

簡易核酸抽出試薬

製品コード：NE6981

【はじめにお読みください】

このたびは、簡易核酸抽出試薬をお買い上げ頂き、誠にありがとうございます。このマニュアルをよくお読みの上、正しい方法で試薬を使用してください。

使用上の注意

1. 本品は、毛根や口腔粘膜から簡便に DNA を抽出するための試験研究用試薬です。医療行為および臨床診断等の目的では使用できません。
2. 試薬は-20℃の冷凍庫内に保存し、納品後 6 ヶ月以内に使用してください。また、試薬の凍結、融解の繰り返しは避けてください。
3. 本品を使用する際は、このマニュアルの記載内容に従ってください。記載内容と異なる使用方法および使用目的により発生するトラブルに関しましては、株式会社ニッポンジーンでは一切の責任を負いかねますので、あらかじめご了承ください。

I 製品説明

【簡易核酸抽出試薬の概要】

本品は毛根や口腔粘膜から簡便に DNA を抽出するための試験研究用試薬です。
抽出した DNA 溶液は、精製をしないでそのまま核酸増幅法の鋳型として利用することができます。

II 製品内容

【製品内容】

簡易核酸抽出試薬

50 テスト*用 (製品コード：NE6981)

*毛根からの抽出プロトコルに従った場合のテスト数です。

*口腔粘膜からの抽出プロトコルの場合、15 テスト分となります。

内容 (頭部ラベル表記)	頭部ラベル色	内容量	本数	保存温度
簡易核酸抽出試薬 (抽出試薬)	水色	1 mL	3 本	-20℃
マニュアル (本紙)			1 部	

取り扱い上の注意

- ◆ 試薬は-20℃にて保存し、納品後 6 ヶ月以内に使用してください。
- ◆ 試薬は使用ごとに融解し、残った試薬は再度-20℃で保存してください。凍結、融解の繰り返しにより製品の性能が低下する恐れがありますので、必要な場合は試薬を数回分ごとに小分けして保存してください。
- ◆ 連続分注を行うと試薬への汚染が発生する可能性がありますので、フィルター付マイクロチップは 1 回分注するごとに使い捨てとして使用してください。

III 必要な器具、機器、試薬

- マイクロピペット (0.5-10 μL、10-100 μL、100-1,000 μL)
- フィルター付マイクロチップ (滅菌済)
- 検体洗浄用チューブ (1.5 mL あるいは 2.0 mL)
- 抽出反応用 0.2 mL チューブ
- 氷 (クラッシュアイス)
- ピンセット (核酸の汚染がないもの)
- チューブラック
- アルミラック
- ヒートブロック
- ボルテックスミキサー
- 簡易遠心機
- PBS Buffer (-) (口腔粘膜洗浄用)
- エタノール (毛根洗浄用)
- 綿棒

IV 使用方法

【毛根検体からの抽出プロトコル】

A. 検体準備

1. 1.5 ml 容チューブに、エタノールを 300 μ l 分注します。
2. 毛髪 3 本(毛根付)を採取します。
※採取した毛髪に毛根があることを確認してください。
※毛根が目視で確認できない検体や自然脱毛した検体では、十分な核酸が得られない場合があります。
3. 毛髪 3 本を、毛根部から 2 cm 程度に切断し、A.1.のチューブの中にピンセットで毛根部を 3 本入れます。
※コンタミネーションを防ぐため、ピンセットは使用する毎にエタノールで洗浄してください。
4. 数回転倒混和して簡単に洗ってください。毛根部を取り出した後、キムワイプなどの上にのせてエタノールを蒸発させます。

B. 核酸抽出

1. 本品を室温で完全に融解し、転倒混和で均一にした後、スピンドウンして氷上に静置します。
2. 0.2 ml チューブに、本品を 50 μ l 分注します。
3. A.4 の毛根部 3 本を B.2 のチューブの中に入れます。
4. 55°C 20 分間、次に 94°C 10 分間インキュベートします。
インキュベート後は、速やかに 4°C に冷却します。
※本品で毛髪をインキュベートした際は、見た目上ほとんど変化しません（溶解していないように見えます）が、実際には DNA が溶出しています。
5. ピペティングして混合した後、不溶物を取らないように上清を 1.5 ml チューブに移し、DNA サンプルとします。
不溶物が浮いている場合、遠心（12,000 rpm × 2 分間）してから、上清を分取してください。
※本品の使用で、毛髪 3 本から 1~6.5 ng/ μ l の DNA が抽出されることを確認しております。
※毛髪から得られる DNA 量は、個人の髪質によって差があり、たとえ同一人物でも毛髪 1 本 1 本によって差があります。

【口腔粘膜検体からの抽出プロトコル】

A. 検体準備

1. 1.5 ml 容チューブに、PBS Buffer (-) を 800 μ l 分注します。
2. 水道水で口の中をよくすすいでください。
3. 綿棒で、頬の内側を強めにかき取ります。
4. 検体を採取した綿棒を A.1.のチューブの中に入れて懸濁します。
5. 遠心（3,500 rpm × 5 分間）した後、上清を取り除きます。

B. 核酸抽出

1. 本品を室温で完全に融解し、転倒混和で均一にした後、スピンドウンして氷上に静置します。
2. A.5.のチューブに、本品を 200 μ l 添加した後、よく懸濁します。
3. 4 本の 0.2 mL チューブに 50 μ l ずつ分注します。
4. 55°C 20 分間、次に 94°C 10 分間インキュベートします。
インキュベート後は、速やかに 4°C に冷却します。
※本品で口腔粘膜をインキュベートした際は、見た目上ほとんど変化しません（溶解していないように見えます）が、実際には DNA が溶出しています。
5. タッピングしてスピンドウンした後、上清を回収して、DNA サンプルとします。
不溶物が浮いている場合、遠心（12,000 rpm × 2 分間）してから、上清を分取してください。

V トラブルシューティング

本品の使用において何らかの問題が発生した場合は、以下の項目に従って対処してください。その他の不明な点については株式会社ニッポンジーンまでお問い合わせください。

問題点	原因および対処法
抽出したDNAサンプルに着色が見られる	<p>A. 毛髪の染色剤や口腔内の不純物が存在する。 本品では、染色された毛髪の毛根からも抽出できますが、一部の染色剤は本品に溶解し、DNAサンプルに着色が見られることがあります。その際は、染色剤が付着していない部分まで切断するか、別の部位の毛根をご使用ください。 口腔粘膜の場合は、検体採取前に、口をよくすすいでください。</p>
抽出したDNAサンプルを鋳型とした核酸増幅反応で、増幅が見られない	<p>A. 検体からDNAが抽出されていない、反応阻害物質が存在する。 毛根や口腔粘膜から得られるDNA量は検体の状態により異なります。できる限り、新鮮な検体をご使用ください。特に、自然脱毛した検体からは十分なDNAが得られませんので、ご注意ください。 本品では見た目には溶解していないように見えますが、実際にはDNAが溶出しておりますので、長時間のインキュベートは避けてください。</p> <p>B. 反応温度、操作手順に誤りがある。 操作工程で問題が発生していないか確認してください。</p>
試薬が不足する	<p>A. チューブ内壁に試薬が飛散、付着している。 使用前にスピンドウンを行ってください。</p> <p>B. 保存中に試薬が蒸発している。 使用後はキャップを完全に閉じてください。</p> <p>C. 口腔粘膜プロトコルを実施した。 本品は、毛根検体から抽出した場合に50テスト分実施可能な容量となっております。口腔粘膜からの抽出では、本品の使用量が増えますのでご注意ください。</p>

- ・ 記載内容や製品仕様、価格に関しては予告無しに変更する場合があります。
- ・ 本マニュアルの記載内容は2018年5月現在のものです。最新のマニュアルは株式会社ニッポンジーンホームページからダウンロードしてください。
- ・ 「ニッポンジーン®」および「NIPPON GENE®」は、株式会社ニッポンジーンの日本における登録商標です。
- ・ その他、製品名等の固有名詞は各社の商標あるいは登録商標です。
- ・ 記載内容の複製、転載を禁止します。

<p>本品に関するお問い合わせ先</p> <p>株式会社ニッポンジーン</p> <p>TEL 076-451-6548</p> <p>URL http://nippongene-analysis.com</p> <p>お問い合わせは、お電話もしくはWEBフォームより承っております。</p>
