

# Maxwell<sup>®</sup> RSC ccfDNA LV Plasma Kit

## (カタログ番号 AS1840) 簡易マニュアル

Ver.1 (February, 2022)

### ご用意いただくもの

- ピペットマン (P-200, P-1000)とそれらのチップ
- 15mlまたは50mlサイズのコニカルチューブ
- ローテーター (例: Labnet社 LabRoller Rotator II H5100) および 15ml/50mlコニカルチューブ用のカローセル

### 血漿の調製

1. 全血を2,000×gで10分間の遠心を行う。ピペットを使って、血漿の画分を注意深く別容器に移す。
2. 血球成分の混入を防ぐため、同様の手順をもう一度行う。
  - ※ 溶血した白血球由来のゲノムDNAの混入を防ぐため、血漿分離の遠心は通常2回行う。
  - ※ 血液を室温に長時間放置した場合、または処理前に凍結融解した場合、一部の白血球が溶解し、ゲノムDNAが血漿中に放出される可能性があります。
  - ※ ccfDNA安定化採血管を使用の場合、その採血管のマニュアルに従ってください。
  - ※ 血漿を凍結していた場合、解凍後に沈殿を生じる可能性があります。沈殿物は Maxwell<sup>®</sup> RSC ccfDNA LV Plasma Kitの精製に影響しませんが、ピペッティング操作に影響する可能性があります。そのため、処理前に1,000×gで5分間の遠心により沈殿を除いてください。

## 2~8ml 血漿からの手順

### ccfDNAとMagnetic Resinの結合のための前処理

1. 2-8mlの血漿を15ml/50mlコニカルチューブに加える。さらに、等量のBinding Bufferを加える。
2. Maxwell Resin Eのボトルをよく振って、レジンを完全に懸濁する。
3. 100µlのMaxwell Resin Eを、血漿とBinding Bufferを含むコニカルチューブに加える。
4. ローテーターにコニカルチューブをセットし、回転させながら、45分間のインキュベートを行う。  
備考: Labnet社 LabRoller H5100の場合、回転数 約20rpm、角度 約35°。
5. 1,000×g、2分間の遠心を行い、Maxwell Resin Eを沈殿させる。  
または、磁石スタンドを用いて、Maxwell Resin Eを集める。
6. 注意深く、静かに傾けて、上澄みを廃棄する。Resinをロスしないように、磁石スタンドを用いることをお勧めします。

## カートリッジの準備

1. 検体数分のカートリッジをMaxwell® RSC/CSC Deck Trayに立て、そのアルミシールを剥がす。

カートリッジの両端がカチツというまで、しっかりとセットする。

注意：サンプル数が少数の場合には、Maxwell® RSC/CSC Deck Trayの中央部分をお使いください。

2. カートリッジのウエル1(一番大きなウエル)に含まれるバッファー 500μlを、ピペットマンを用いて、このコニカルチューブに移す。

備考：Maxwell Resin Eを懸濁する為ですので、ウエル1のバッファー全量に移す必要はありません。

3. Maxwell Resin Eを移したバッファーで懸濁する。懸濁はピペッティングで行ってください。ボルテックスを行った場合、Maxwell Resin Eが管壁に付着し、Resinをロスする可能性があります。

4. Maxwell Resin Eを懸濁したバッファー全量を、カートリッジのウエル1に戻す。

5. Elution Tubeをセットし、75μlのElution Bufferを加える。

Elution Tubeのフタは絶対に閉めないでください。

- ※ 10～15μlの液量が減少し、約60μlを回収することができます。
- ※ 60μl以下のElution Bufferの液量では、濃度は変わらず、収量は低下する可能性があります。
- ※ 用途に応じて、NGS Elution BufferまたはPCR Elution Bufferを選択してください。

### 2種類のElution Bufferについて

本製品には、2種類のElution Buffer (NGS Elution Buffer と PCR Elution Buffer)が含まれます。

NGS Elution Buffer は、主に二本鎖のccfDNAを溶出するように最適化されています。このため、二本鎖を必要とする蛍光色素での定量、電気泳動、Whole Genomeシークエンスなどにお薦めします。

PCR Elution Buffer は、一本鎖および二本鎖の両方のccfDNAを溶出することができます。このため、定量PCR、デジタルPCR、アンプリコン法のシークエンスなどにお薦めします。

6. プランジャーをカートリッジのウエル8に置く。
7. Maxwell RSC (48) Instrumentを起動し、STARTから『Maxwell RSC ccfDNA LV Plasma / AS1840』を選択する。
8. Maxwell RSC/CSC Deck Trayを、Maxwell® RSC (48) Instrument本体にセットし、精製操作をスタートする。

## 精製終了後の操作

1. Maxwell RSC Instrumentのドアを開け、Elution Tubeのフタを閉める。
2. Maxwell RSC/CSC Deck Trayを取り出し、Elution Tubeを適切に保管する。
3. Maxwell RSC (48) Instrumentのドアを閉める。カートリッジとプランジャーを廃棄する。
  - ※ ダウンアプリケーションにおいて、溶出液に残存するエタノールが原因として疑われた場合、残存したエタノールを除去するため、Elution Tubeのフタを開けたまま、60℃のヒートブロックで30分間インキュベーションして、エタノールを蒸発させてください。

技術的なお問合せは：

e-mail: [prometec@jp.promega.com](mailto:prometec@jp.promega.com) ・ Tel: 03-3669-7980 ・ Fax: 03-3669-7982