分離プロトコール詳細 (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ーにセットします。使用しない試薬、およびウェストチューブのセット位置には空の試薬容器をセットします。試薬容器ホルダー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ストチューブをウェ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、ホルダーのカバーを閉じ、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>(ホルダー・廃棄コンテナのセット)準備した各ホルダー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、「WBLOOD 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されていることを確認します。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。すぐにゲノム DNA を使用しない場合は、コレクションチューブの蓋を確実に閉めて、4℃または-20℃で保存してください。長期間ゲノム DNA を保存される場合、-20℃で保存することをお勧めします。

## 7 - 5. QG-Mini8L を用いた分離プロトコール

- 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。
- WDB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とコレクションチューブをセットしてください。
- コレクションチューブとウェイストチューブをセットした後、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カートリッジ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。
- 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 分離プロトコール詳細

<1>(ライセート添加)7-3 で調整したライセート全量をカートリッジ(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ーをゆっくりと押し込みます。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>(洗淨 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、WDB 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ーをゆっくりと押し込みます。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。

<3>(洗淨 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、WDB 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ーをゆっくりと押し込みます。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。

<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、WDB 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ーをゆっくりと押し込みます。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コレクション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、CDB 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ーをゆっくりと押し込みます。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>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)を捨てます。コレクション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。すぐにゲノム DNA を使用しない場合は、コレクションチューブの蓋をしっかりと閉めた後、4℃または-20℃で保存してください。長期間ゲノム DNA を保存される場合、-20℃で保存することをお勧めします。

## 7 - 6. QG-610L を用いた分離プロトコール

- ご使用になる前にQG-610L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。
- 洗浄液(WDB)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。
- 洗浄液(WDB)、回収液(CDB)をセット後、ディスチャージ操作を必ず行ってください。
- 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-610L 分離プロトコール詳細

<1>(分離モードの選択)全血からのゲノム DNA 分離の場合は、「DNA WHOLE BLOOD」を選択してください。(パラメータ設定については、付録 1 を参照ください)

<2>(消耗品のセット)装置のフロントカバーを開けてホルダー一式を取り出します。コレクションチューブをコレクションチューブホルダへ差し込みます。次にウェイストチューブをホルダーキャリアリッジに差し込みます。

<3>(試薬のセット)所定量の特級エタノールを添加した洗浄液(WDB)および指定の遠沈管に移した回収液(CDB)をそれぞれホルダーの所定の位置にセットします。

- 処理数に応じて必要な試薬量が異なります。
- 各試薬のセット位置は、自動核酸分離装置 QG-610L の取扱説明書をご参照ください。

<4>(ディスチャージ操作)ディスチャージトレイがセットされていることを確認してください。フロントカバーを閉じ、オペレーションパネルの【DISCHARGE】ボタンを押してください。

- ディスチャージ操作を行わないと、管内の残留エアの影響で規定量の洗浄液(WDB)、回収液(CDB)が注入されず、正確な結果が得られません。

<5>(ライセート添加)7-3 で調整したライセート全量をカートリッジ(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。ライセートを注入後、カートリッジホルダの蓋をロックし、ホルダー一式を装置へセ

---

ットします。

<6>(分離開始)装置のフロントカバーを閉めます。オペレーションパネルに適切なモードが表示されていることを確認して、【START】ボタンを押してください。分離操作が始まるとオペレーションパネルに【EXECUTING】と表示されます。分離操作中はフロントカバーを開けないでください。万一開けると、分離操作が強制終了します。

<7>(回収) ピピーっと音が鳴れば分離終了です。

オペレーションパネルには分離結果が下表のように表示されます。

v	正常終了
-	異常終了
—	カートリッジなしまたは分離前にエラー発生

装置が完全に停止していることを確認した後、フロントカバーを開け、コレクションチューブホルダより、コレクションチューブを取り出します。コレクションチューブの蓋を確実に閉めた4°Cまたは-20°Cで後保存してください。長期間ゲノム DNA を保存される場合は、-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(EDB)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、全血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(EDB:ヌクレアーゼフリー水 3.3mlで溶解済み)→全血→溶解液(LDB)の順で添加してください。
全血量が多すぎる	所定量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 $2 \times 10^7$ 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で希釈して $2 \times 10^7$ 個以下になるように調整してください。
溶解液(LDB)添加後のホモジナイズが不十分	溶解液(LDB)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(WDB)に所定量のエタノールを加えていない	洗浄液(WDB)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(WDB:エタノール添加済み)を使用した	洗浄液(WDB:エタノール添加済み)を指定核酸分離装置に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(WDB)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。
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。
カートリッジ(CAL2)へ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(QG-Auto240L、QG-610L)	処理サンプル数に対応する必要量をセットしてください。

(2) カートリッジ(CAL2)が詰まる

原因	対策
前処理酵素(EDB)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。
全血量が多すぎる	所定量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 $2 \times 10^7$ 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で希釈して $2 \times 10^7$ 個以下になるように調整してください。
溶解液(LDB)添加後のホモジナイズが不十分	溶解液(LDB)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量が不適切	260nm吸光度から濃度をご確認ください。

(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℃)で保存してください。 沈殿物が生じた場合は、37℃にて加温し、沈殿物を溶解させてください。

(5) コレクションチューブにサンプルが回収されない(空である)

原因	対策
ディスチャージ操作を行っていない	7-6-<4>に従い、洗浄液(WDB)、回収液(CDB)をセット後、ディスチャージ操作を必ず行ってください(詳しくは、QG-610L取扱説明書を参照してください)。

## 9. オーダリング・インフォメーション

製品	Cat #
QuickGene DNA whole blood kit L	DB-L
QuickGene DNA 全血キット L	
QuickGene DNA tissue kit L	DT-L
QuickGene DNA 組織キット L	
QuickGene cfDNA Isolation Kit CF-L	CF-L
QuickGene 循環セルフリーDNA キット	
QuickGene Auto240L Consumables Kit	240L-CK
消耗品キット	

## 付録 1 自動核酸分離装置 QG-610L パラメータについて

QG-610L では「DNA WHOLE BLOOD」モードは、下表のパラメータ設定となっています。このキットでの分離は、このパラメータに基づいて実施してください。詳しい変更の仕方は、QG-610L の取扱説明書をご参照ください。

表示順	パラメータ	
	動作項目	DNA WHOLE BLOOD
1	BIND PEAK	120
2	WASH COUNT	3
3	WASH PEAK	90
4	WASH VOL1	7500
5	WASH VOL2	6500
6	WASH VOL3	5500
7	WASH VOL4	0
8	WASH VOL5	0
9	WAS2 COUNT	0
10	WAS2 PEAK	90
11	WAS2 VOL1	7500
12	WAS2 VOL2	6500
13	WAS2 VOL3	5500
14	WAS2 VOL4	0
15	WAS2 VOL5	0
16	ELUT VOL	500
17	ELUT PEAK	100

**\*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/>