

DNA組織キット

QuickGene DNA tissue kitS
(DT-S)

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	7
5. 使用上の注意事項	8
6. 品質管理	10
7. 製品説明	10
8. プロトコル	11
【Overview Flow Chart】	11
8-1 試薬の準備	11
8-2 ライセート作製プロトコル	13
8-3 QG-810を用いた分離プロトコル	19
8-4 QG-Mini80を用いた分離プロトコル	22
8-5 QG-Mini480を用いた分離プロトコル	27
9. トラブルシューティング	31
10. オーダリング・インフォメーション	36
付録 QG-810パラメータについて	37

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、簡便に動物組織からゲノムDNAを分離することができます。
- 8サンプル同時に分離操作を行うことができます。
ライセートセット後の分離時間は以下のとおりです。
QuickGene-810(以下QG-810):約13分
QuickGene-Mini80(以下QG-Mini80):約9分
- 48サンプル同時に分離操作を行うことができます
QuickGene-Mini480(以下QG-Mini480):約45分
- タンパク質やカオトロピック塩を含まない、高純度のゲノム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96処理分のゲノムDNA分離用試薬が含まれています。

<input type="checkbox"/> Proteinase K	EDT	2.5ml
<input type="checkbox"/> Tissue Lysis Buffer	MDT	25ml
<input type="checkbox"/> Lysis Buffer	LDT	30ml
<input type="checkbox"/> Wash Buffer	WDT	160ml
<input type="checkbox"/> Elution Buffer	CDT	100ml
<input type="checkbox"/> Cartridges(カートリッジ)	CA	96個
<input type="checkbox"/> Collection Tubes(コレクションチューブ)	CT	96個
<input type="checkbox"/> Caps(キャップ)	CAP	96個
<input type="checkbox"/> Waste Tubes(ウェイストチューブ)	WT	96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。より安定に保つためEDTは開梱後、冷蔵(2~8°C)で保存することをお勧めします。

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%)(ライセート調製時およびWDTの希釈に使用)

※必要に応じて用意していただく試薬

- RNase A

[推奨品]

- ・Ribonuclease A (Sigma-Aldrich Cat. No. R5125 *1、*2
R5500 *1、*2
R6513 *1
R4642
- ・Ribonuclease A (MP Biomedicals Cat. No. 101076 *1、*2)
- ・RNase A (QIAGEN Cat. No. 19101)
- ・RNase A (Thermo Fisher Scientific Cat. No. 12091)

* 1: 10mM Tris HCl pH7.5、15mM NaClを用いて100mg/ml溶液を調製してください。

* 2: R5125、R5500、101076、0675は100°C 15分処理をしてDNase活性を失活してから使用してください。

②器具・機材

- QuickGene
- 未使用の遠沈管*(大/小のセット)
- マイクロピペット
- マイクロピペット用チップ
- 1.5ml、2mlマイクロチューブ
- チューブスタンド
- チューブミキサー(2,500rpm程度の攪拌ができるもの)
- マイクロ遠心機(8,000×g(10,000rpm)程度の遠心が可能なもの)
- シェーカー(55°Cでシェーキングできるもの)
- ヒートブロックまたはウォーターバス(70°Cで使用可能なもの)*2

*1 遠沈管はQG-810で、所定量の特級エタノールを添加したWDT、CDTを入れる容器として使用します。QG-Mini80/QG-Mini480をご使用の場合は不要です。

*2 マウス尾から分離される場合は不要です。

遠沈管の推奨品は、表1のとおりです。使用するカートリッジ数に応じて使い分けてください。

表1 遠沈管の種類(QG-810ご使用の場合)

バッファスタンド (または遠沈管ホルダ) のサイズ	対応する カートリッジ数	遠沈管の種類	品名
標準	～ 16	大きい遠沈管(WDT用)	Falcon Conical Centrifuge Tubes (50 ml)
		小さい遠沈管(CDT用)	Falcon Conical Centrifuge Tubes (15 ml)
大	～ 72	大きい遠沈管(WDT用)	Falcon Conical Centrifuge Tubes (175 ml)
		小さい遠沈管(CDT用)	Falcon Conical Centrifuge Tubes (50 ml)

4. 取扱上の安全注意事項

◆ EDT (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は、水で十分に洗ってください。

◆ MDT (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。

◆ LDT (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。

◆ WDT (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は、水で十分に洗ってください。

◆ CDT (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は、水で十分に洗ってください。

◆ LDTは、温度の高い場所での使用、保存は避けてください。

◆ LDT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、使用後廃棄する場合

感染性のおそれのあるサンプルを使用し、使用後廃棄する場合は、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(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(<http://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、基本的に動物組織5mgからのゲノムDNAの分離に対応しています。

表2: 処理可能最大組織量

Balb/cマウス(メス、7週齢)正常組織での例です。

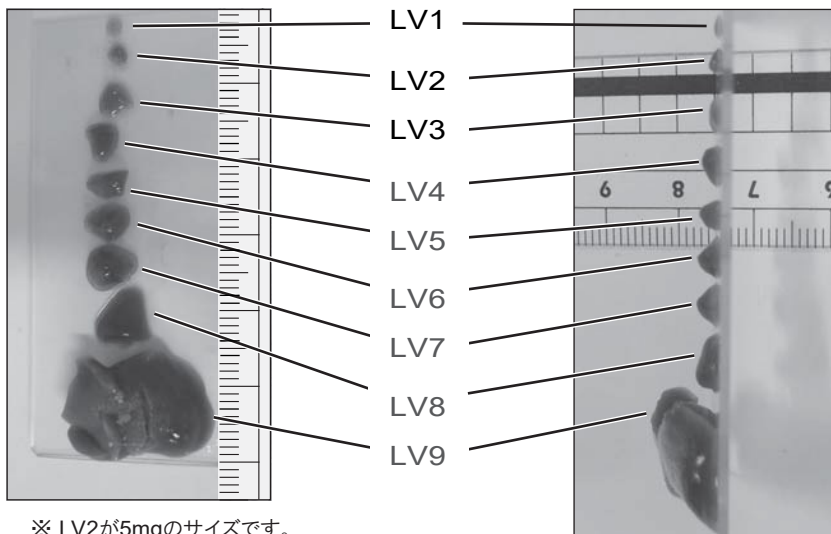
組織部位	処理可能最大組織量
肝臓	10 mg
肺	10 mg
腎臓	10 mg
尾	10 mg

- 処理可能最大組織量は組織の状態、部位などにより変動します。組織部位、状態、消化の状態によっては処理可能最大組織量が表2に示した量より少なくなることもあります。
- 本キットで初めて分離されるサンプルの場合は、組織量5mg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、最悪の場合カートリッジ(CA)が目詰まりを起こす可能性があります。
- ゲノムDNAと共にRNAが精製されます。RNAの混入が好ましくない場合は、RNase処理を行ってください。
- サンプルを室温で放置したり、凍結、融解を繰り返した場合、ゲノムDNAが分解したり収量が低下することがあります。
- 図1にマウス正常組織(肝臓)の重量とサイズの対応例を実寸大で示します。組織重量の参考にしてください。

図1: マウス正常組織(肝臓)の重量とサイズの対応例

Balb/cマウス(メス、7週齢)正常組織での例です。

No.	実測値	長軸	短軸	高さ	
LV1	2.3mg	1.5mm	1.5mm	0.5mm	処理可能範囲
LV2	5.0mg	2.0mm	2.0mm	1.0mm	
LV3	11.6mg	4.0mm	4.0mm	1.0mm	
LV4	16.2mg	5.0mm	4.0mm	2.0mm	適用外
LV5	21.7mg	5.0mm	3.5mm	2.5mm	
LV6	25.6mg	6.0mm	5.0mm	2.5mm	
LV7	30.7mg	7.0mm	5.0mm	2.5mm	
LV8	56.7mg	8.0mm	7.0mm	2.5mm	
LV9	850.2mg	20.0mm	14.0mm	8.0mm	



※ LV2が5mgのサイズです。

◆ 試薬に関する注意事項

- MDT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、55°Cで溶解後、室温に戻してから使用してください。
- LDT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、37°Cで溶解後、室温に戻してから使用してください。
- LDTは、温度の高い場所での使用、保存は避けてください。
- LDT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。

◆操作に関する注意事項

- すべての操作は室温(15~30℃)で行ってください。低温または高温でご使用の場合、キットの性能が発揮されないことがあります。
- 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。
- 下記ページを参照し、QuickGeneの準備をした上でライセート作製を開始することをお勧めします。
QG-810をご使用の場合:8-3(p.19)、付録1(p.33)、付録2(p.34)
QG-Mini80をご使用の場合:8-4(p.22)
QG-Mini480をご使用の場合:8-5(p.27)
- 詳しくは、QuickGeneの取扱説明書を参照してください。

6. 品質管理

- キットロット間の性能差がないことを確認しています。
- QuickGene DNA tissue kit S(DT-S)には、ゲノムDNA、DNaseおよび菌のコンタミネーションがない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、260nm/280nmの吸光度比によって確認しています。

7. 製品説明

本キットは、動物組織からのゲノムDNAの分離に対応します。基本処理可能量は5mgです。マウス正常組織より本キットを用いて分離した際のゲノムDNA収量、純度例(A260/280)は表3のとおりです。

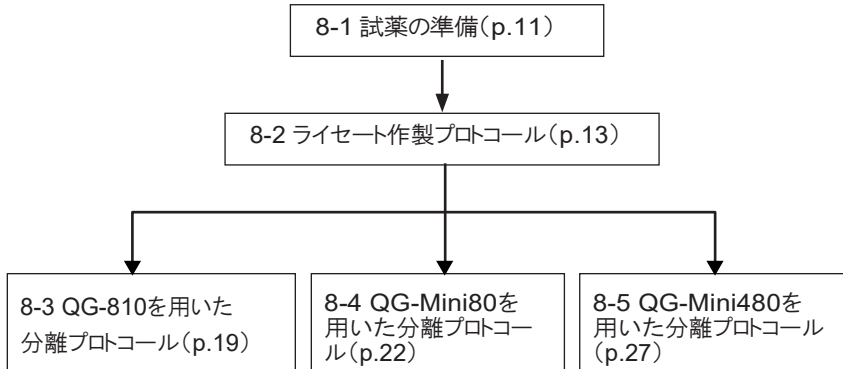
表3 ゲノムDNAの収量例(RNase処理あり)
Balb/cマウス(メス、7週齢)正常組織での例です。

組織	5mgあたり収量例	A260/280
肝臓	4.5 μ g	1.88
尾	4.0 μ g	1.92

- 収量はサンプルの状態により変動します。
- 凍結サンプルで、凍結、融解を繰り返した場合、ゲノムDNA収量や分子量が低下することがあります。
- ゲノムDNAと共にRNAが精製されます。RNAの混入が好ましくない場合は、RNase処理を行ってください。肝臓などRNAを多く含む組織の処理量が多い場合、標準のRNase処理をしてもRNAを充分分解できないことがありますので、RNaseの使用条件を検討してください。
- CDT量の初期値は200 μ lです。最低回収量は50 μ l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

◆EDT(2.5ml)

EDTはより安定に保つため、冷蔵(2 ~ 8°C)で保存することをお勧めします。

◆MDT(25ml)

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、55°Cで溶解後、室温に戻してから使用してください。

◆LDT(30ml)

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。

◆WDT(160ml)

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。

◆CDT(100ml)

ゲノムDNA溶出時には、必ずCDTを使用してください。

◆RNase A(RNase処理をする場合)

RNase Aはキットには含まれていません。p.5の推奨RNase Aを準備してください。

◆ WDT(特級エタノール添加済み)およびCDTの必要量(QG-810をご使用の場合)

表4を参考に、分離処理をするカートリッジ数に応じて、WDT、CDTの必要量を準備してください。

準備した液は、指定の遠沈管(表1 p.6参照)に移し、QG-810のバッファスタンド(または遠沈管ホルダ)の所定の位置にセットしてください。

表4 WDT、CDT必要量

カートリッジ数	WDT(QG-810)	CDT(QG-810)
8	26 ml	9 ml
16	44 ml	11 ml
24	62 ml	13 ml
32	80 ml	15 ml
40	99 ml	17 ml
48	117 ml	19 ml
56	135 ml	21 ml
64	154 ml	22 ml
72	172 ml	24 ml

※ ディスチャージなどに必要な液量は、

WDT 8.0ml、CDT 7.4mlです。

カートリッジ数に応じてWDT、CDTを加算してください。

1カートリッジあたりWDT 2.25ml、CDT 200 μ l使用します。

例えばカートリッジ2本使用する場合は、12.5mlのWDTと7.8mlのCDTが必要です。

※ WDT、CDT用遠沈管のサイズは表1(p.6)を参照してください。

8-2 ライセート作製プロトコール

本キットは、基本的に動物組織5mgからのゲノムDNAの分離に対応しています。

【分離を始める前の重要事項】

- 試薬類は室温に戻してから使用してください。
- 組織溶解に使用するシェーカーを55℃に設定してください。(p.15、18<3>で使用)
- 動物組織(マウス尾以外)からの分離を行う場合は、ヒートブロックまたはウォーターバスの温度を70℃に設定してください。
- サンプルおよび試薬の液量はライセート作製フロー(p.14、17)に記載された液量を厳守してください。
- 動物から切り取った組織は、所定量を直ちにMDTへ浸してください。
- すぐに使用しない場合は、液体窒素で素早く凍結し、冷凍保存(-20℃または-80℃)してください。
- サンプルを室温で放置したり、凍結、融解を繰り返すと、ゲノムDNAが分解したり、収量が低下することがあります。
- クロスコンタミネーションを防ぐために毎回ピペットチップを交換することをお勧めします。
- LDT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。
- 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。
- 感染性のおそれのあるサンプルを使用し、使用後廃棄する場合は、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。

【分離を始める前の確認事項】

- WDTは濃縮状態でお届けします。分離を始める前に必ず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。

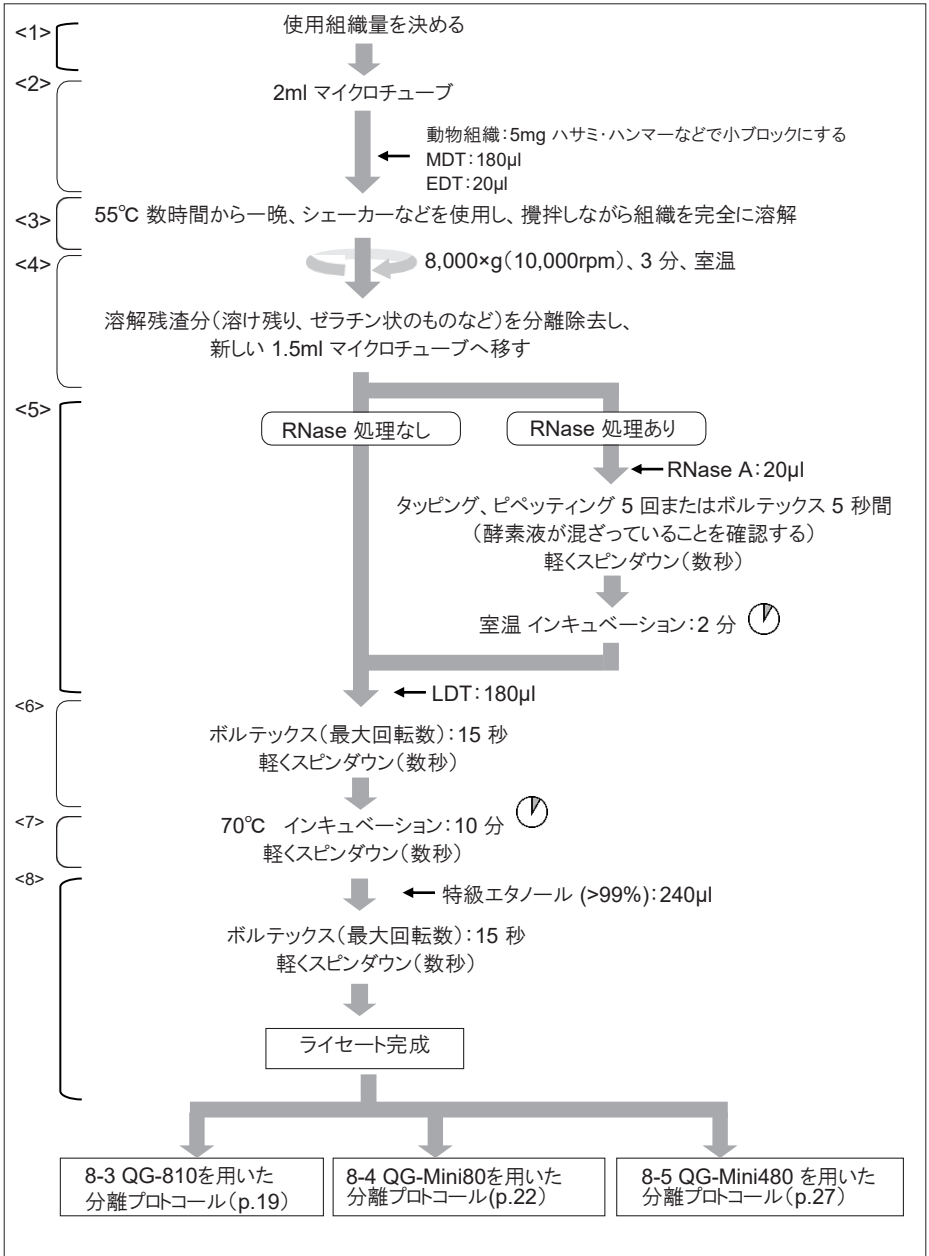
動物組織の場合とマウス尾の場合でプロトコールが異なります。所定のプロトコールをお使いください。

動物組織 :p.14

マウス尾 :p.17

動物組織：ライセート作製フロー

ライセート作製プロトコール



動物組織：ライセート作製プロトコール詳細

<1> 動物から切除した新鮮または凍結組織を準備してください。組織サンプルは所定量（基本的には5mg）を使用してください。

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

室温で組織を放置しないでください。ゲノムDNAが分解してしまいます。

<2> 組織をハサミ、ハンマーなどで1.5 ~ 2mm角の小ブロックにし、動物組織重量を測定し、2mlマイクロチューブに入れてください。MDTを180 μ l、続いてEDTを 20 μ l添加します。

凍結組織を使用する場合、組織を室温にしてから直ちにMDTを添加してください。新鮮な組織を使用する場合は、所定量の組織へ直ちにMDTを添加してください。

<3> 55 $^{\circ}$ Cにて攪拌しながら、組織を完全に溶解させます。攪拌しなかった場合、所定量の組織でも完全に溶解しない場合があります。できれば加温できるシェーカーなどで攪拌してください。加温できるシェーカーをお持ちでない場合は、ヒートブロックなどを使用し、時々ボルテックスして組織をよく溶解してください。

溶解時間は組織の種類により変わります。例えば、脳・肺・腎臓の場合は16時間程度、肝臓の場合は3時間程度を目安としてください。溶解しにくい場合は、時間を延長してください。

<4> 不溶分を除くため、8,000 \times g（およそ10,000rpm）、3分、室温にて遠心します。残渣分（溶け残り、ゼラチン状のもの）を吸い取らないように、新しい1.5mlマイクロチューブに上清を移してください。

<5> RNase処理

ゲノムDNAと共にRNAが精製されます。RNAの混入が好ましくない場合は、RNase処理を行ってください。RNase処理をしない場合は、<6>へ進んでください。

RNase Aを20 μ l添加してください（Cat. No. 12091（Thermo Fisher Scientific）の場合は60 μ l）。タッピングやピペッティング5回、または、ボルテックスを5秒程度行うことで

RNase Aをサンプル液とよく混ぜてください。数秒間スピンドアウンして、マイクロチューブの蓋や壁に付着した液を収集します。室温にて2分間インキュベーションします。

RNase Aは3-①(p.5)を参照して推奨品を使用し、DNaseフリーでないRNase Aを使用する場合は、DNase不活化処理（100 $^{\circ}$ Cにて15分インキュベーション）をしてください。

組織の種類によりRNAの含有量が違います。含有量が低い組織の場合、使用するRNase A量を減量することができます。

<6> サンプル液にLDTを180 μ l添加し、最大回転数で15秒間ボルテックスします。数秒間スピンドアウンして、マイクロチューブの蓋や壁に付着した液を収集します。

LDTの混和がボルテックスで不十分なときは、タッピング、ピペッティングあるいは転倒混和などでよく混ぜてください。LDT液添加時に混合液が白くなったり沈殿物が生じることがありますが、70 $^{\circ}$ Cに加熱すると溶解します。

<7> 70 $^{\circ}$ Cにて10分間インキュベーションします。数秒間スピンドアウンして、マイクロチューブの蓋や壁に付着した液を収集します。

<8> 特級エタノール(>99%)を240 μ l添加し、最大回転数で15秒間ボルテックスします。数秒間スピンドアウンして、マイクロチューブの蓋や壁に付着した液を収集します(ライセート完成)。

混和がボルテックスで不十分なときは、タッピング、ピペッティングあるいは転倒混和などでよく混ぜてください。

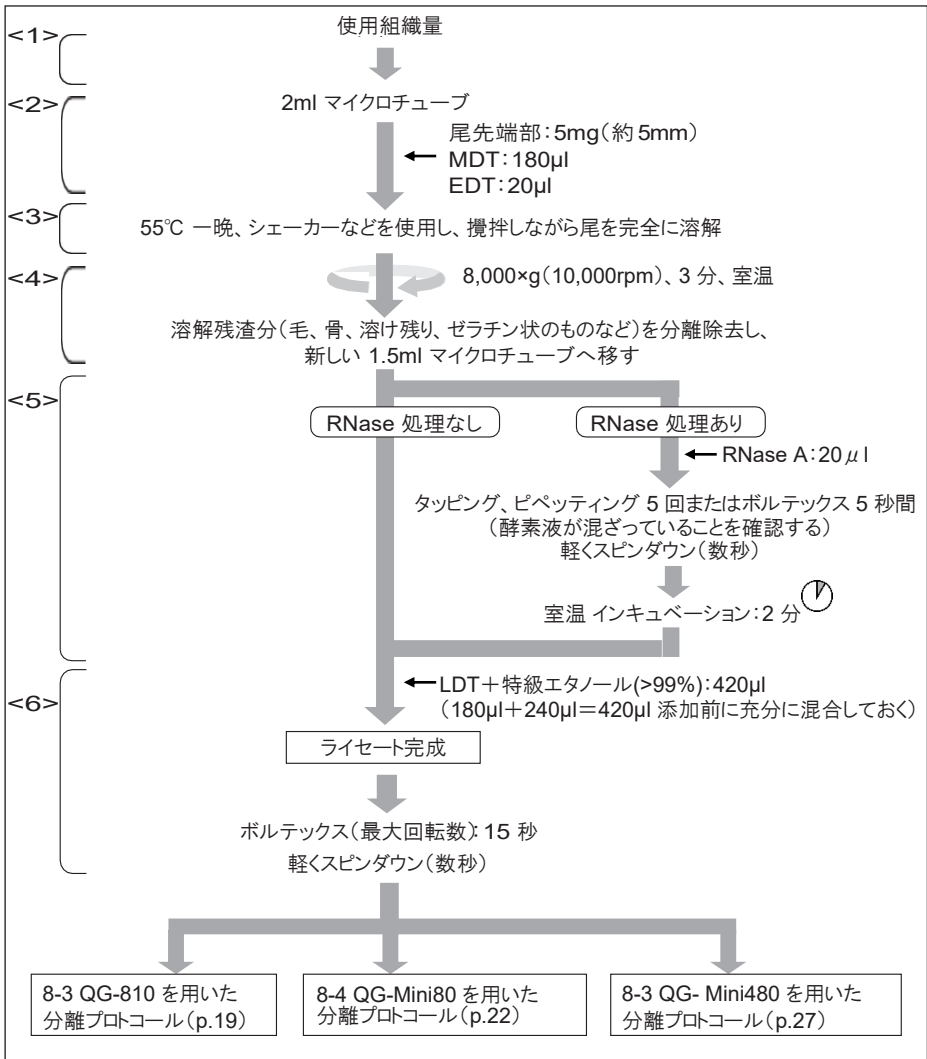
ライセート完成後は、速やかにQuickGeneにて分離操作を行ってください。

8-3 QG-810を用いた分離プロトコル(p.19)

8-4 QG-Mini80を用いた分離プロトコル(p.22)

8-5 QG-Mini480を用いた分離プロトコル(p.27)

マウス尾:ライセート作製フロー



マウス尾:ライセート作製プロトコール詳細

<1> マウスから切除した新鮮または凍結した尾を準備してください。尾は所定量(基本的には5mg)を使用してください。

量が多すぎた場合、カートリッジ(CA)の目詰まり、顕著な収量減少、精度低下の可能性があります。

目詰まりした場合は、組織量を減らして検討してください。

マウスの尾5mgはおおよそ5mmですが、マウスの種類、週齢などで異なります。

切断した尾を室温で放置しないでください。ゲノムDNAが分解してしまいます。

<2>尾先端部の重量を測定し、2mlマイクロチューブに入れてください。MDTを180 μ l、続いてEDTを20 μ l添加します。

凍結組織を使用する場合、組織を室温にしてからMDTを添加してください。
新鮮な組織を使用する場合は、所定量の組織へ直ちにMDTを添加してください。

<3>55°Cにて攪拌しながら、尾を完全に溶解させます。攪拌しなかった場合、所定量の尾でも完全に溶解しない場合があります。できれば加温できるシェーカーなどで攪拌してください。加温できるシェーカーをお持ちでない場合は、ヒートブロックなどを使用し、時々ボルテックスして尾をよく溶解してください。

溶解時間はマウスの週齢により変わります。7週齢メスのマウスの場合、16時間程度で溶解します。
溶解しにくい場合は、時間を延長してください。

<4>不溶分・毛・骨などを除くため、8,000 \times g(およそ10,000rpm)、3分、室温にて遠心します。残渣分(毛、骨、溶け残り、ゼラチン状のもの)を吸い取らないように、新しい1.5mlマイクロチューブに上清を移してください。

<5>RNase処理

ゲノムDNAと共にRNAが精製されます。RNAの混入が好ましくない場合は、RNase処理を行ってください。RNase処理をしない場合は、<6>へ進んでください。

RNase Aを20 μ l添加してください(Cat. No. 12091(Thermo Fisher Scientific)の場合は60 μ l)。タッピングやピペッティング5回、または、ボルテックスを5秒程度行うことでRNase Aをサンプル液とよく混ぜてください。数秒間スピンドアウンして、マイクロチューブの蓋や壁に付着した液を収集します。室温にて2分間インキュベーションします。

RNase Aは3-①(p.5)を参照して推奨品を使用し、DNaseフリーでないRNase Aを使用する場合は、DNase不活化処理(100°Cにて15分インキュベーション)をしてください。

尾の状態によりRNAの含有量が違います。含有量が低い場合、使用するRNase A量を減量することができます。

<6>あらかじめ、1サンプルにつきLDT 180 μ lと特級エタノール(>99%)240 μ lを十分に混和しておきます。サンプル液にLDT・特級エタノール混合液(420 μ l)を添加し、最大回転数で15秒間ボルテックスします。数秒間スピンドアウンして、マイクロチューブの蓋や壁に付着した液を収集します(ライセート完成)。

混和がボルテックスで不十分なときは、タッピング、ピペッティングあるいは転倒混和などでよく混ぜてください。

ライセート完成後は、速やかにQuickGeneにて分離操作を行ってください。

8-3 QG-810を用いた分離プロトコール(p.19)

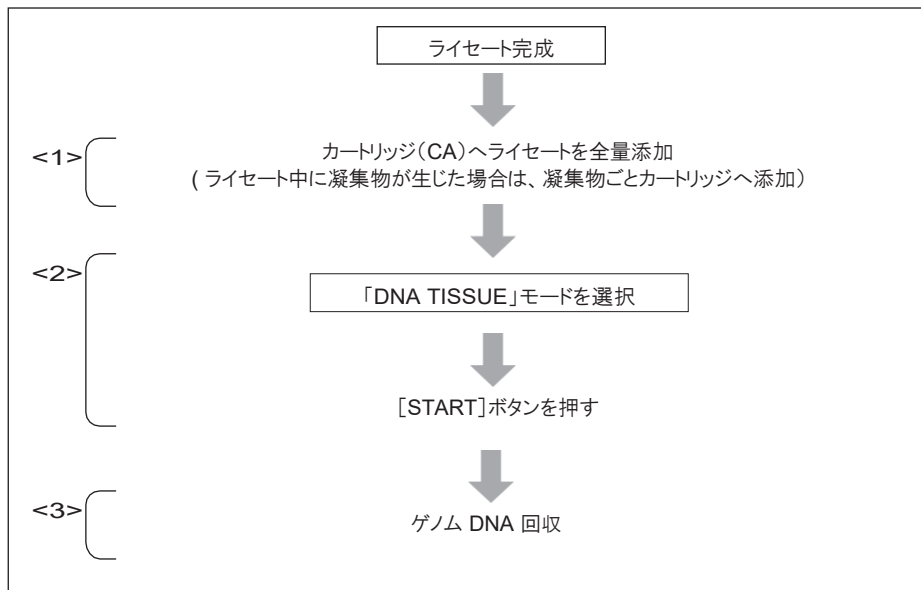
8-4 QG-Mini80を用いた分離プロトコール(p.22)

8-5 QG-Mini480を用いた分離プロトコール(p.27)

8-3 QG-810を用いた分離プロトコール

- ご使用になる前にQG-810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。
- WDT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-810の分離モードは、「DNA TISSUE」モードを選択してください。
- 各試薬、カートリッジ(CA)および各チューブはクリーンルームで生産されております。ご使用の際はヌクレアーゼの混入を避けるため、手袋を着用してセットしてください。
- カートリッジ(CA)および各チューブのセットの方法、および各試薬のセット位置については、QG-810の取扱説明書をお読みください。
- QG-810のフロントカバーを開けて、専用のコレクションチューブ(CT)、ウェイトチューブ(WT)をチューブホルダ(またはコレクションチューブホルダ)に差し込みます。カートリッジは専用カートリッジ(CA)を使用してください。
- p.11を参考に、WDT(特級エタノール添加済み)、CDTをQG-810にセットしてください。
- カートリッジ(CA)の位置がずれていると、液がこぼれたり、分離操作ができないおそれがあります。
- フロントカバーを閉め、オペレーションパネルの[DISCHARGE]ボタンを押してください。デイ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WDT、CDTが注入されず、正確な結果が得られません。
- カートリッジ(CA)内のフィルターにピペットチップが触れないように注意してください。
- LDT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、使用後廃棄する場合は、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-810分離フロー



QG-810分離プロトコール詳細

<1>〈ライセート添加〉8-2(p.13~18)で調製したライセート全量をカートリッジ(CA)へ添加します。

ライセート中に凝集物が生じた場合は、ピペティングにより凝集物を浮かせ、全量を凝集物ごとカートリッジへ添加します。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。やむを得ず放置する場合は、ライセート完成後30分以内分離してください。

<2>〈分離〉分離モードは、本キット用にパラメータ設定したモードを選択してください。パラメータの確認方法は、付録(p.38)を参照してください。QG-810のフロントカバーを閉め、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から、[START]ボタンを押します。

分離操作が始まるとオペレーションパネルに「PROCESSING」と表示されます。QG-810をご使用の場合、分離状況が各ランプ(BINDING、WASHING、ELUTION)の点滅によって確認できます。

注意 分離動作中(「PROCESSING」と表示されているとき)はフロントカバーを開けないでください。万一開けると、分離動作が停止し、継続分離できない場合があります。表5で確認してください。

表5 分離中にフロントカバーを開けた場合の動作

	QG-810
分離動作	停止
分離継続	可能*1

*1 QG-810 取扱説明書のp.29「3.6 分離処理中にフロントカバーを開いた場合の対処方法」を参照してください。

- <3> <分離終了>ピピーッ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表示されます。

表6 分離結果

	QG-810	備考
正常終了	✓ (チェック)	
分離不良	— (ハイフン)	カートリッジの詰まり
カートリッジ未装着	— (アンダーバー)	カートリッジなしまたは分離前にエラーが発生

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、チューブホルダ(または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(CT)を取り出します。カートリッジ(CA)からのゲノムDNA溶出量は、200μlです。

CDT量は50μlまで下げられますが、その場合、収量が3割ほど低下する可能性があります。すぐにゲノムDNAを使用しない場合はキャップ(CAP)をしっかりと閉めた後、4°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。

- <4> ウェイストチューブ(WT)を取り出します。ウェイストチューブと廃液を規定に従って捨ててください。カートリッジホルダを取り外し、カートリッジ(CA)も処分します。ディスチャージトレイの廃液も捨ててください。

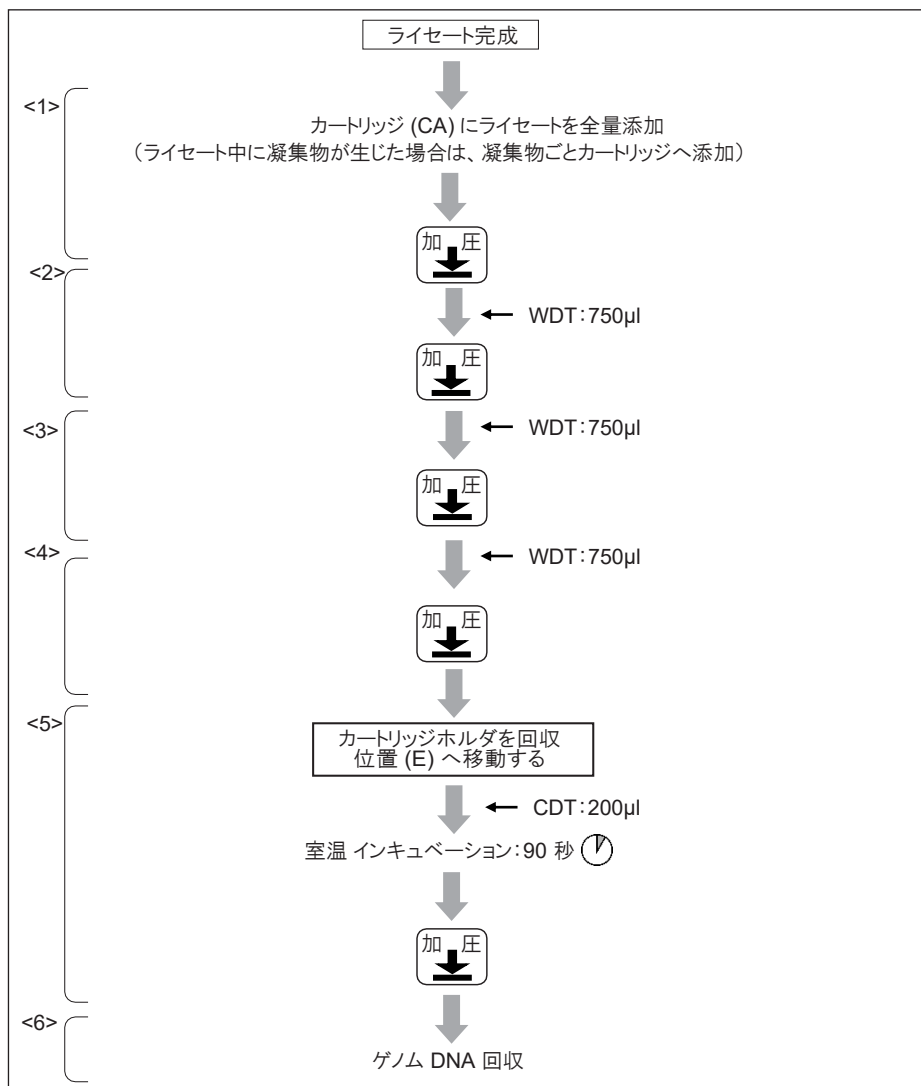
8-4 QG-Mini80を用いた分離プロトコール

- ご使用になる前にQG-Mini80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。
- WDT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。
- チューブホルダにウェイトチューブ(WT)をセットしてください。
- チューブホルダにチューブアダプタを取り付け、コレクションチューブ(CT)をセットしてください。コレクションチューブの代わりに1.5mlマイクロチューブを使用することもできます。この場合、チューブアダプタは不要です。
- カートリッジホルダをチューブホルダの洗浄位置(W)に差し込み、カートリッジ(CA)をセットします。その際、カートリッジホルダ右のリリースレバーが左端に戻っていることを確認してからカートリッジをセットしてください。
- チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini80本体にセットする際は、奥に突き当たるまで押し込んでください。
- ライセートおよびWDT(特級エタノール添加済み)を加圧する際は、QG-Mini80本体トレイ上のWASHラベルが完全に見えていることを確認してください。
- CDTを加圧する際は、QG-Mini80本体トレイ上のWASHラベルがチューブホルダの下に隠れて見えないことを確認してください。
- 加圧操作を繰り返しても液が残っているカートリッジ(CA)がある場合は、そのカートリッジだけを上へ引き抜き、トラブルシューティング((2)、p.32)に従い別途処理を行ってください。
- カートリッジ(CA)内のフィルターにピペットチップが触れないように注意してください。
- LDT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、使用後廃棄する場合は、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-Mini80分離フロー

分離フロー中の加圧マークは下記操作を意味しています。

- ① チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini80にセットする
- ② 加圧スイッチを手前に回して加圧開始
- ③ カートリッジ(CA)内に液が残っていないことを確認してから加圧スイッチを元の位置に戻す
- ④ チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini80から取り出す



QG-Mini80分離プロトコール詳細

- <1> 〈ライセート添加〉8-2(p.13~18)で調製したライセート全量をカートリッジ(CA)へ添加します。チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini80本体にセットします。その際、本体トレイ上のWASHラベルが完全に見えていることを確認してください。QG-Mini80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内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。

ライセート中に凝集物が生じた場合は、ピペッティングにより凝集物を浮かせ、全量を凝集物ごとカートリッジに添加します。

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。やむを得ず放置する場合は、ライセート完成後30分以内に分離してください。

加圧はおよそ1分で自動的にストップします。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〉チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)を引き出し、WDT 750 μ lをカートリッジ(CA)へ添加します。チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini80本体にセットします。その際、本体トレイ上のWASHラベルが完全に見えていることを確認してください。QG-Mini80本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。WDTがカートリッジ内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。

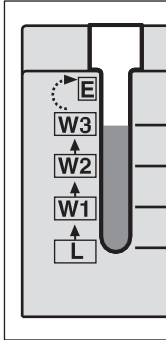
加圧はおよそ1分で自動的にストップします。加圧が自動的にストップした後もWDTがカートリッジ内に残っている場合は、加圧スイッチをいったん元の位置に戻し、再度加圧スイッチを手前に回して加圧を行ってください。

- <3> 〈洗浄2回目〉チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)を引き出し、WDT 750 μ lをカートリッジ(CA)へ添加します。チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini80本体にセットします。その際、本体トレイ上のWASHラベルが完全に見えていることを確認してください。QG-Mini80本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。WDTがカートリッジ内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1分で自動的にストップします。加圧が自動的にストップした後もWDT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。

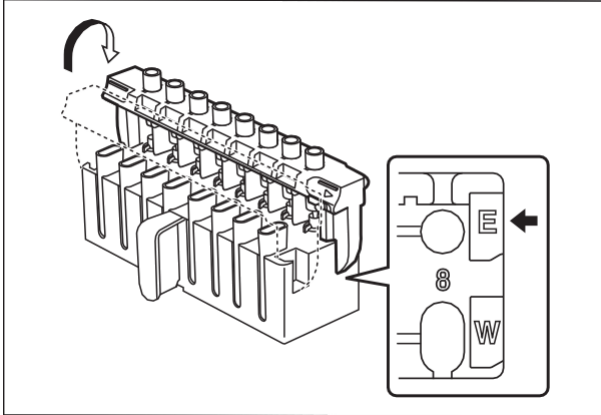
<4> 〈洗浄3回目〉チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)を引き出し、WDT 750 μ lをカートリッジ(CA)へ添加します。チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini80本体にセットします。その際、本体トレイ上のWASHラベルが完全に見えていることを確認してください。QG-Mini80本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。WDTがカートリッジ内に残っていないことを確認し、加圧スイッチを元の位置に戻します。

加圧はおよそ1分で自動的にストップします。加圧が自動的にストップした後もWDT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。3回目のWDT加圧終了後、チューブホルダの廃液目盛りの廃液高さは「W3」の位置になります(下記イラスト参照)。4回以上WDTを添加しないでください。カートリッジに廃液が付着してコンタミネーションを起こしたり、ウェイトチューブ(WT)から廃液があふれたりすることがあります。



<5> <回収>チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)を引き出し、リリースレバーに触れないように注意しながら、カートリッジホルダを回収位置(E)に移動します(下記イラスト参照)。CDT 200 μ lをカートリッジ(CA)へ添加し、チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini80本体にセットします。その際、本体トレイ上のWASHラベルがチューブホルダの下に隠れて見えなくなっていることを確認してください。室温にて90秒間インキュベート後、QG-Mini80本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。CDTがカートリッジ内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1分で自動的にストップします。加圧が自動的にストップした後もCDT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。溶出液量は50 μ lまで下げられますが、その場合、収量が3割ほど低下する可能性があります。



<6> チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)を引き出します。チューブホルダからカートリッジホルダをはずし、カートリッジ(CA)を捨てます。カートリッジホルダ右のリリースレバーを右端にスライドさせるとカートリッジが落下します。コレクションチューブ(CT)を取り出し、専用チューブブラック(別売)にコレクションチューブを並べ、キャップ(CAP)をしっかりと閉めます。専用チューブブラックをお持ちでない場合は、キャップを閉めてから、コレクションチューブを取り出してください。コレクションチューブの代わりに1.5mlマイクロチューブを使用した場合は、1.5ml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(WT)と廃液を規定に従って捨ててください。

すぐにゲノムDNAを使用しない場合は、キャップまたは1.5mlマイクロチューブの蓋をしっかりと閉めた後、4 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ Cで保存することをお勧めします。

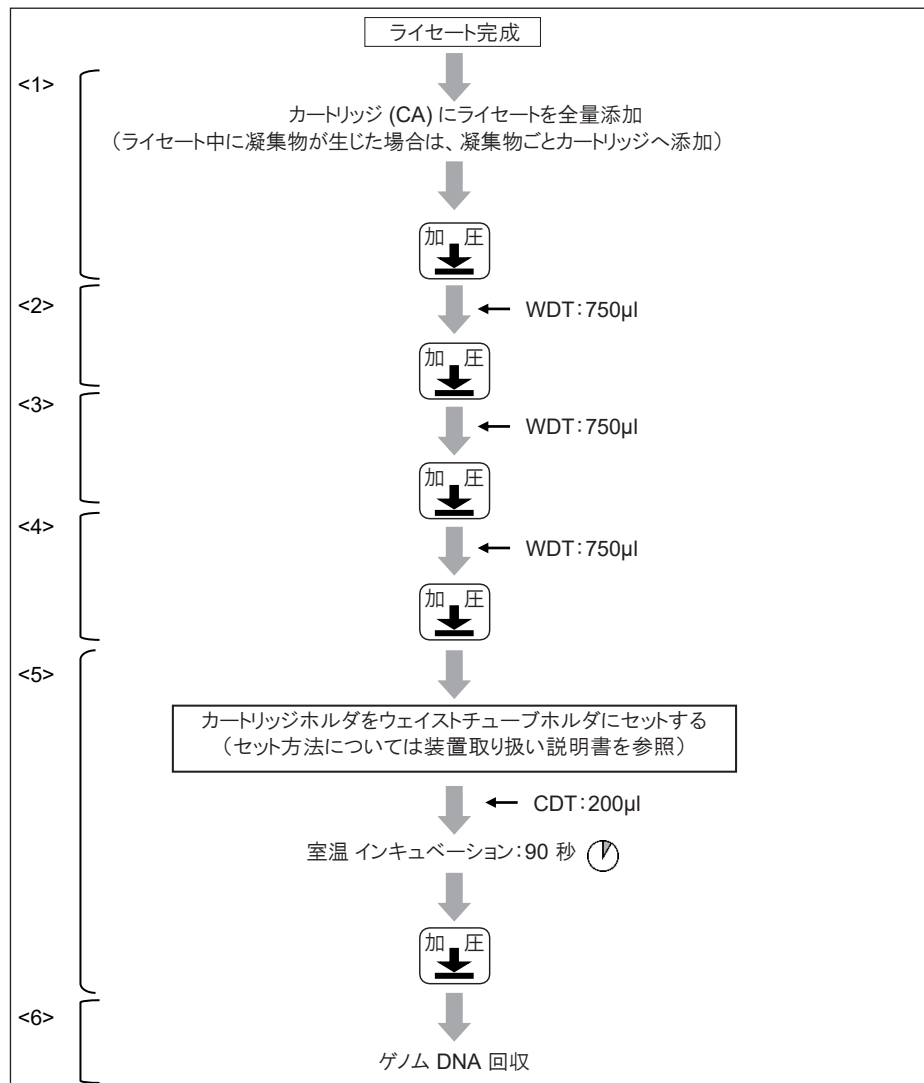
8-5 QG-Mini480を用いた分離プロトコール

- ご使用になる前にQG-Mini480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。
- WDT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。
- ウェイトチューブホルダにウェイトチューブ(WT)をセットしてください。
- コレクションチューブホルダにコレクションチューブ(CT)をセットし、セパレーターを上から被せてください。
- カートリッジホルダをウェイトチューブホルダにセットし、カートリッジ(CA)をセットしてください。その際、カートリッジホルダがウェイトチューブホルダの溝に合わせてセットされていることを確認してください。装置にホルダをセットする際、ホルダの取っ手側が装置手前になります。
- チューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini480本体にセットする際は、奥に突き当たるまで押し込んでください。
- ライセートおよびWDT(特級エタノール添加済み)を加圧する際は、QG-Mini480本体トレイ上のWASHラベルが完全に見えていることを確認してください。
- CDTを加圧する際は、QG-Mini480本体トレイ上のWASHラベルがチューブホルダの下に隠れて見えないことを確認してください。
- ライセートをアプライした列に加圧シールプレートをセットしてください。加圧シールプレートはパッキン面がカートリッジ側になるようにセットし、加圧シールプレートの両端がカートリッジホルダの溝に確実にセットされていることを確認してください。
- カートリッジホルダとウェイトチューブホルダ(あるいはコレクションチューブホルダ)を本体にセットする際、ウェイトチューブホルダ及びコレクションチューブホルダは各列で固定されるようになっています。各列が加圧ノズルの真下にくる位置までホルダをゆっくりと押し込んでください。
- カートリッジホルダをウェイトチューブホルダより取り外し、コレクションチューブホルダにセットする際は、セパレーターがコレクションチューブホルダの上に載っていることを確認してください。カートリッジホルダをコレクションチューブホルダの所定の位置にセットし、セパレーターを抜き取ってください。
詳しくは、「QuickGene-Mini480の取扱説明書:2 操作方法」を参照してください。
- 加圧操作を繰り返しても液が残っているカートリッジ(CA)がある場合は、そのカートリッジだけを上へ引き抜き、トラブルシューティング ((2)、p.32)に従い別途処理を行ってください。
- カートリッジ(CA)のフィルターにピペットチップが触れないように注意してください。
- LDT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、使用後廃棄する場合は、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-Mini480分離フロー

分離フロー中の加圧マークは下記操作を意味しています。

- ① ウェイストチューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini480本体にセットする
- ② 加圧スイッチを手前に回して加圧開始
- ③ カートリッジ(CA)内に液が残っていないことを確認してから加圧スイッチを元の位置に戻す
- ④ カートリッジホルダをコレクションチューブホルダにセットする
- ⑤ 加圧スイッチを手前に回して加圧開始
- ⑥ コレクションチューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini480本体から取り出す



QG-Mini480分離プロトコール詳細

<1><ライセート添加>8-2(p.13)で調整したライセート全量をカートリッジ(CA)へ添加します。カートリッジホルダの所定の位置に加圧シールプレートをセットします。ウェイトチューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini480本体にセットします。その際、ウェイトチューブホルダの取っ手側が装置手前となります。カートリッジの1列目が加圧ノズルの真下にくる位置までホルダをゆっくりと押し込み、QG-Mini480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内に残っていない事を確認し、加圧スイッチを元の位置に戻します。

ライセート中に凝集物が生じた場合は、ピペッティングにより凝集物を浮かせ、全量を凝集物ごとカートリッジに添加します。

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。やむを得ず放置する場合は、ライセート完成後30分以内に分離してください。

加圧は70秒で自動的にストップします。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>ウェイトチューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)を引き出し、WDT 750 μ lをカートリッジ(CA)へ添加します。ウェイトチューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini480本体にセットします。QG-Mini480本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。WDTがカートリッジ内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70秒で自動的にストップします。加圧が自動的にストップした後もWDT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。

<3><洗浄2回目>ウェイトチューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)を引き出し、WDT 750 μ lをカートリッジ(CA)へ添加します。ウェイトチューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini480本体にセットします。QG-Mini480本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。WDTがカートリッジ内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70秒で自動的にストップします。加圧が自動的にストップした後もWDT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。4回以上WDTを添加しないでください。カートリッジに廃液が付着してコンタミネーションを起したり、ウェイトチューブ(WT)から廃液があふれたりすることがあります。

<4>〈洗浄3回目〉ウェイトチューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)を引き出し、WDT 750 μ lをカートリッジ(CA)へ添加します。ウェイトチューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini480本体にセットします。QG-Mini480本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。WDTがカートリッジ内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70秒で自動的にストップします。加圧が自動的にストップした後もWDT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。

<5>〈回収〉セパレーターがコレクションチューブホルダの上に載っていることを確認してください。ウェイトチューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)を引き出し、カートリッジホルダをウェイトチューブホルダより取り外し、コレクションチューブホルダの所定の位置にセットします。セパレーターを引き抜き、カートリッジホルダをコレクションチューブホルダの溝にセットします。

※詳しくは、「QuickGene-Mini480の取扱説明書:2 操作方法 2.3」を参照してください。

CDT 200 μ lをカートリッジ(CA)へ添加し、コレクションチューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)をQG-Mini480本体にセットします。QG-Mini480本体の加圧スイッチを手前に回し、加圧を開始します。CDBがカートリッジ内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70秒で自動的にストップします。加圧が自動的にストップした後もCDT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。溶出液量は50 μ lまで下げられますが、その場合、収量が3割ほど低下する可能性があります。

<6>コレクションチューブホルダ(カートリッジホルダセット済み)を引き出します。カートリッジホルダをコレクションチューブホルダの所定の位置にセットし、セパレーターをカートリッジ(CA)とコレクションチューブ(CT)の間に差し込みます。カートリッジホルダをコレクションチューブホルダから取り外し、カートリッジ(CA)を捨てます。コレクションチューブ(CT)にキャップ(CAP)を付け、コレクションチューブホルダより取り出します。ウェイトチューブをウェイトチューブホルダから取り出し、廃棄してください。取り出したウェイトチューブと廃液は、規定に従って廃棄してください。

すぐにゲノムDNAを使用しない場合は、キャップまたは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。

9. トラブルシューティング

(*)QG-810をご使用の場合

(**)QG-Mini80/QG-Mini480をご使用の場合

トラブルが生じた場合には、以下の対策をご参照ください。

(1) DNAの収量が低い、DNAが得られない

原因	対策
組織の保存方法が不適切	組織の種類、大きさ、量、保管期間、保存条件でゲノムDNA収量は変わります。不適切な保存条件では収量が低下します。適切な条件でサンプルを保存してください。動物から組織を取り出したら、所定量を直ちにMDTへ浸すか、直ちに液体窒素で凍らせ、凍結(-20℃または-80℃)保存してください。
組織溶解が不完全	EDTを含むMDTに、組織を完全に浸して溶解してください。溶解するときに、組織を細かく切ってください。 加温できるシェーカーを用いてシェーキングを行い、よく攪拌してください。シェーカーを使用しない場合は、55℃にて加温しながら時々ボルテックスで混和してください。必要に応じて溶解インキュベーション時間を延長してください。 組織量が5mg以上の場合で、本キットで初めて分離する組織の場合は、組織5mgあたりのEDT:MDT比が20μl:180μlになるように比例計算で調整してください。LDT(動物組織の場合は180μl、マウス尾の場合はLDTと特級エタノール(>99%)混合液 420μl)と組織溶解後の遠心上清を混合するときは、遠心上清のうち200μlを採取してください。
マウス尾5mgをMDTとEDTで一晩溶解した後、溶解物がゲル状になった	組織溶解中の攪拌が不十分です。液が混ざり合うように攪拌しながらインキュベートしてください。振とう培養器、ハイブリオープンなどを利用してサンプルチューブ栓をして横倒した状態で攪拌、混和するとよく混ざります。攪拌が不完全であった場合、透明なゲル状の物が現れますが、ボルテックスでよく混ぜてゲル状の物を溶解してから、次のステップへ進んでください。
試薬、サンプルの添加順序が不適切	ライセート調製時、マイクロチューブには、溶解した組織サンプル→LDT→特級エタノール(>99%)の順で添加してください。尾の場合は、エタノールを加えたLDTをサンプルへ添加してください。
試薬の容量比が不適切	組織溶解後の遠心上清をロスした場合は、遠心上清量、LDT液量およびエタノール液量を「遠心上清:LDT:特級エタノール(>99%)=200:180:240」に、マウス尾の場合は「遠心上清:LDTと特級エタノール混合液=200:420」に調節してください。
フィルターが破れてしまった	カートリッジ(CA)内のフィルターにピペットチップが触れないように注意してください。
必要以上の加圧を行った(* *)	ライセートやWDTがカートリッジ(CA)から抜けたら、できるだけすぐに加圧をやめてください。必要以上に加圧してしまった場合、溶出時のインキュベーション時間を4分に延長すると収量が戻る可能性があります。
カートリッジ(CA)内の液が抜けた後放置した(* *)	QG-Mini80/QG-Mini480での分離を始めたら、途中で放置せずに最後まで続けてください。万一放置した場合、溶出時のインキュベーション時間を4分に延長すると収量が戻る可能性があります。
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2 p.8参照)。マウス尾先端部の場合、約5mmが5mgに相当します。
LDT添加後のボルテックスが不十分	LDT添加直後に、最大回転数で十分にボルテックス(15秒)または転倒混和してください。

原因	対策
WDTに所定量の特級エタノールを添加していない	WDT使用前には、必ず所定量の特級エタノール(>99%)を添加したことを確認してください。(8-1 p.11参照)
カートリッジ(CA)ヘライセート全量を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、凝集物も含めて全量をカートリッジに添加してください。
セット試薬の不足(*)	QG-810にセットした試薬が充分であることを確認してください。
CDT量が不適切(*)	QG-810:パラメータが変更されているか確認してください。特に、CDT量のパラメータ(「ELUT VOL」が間違っていないこと(「200」であることを)確認してください。また、ラインに気泡が残っていたらディスチャージ操作を行ってください。パラメータの設定についてはQG-810の取扱説明書も併せて参照してください。 QG-Mini80/QG-Mini480: CDT量が200µlであることを確認してください。
試薬に析出物が生じた	(6)「試薬に析出物が生じた」参照
ゲノムDNAの溶出にCDT以外の試薬を使った	ゲノムDNA溶出時にはCDTを使用してください。
古いWDTを使用した(*)	QG-810に1日以上セットされたWDTは使用しないでください。
DNAの分解	(3)「DNAが分解した」参照
カートリッジ(CA)内の液が抜けた後、放置した(**)	QG-Mini80/QG-Mini480での分離を始めたら、途中で放置をせずに最後まで続けてください。

(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2 p.8参照)。マウス尾先端部の場合約5mmが5mgに相当します。
LDT添加後のボルテックスが不十分	LDT添加直後に、最大回転数で十分にボルテックス(15秒)または転倒混和してください。
加圧時間が足りない(**)	もう一度、1分間加圧してください。
組織溶解が不完全	EDTを含むMDTに、組織を完全に浸して溶解してください。溶解するときに、組織を細かく切ってください。 加温できるシェーカーを用いてシェーキングを行い、よく攪拌してください。シェーカーを使用しない場合は、55℃にて加温しながら時々ボルテックスで混和してください。必要に応じて溶解インキュベーション時間を延長してください。
組織の不溶解物が詰まった	MDTとEDTで溶け残った残渣を、遠心(8,000×g(10,000rpm)、3分)して取り除いてからLDTを添加してください。
QG-810:完了後の表示が「-」となっているもしくはカートリッジにライセートまたはWDTが残っている(*) QG-Mini80/QG-Mini480:加圧操作を繰り返してもライセートやWDTが抜けきらない(**)	「補足(p.35)」を参考に、カートリッジ(CA)からフィルターを取り外して、DNAのリカバリーを試してください。

原因	対策
カートリッジ(CA)内の液が抜けた後、放置した(**)	QG-Mini80/QG-Mini480での分離を始めたなら、途中で放置をせずに最後まで続けてください。
ゲノムDNAの溶出にCDT以外の試薬を使った	ゲノムDNA溶出時にはCDTを使用してください。

(3) DNAが分解した

原因	対策
組織の保存方法が不適切	動物から組織を取り出したら、所定量を直ちにMDTへ浸すか、直ちに液体窒素で凍らせ、凍結保存(-20℃または-80℃)してください。

(4) DNAの純度が低い

原因	対策
所定の洗浄条件で行っていない(**)	洗浄はWDT 750μlで3回行ってください。
試薬、サンプルの添加順序が不適切	ライセート調製時、マイクロチューブには、溶解した組織サンプル→LDT→特級エタノール(>99%)の順で添加してください。尾の場合は、エタノールを加えたLDTをサンプルへ添加してください。
試薬の容量比が不適切	組織溶解後の遠心上清をロスした場合は、遠心上清量、LDT液量およびエタノール液量を「遠心上清:LDT:特級エタノール(>99%)=200:180:240」に、マウス尾の場合は「遠心上清:LDTと特級エタノール混合液=200:420」に調節してください。
LDT添加後のボルテックスが不十分	LDT添加直後に、最大回転数で十分にボルテックス(15秒)または転倒混和してください。
WDTに所定量のエタノールを添加していない	WDT使用前には、必ず所定量の特級エタノール(>99%)を添加したことをご確認ください。(8-1 p.11参照)

(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	260nm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、MDTは55℃、その他の試薬は37℃にて加温し析出物を溶解後、室温に戻してから使用してください。

(7) LDT→エタノール添加後、あるいはLDTとエタノール混合液添加後に白色沈殿物が発生

原因	対策
室温が低い	この沈殿物は、55°Cのインキュベーションで溶解されます。溶解後、室温に戻してから分離操作をしてください。
組織量が多すぎた	組織量が所定量(表2 p.10参照)より少なかったことをご確認の上、凝集物ごとカートリッジ(CA)に添加してください。

(8) コレクションチューブ(CT)または1.5mlマイクロチューブにサンプルが回収されない(空である)

原因	対策
CDTのセット量が不足またはディスチャージ操作を行っていない(*)	表4(p.12)に従い、必要量のCDTをセットしてください。また、QG-810の取扱説明書を参照し、ディスチャージ操作を必ず行ってください。
CDTを添加していない(**)	カートリッジホルダを回収位置(E)に移動させた後、CDTを200μl添加してください。
CDT添加の際、カートリッジホルダを回収位置(E)に移動させていない(**)	CDT添加時は、必ずカートリッジホルダをチューブホルダの回収位置(E)に移動させてから添加を行ってください。

(9) カートリッジ(CA)がカートリッジホルダに保持されない

原因	対策
カートリッジホルダ右のリリースレバーが左端に戻っていない(**)	リリースレバーが左端に戻っていることを確認してからカートリッジ(CA)をセットしてください。

補足：目詰まりしたカートリッジ(CA)からのDNAリカバリー方法

QG-810の場合：

<1> ライセートがカートリッジ(CA)に残っている場合

カートリッジに残ったライセートを新しいカートリッジに移し、8-3 <1> (p.20)以降の操作を再度行ってください。目詰まりしたカートリッジのフィルターからのリカバリーは、下記1)以降を参照して行ってください。

<2> WDTがカートリッジ(CA)に残っている場合

カートリッジに残ったWDTを捨ててください。目詰まりしたカートリッジのフィルターからのリカバリーは、下記1)以降を参照して行ってください。

QG-Mini80/QG-Mini480の場合：

<1> ライセート加圧工程で目詰まりした場合

カートリッジ(CA)に残ったライセートを新しいカートリッジに移し、QG-Mini80の場合は8-4<1>(p.23)以降の操作を再度行ってください。QG-Mini480の場合は8-5<1>(p.29)以降の操作を再度行ってください。目詰まりしたカートリッジのフィルターからのリカバリーは下記1)以降を参照して行ってください。

<2> WDT加圧工程で目詰まりした場合

カートリッジ(CA)に残ったWDTを捨ててください。目詰まりしたカートリッジのフィルターからのリカバリーは下記1)以降を参照して行ってください。

【目詰まりしたカートリッジ(CA)からのDNAリカバリー方法】

準備：70%エタノール、耳鼻科用ピンセットまたは先曲り先細ピンセット

- 1) あらかじめ、1.5mlマイクロチューブに200 μ l CDTを分取しておきます。
- 2) カートリッジ(CA)に70%エタノールを750 μ l添加します。数回ゆっくりとピペッティングした後、ピペットで吸うかデカンテーションして70%エタノールを除去します。カートリッジを逆さにして残りのエタノールをキムワイブなどに吸わせませす。
- 3) 図2、3を参考に、ピンセットの先でフィルターの外周を押さえつけながら、フィルターをカートリッジ(CA)より外してください。
- 4) 取り外したフィルターを1)で準備した1.5mlマイクロチューブ中のCDTに浸漬し、70 $^{\circ}$ C にて10分間インキュベーションします。
- 5) 最大回転数にてボルテックスを1分間行ってください。数秒間スピンドウンして、蓋や壁に付いた液を収集します。
- 6) フィルターを取り出し、新しい1.5mlマイクロチューブに入れます(リカバリー完了後、廃棄します)。または、フィルターを残して浸漬した液を新しい1.5mlマイクロチューブに移してください。
- 7) 8-2<6>(p.18)のLDT(180 μ l)と特級エタノール(>99%)(240 μ l)混合液(420 μ l)添加から再開し、マウス尾からゲノムDNAを分離する方法にてゲノムDNAを回収してください。

図2 ピンセットをカートリッジ(CA)に入れた様子

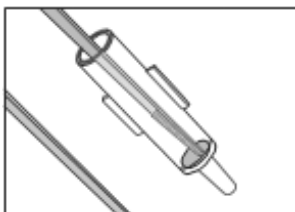
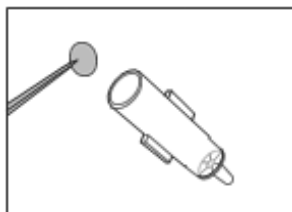


図3 フィルターを取り外したところ



10. オーダリング・インフォメーション

製 品	Cat #
QuickGene DNA tissue kit S	DT-S
QuickGene DNA組織キット	
QuickGene DNA whole blood kit S	DB-S
QuickGene DNA全血キット	
QuickGene RNA tissue kit S II	RT-S2
QuickGene RNA組織キットII	
QuickGene RNA cultured cell kit S	RC-S
QuickGene RNA培養細胞キット	
QuickGene RNA cultured cell HC kit S	RC-S2
QuickGene RNA培養細胞HCキット	
QuickGene RNA blood cell kit S	RB-S
QuickGene RNA血液細胞キット	
QuickGene Plasmid kit S II	PL-S2
QuickGene プラスミドキットII	

付録 QG-810パラメータについて

QG-810をご使用の方は、「DNA TISSUE」モードを選択してください。パラメータは下表のとおりです。

表示順	LCD表示	パラメータ
1	BIND PEAK	120
2	WASH COUNT	3
3	WASH PEAK	110
4	WASH VOL1	750
5	WASH VOL2	750
6	WASH VOL3	750
7	WASH VOL4	750
8	WASH VOL5	750
9	WASH DIP TM	0
10	WAS2 WAIT T	0
11	WAS2 COUNT	0
12	WAS2 PEAK	110
13	WAS2 VOL1	750
14	WAS2 VOL2	750
15	WAS2 VOL3	750
16	WAS2 VOL4	750
17	WAS2 VOL5	750
18	ELUT VOL	200
19	ELUT PEAK	100
20	ELUT DIP TM	90

※CDT量を50 μ lにする場合は「ELUT VOL」/パラメータを「50」に変更してください。パラメータを変更する場合、変更方法はQG-810取扱説明書をご参照ください。

*トレードマークと免責事項

本取扱説明書に使用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; <http://www.kurabo.co.jp/bio/>

