

核酸抽出キット EXTRAGEN II

DNA/RNA Extraction Kit

取扱説明書

●キットの特徴

EXTRAGEN IIは血清から全核酸 (DNA/RNA) を迅速・簡便に抽出することができる核酸抽出キットです。特に血清300 μ lからC型肝炎ウイルス (HCV) のRNAを抽出し、PCRなどにより、高感度測定する用途に適します。

●キットの構成

| 品名 | 主成分 | 内容量 | 数量 |
|-----|--------------------|---------------|------|
| 試薬1 | 共沈剤, アジ化ナトリウム | 900 μ l/本 | 1本/箱 |
| 試薬2 | タンパク質変性剤, 2-プロパノール | 65ml/本 | 1本/箱 |
| 試薬3 | 塩化カリウム, 2-プロパノール | 30ml/本 | 1本/箱 |

●使用目的

血清からのHCV RNAの抽出など。

●キットの原理

タンパク質変性剤と2-プロパノールを使用してタンパク質を可溶化すると同時に核酸を不溶化し、核酸共沈剤の存在下で遠心分離することにより核酸 (DNA/RNA) を沈殿として回収します。

●操作法

キット以外に必要な器具・試薬

- ・キャップ付き微量遠心チューブ (1.5~2.0ml用)
- ・マイクロピペット
- ・滅菌ディスボザブルピペットチップ (フィルター付きを推奨します)
- ・ボルテックスミキサー
- ・微量高速遠心分離機 (12,000 \times g以上発生するもの、簡易法の場合は6,000 \times g以上発生するもの)
- ・アスピレータ
- ・70%エタノール (試薬特級相当品)
- ・真空デシケーター
(真空デシケーターが無い場合は下記操作の12-1の代わりに12-2を実施してください)

操作前の注意

- ・全ての試薬は使用前によく混合して均一にしてください。
- ・以下の操作では、検体間、検体-試薬間のコンタミには十分注意して作業してください。

a) 標準法 (試料300 μ l対応)

1. キャップ付き微量遠心チューブに、試薬1を20 μ l分注する。
2. 試料300 μ lを加え、蓋をしっかりと閉めた後、10秒間ボルテックスミキサーで攪拌する。
3. 室温で3秒間スピンドアウンする。
4. 試薬2を1000 μ l加え、蓋をしっかりと閉めた後、10秒間ボルテックスミキサーで攪拌する。
5. 微量高速遠心分離機で12,000 \times g、4 $^{\circ}$ Cで3分間遠心後、上清をアスピレータで吸引除去する。
6. 試薬2を500 μ l加え、蓋をしっかりと閉めた後、10秒間ボルテックスミキサーで攪拌する。
7. 微量高速遠心分離機で12,000 \times g、4 $^{\circ}$ Cで3分間遠心後、上清をアスピレータで吸引除去する。
8. 試薬3を300 μ l加え、蓋をしっかりと閉めた後、10秒間ボルテックスミキサーで攪拌する。
9. 微量高速遠心分離機で12,000 \times g、4 $^{\circ}$ Cで3分間遠心後、上清をアスピレータで吸引除去する。
10. 70%エタノール1000 μ l加え、蓋をしっかりと閉めた後、10秒間ボルテックスミキサーで攪拌する。
11. 微量高速遠心分離機で12,000 \times g、4 $^{\circ}$ Cで3分間遠心後、上清アスピレータで吸引除去する。
- 12-1. アスピレータに繋げた真空デシケーターにチューブを入れ、減圧乾燥をおこなう。
(チューブ内に液滴が確認されなくなるまでおこなう)
- 12-2. 微量高速遠心分離機で12,000 \times g、4 $^{\circ}$ Cで3分遠心後、上清をアスピレータで完全に吸引除去する。

操作後の注意

- ・チューブ内のペレットに目的の核酸が含まれています。RNAは不安定なため、直ちに次の工程に進むことを推奨します。

b) 簡易法 (試料100 μ l対応)

1. キャップ付き微量遠心チューブに、試薬1を2 μ l分注する。
2. 試料100 μ lを加え、蓋をしっかりと閉めた後、5秒間ボルテックスミキサーで攪拌する。
3. 微量高速遠心分離機で6,000 \times g、室温で10秒間遠心する。
4. 試薬2を500 μ l加え、蓋をしっかりと閉めた後、10秒間ボルテックスミキサーで攪拌する。
5. 微量高速遠心分離機で6,000 \times g、室温で3分間遠心後、上清をアスピレータで吸引除去する。
6. 試薬3を200 μ l加え、蓋をしっかりと閉めた後、5秒間ボルテックスミキサーで攪拌する。
7. 微量高速遠心分離機で6,000 \times g、室温で3分間遠心後、上清をアスピレータで吸引除去する。
8. 70%エタノールを500 μ l加え、蓋をしっかりと閉めた後、5秒間ボルテックスミキサーで攪拌する。
9. 微量高速遠心分離機で6,000 \times g、室温で3分間遠心後、上清をアスピレータで吸引除去する。

操作後の注意

- ・チューブ内のペレットに目的の核酸が含まれています。RNAは不安定なため、直ちに次の工程に進むことを推奨します。

●操作上の留意事項

1. ピペットチップの交換
 - ・試薬の汚染、試料のキャリアオーバーを防ぐために、ピペットチップは1回毎に交換してください。
2. 遠心チューブの蓋の閉め具合について
 - ・試薬添加後、蓋を完全に閉めてください。閉めが不完全の場合、蓋に付着して洗浄しきれなかった試薬のキャリアオーバーが起こることがあります。
3. 遠心後の上清の吸引除去について
 - ・核酸を含むペレットは遠心チューブの底の側壁部分に付着します (目視で確認できます)。
 - ・ペレットに触れないようにピペットチップで上清だけ吸引してください。
 - ・チューブ内壁に付着した上清も丁寧に吸引除去してください。
 - ・吸引除去する際には試料のキャリアオーバーを防ぐためにピペットチップは1回毎に交換してください。
4. 70%エタノール洗浄後の減圧乾燥について (標準法)
 - ・エタノールの残留はPCRの増幅反応を阻害します。減圧乾燥によりエタノールを完全に除去してください。
 - ・過度に乾燥すると核酸の溶解性が悪くなるため、過度の乾燥は避けてください。チューブ内に液滴が認められなくなれば十分です。
 - ・減圧乾燥時は残液量にもよりますが、15分以上はおこなわないでください。

●使用上または取扱い上の注意

1. 本キットは研究用試薬です。
2. 製造ロットの異なる試薬は混合しないでください。
3. エタノールは試薬特級相当品を使用してください。
4. 試薬1はアジ化ナトリウムを含有しています。濃度は0.1%以下であり、毒物には該当しませんが、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流す等の応急処置をおこない、必要があれば医師の手当てを受けてください。
5. 試薬2にはタンパク質変性剤と2-プロパノールが含まれています。眼、皮膚等に付着しないように注意してください。
6. 開封後は微生物等の汚染に注意してください。
7. 使用後は試薬容器を密栓して、試薬の揮発や乾燥に注意してください。
8. 開封後、試薬の揮発や乾燥が認められた時は、使用しないでください。
使用期限の過ぎた試薬は使用しないでください。
9. 感染の危険性がある試料を用いる場合は、感染を防止するためにグローブ、保護眼鏡等を着用してください。
10. 感染の危険性がある試料を用いた場合、使用済みの試料・試薬・器具などはオートクレーブなどで滅菌処理、1%次亜塩素酸ナトリウム等の消毒液に浸す等の感染性を取り除く処理をした後に、各施設の廃棄物取扱い規定に従って廃棄してください。

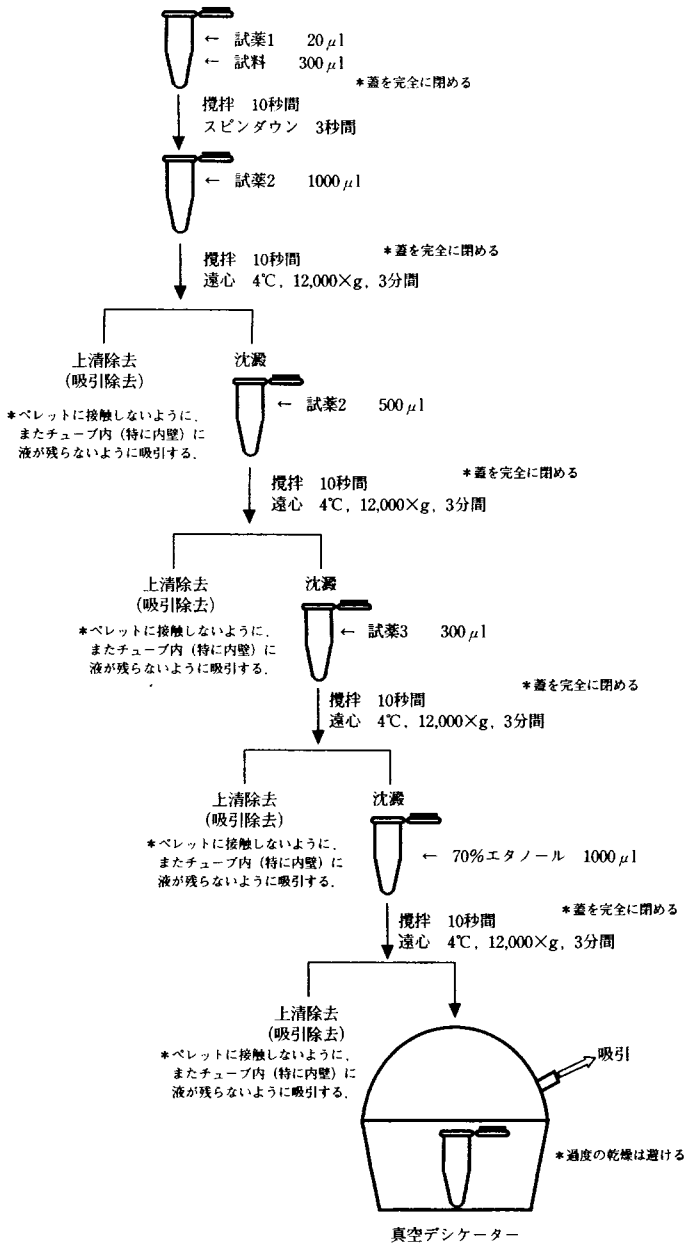
●貯法、有効期間

1. 貯法 室温保存。凍結は避けてください。
2. 有効期間 外箱に記載

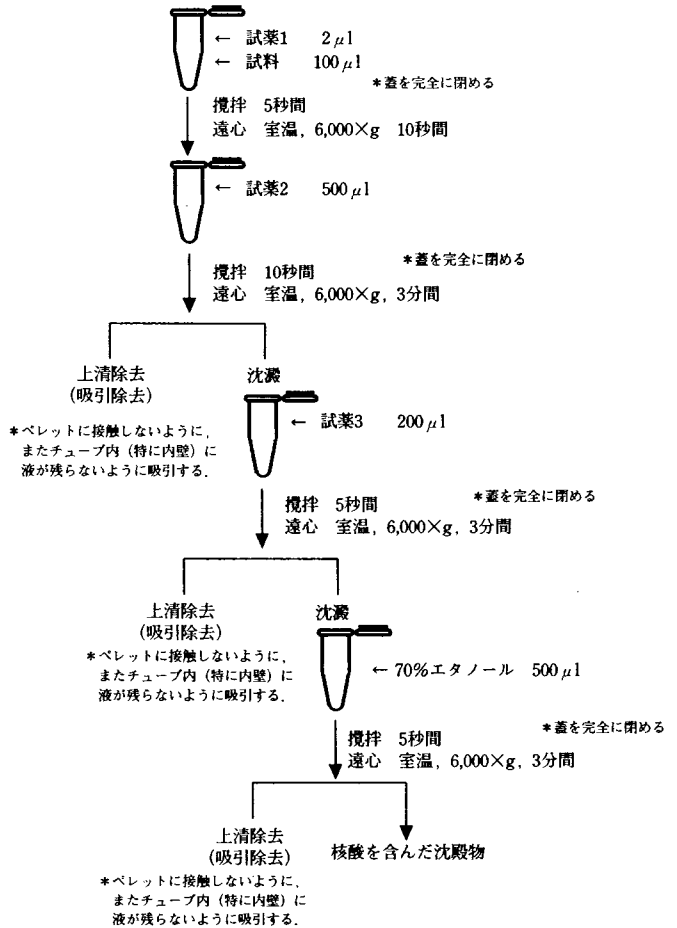
●包装単位

- 40回用 (標準法使用時) 簡易法の場合は100回、使用可能です。

標準法 操作法フロー



簡易法 操作法フロー



<連絡先>

東ソー株式会社

科学計測事業部 営業部

TEL (03) 5427-5181

〒105-8623 東京都港区芝三丁目8番2号