

Maxwell[®] RSC Rapid ccfDNA Kit (カタログ番号 AS1590) 簡易マニュアル

ご用意いただくもの

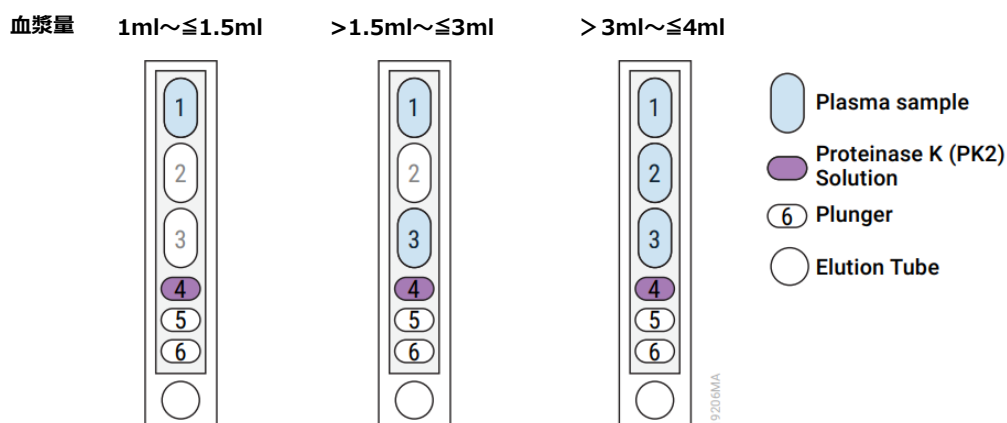
- ピペットマン (P-200, P-1000)と各チップ
- 卓上遠心機

血漿の調製

1. EDTA採血管に回収した全血を、 $2,000\times g$ で10分間遠心する。遠心後、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、手順1で回収した血漿をもう一度、 $2,000\times g$ で10分間遠心し、上清を新しいチューブに移す。
3. 血漿は1週間まで冷蔵保存できます。長期の場合、冷凍保存です。凍結/融解は避けてください。

カートリッジの準備と精製工程

1. 検体数分のカートリッジをMaxwell[®] RSC/CSC Deck Trayに立て、順にアルミシールを剥がす。
カートリッジは両端がカチッというまで、しっかりとセットする。
2. 下図にしたがって、血漿量に応じて、カートリッジのウエル1～3に血漿を添加し、ピペッティングにより十分に攪拌する。



- ※ 複数のウエルに血漿を加える場合、各ウエルに等量の血漿を加えてください。
- ※ 1ウエルあたり、1.5mlを超える量の血漿を加えないでください。
- ※ 1ml以下の血漿を処理した場合、収率が低下する恐れがあります。

3. 10μlのProteinase K (PK2)をカートリッジのウエル4に加える。

4. カートリッジと同数のElution Tubeをセットし、40～50μl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。
 - ※ 溶出には、キットに含まれるElution Buffer (RCFD)を必ずご使用ください。これを別のバッファーに置き換えた場合、ccfDNAの収量が低下する可能性があります。
 - ※ Elution Bufferの量を減らすと、ccfDNAの濃度は高くなりますが、トータルの収量は低下します。
5. プランジャーをカートリッジのウエル6に置く。
6. Maxwell[®] RSC/CSC Instrumentを起動し、STARTから『Rapid ccfDNA /AS1590』のメソッドを選択する。
7. Maxwell[®] RSC/CSC Deck TrayをMaxwell[®] RSC/CSC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/CSC 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/CSC Instrumentのドアを閉める。カートリッジとプランジャーを施設のガイドラインに沿って廃棄する。

備考： 精製した ccfDNA は、チューブ壁面への核酸の吸着を低減することができるチューブ(例：エッペンドルフ社製 DNA LoBind Tube)に保存することをお薦めします。

Q&A

Q1. 血漿 4.5ml (1.5ml×3 ウエル)から ccfDNA を精製することができますか。

A1. できません。キットで処理できる血漿の最大量は 4ml までです。

Q2. キットに含まれる Elution Tube の代わりに、0.5ml LoBind Tube を使うことができますか。

A2. できません。キット付属の Elution Tube は、RSC Plunger との組み合わせで最適化されています。LoBind Tube に保存する場合は、Elution Tube に溶出した後に移し替えてください。

Q3. アジレント社の TapeStation で測定する場合、どの ScreenTape が推奨ですか。

A3. Cell-free DNA ScreenTape の使用を推奨いたします。

D1000 ScreenTape では感度不足、High Sensitivity D1000 ScreenTape では Upper Marker がピークを形成せずに、幅広い泳動像となることが報告されています。