



改訂02、2026年5月

QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit 使用説明書

IVD

体外診断用

本使用説明書は、以下に適用されます。



REF

バージョン

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

50

61104

3



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANY

目次

1. 使用目的	4
2. 対象使用者	4
3. 説明と原理	5
3.1. 操作手順の原理	5
3.2. 概要と説明	11
4. キットに含まれる材料	12
4.1. キットの内容	12
4.2. キットに含まれるコンポーネント	14
5. キット以外に必要な材料	15
5.1. 追加の試薬	15
5.2. 消耗品	15
5.3. 器具	15
6. 警告と注意	17
6.1. 安全情報	17
6.2. 注意	19
7. 廃棄	20
8. 保管および取り扱い	21
8.1. 試薬の保管および取り扱い	21
8.2. 検体の保管と取り扱い	22
9. 開始前の重要事項	24
10. プロトコール：マイクロ遠心機を用いた、またはQIAcube Connect MDxでの自動精製による、血液サンプルからのゲノムDNAの分離および精製	30
10.1. 開始前に	30
11. プロトコール：マイクロ遠心機を用いた骨髓穿刺液サンプルからのゲノムDNAの分離および精製	35
11.1. 開始前に	35
12. プロトコール：真空システムを用いた血液サンプルからのゲノムDNAの分離および精製	39
12.1. 開始前に	39

13. 制限事項 44

14. 性能特性 45

15. 参考文献 46

16. トラブルシューティングガイド 47

17. 図記号 52

18. お問い合わせ先 55

19. 発注情報 56

20. 文書の改訂履歴 58

1. 使用目的

QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kitは、シリカ膜技術（QIAampテクノロジー）を使用して、生体試料からゲノムDNAを分離および精製するシステムです。

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitは、体外診断用としての使用を目的としています。

2. 対象使用者

この製品は、分子生物学技術について訓練を受けた技師や医師などの専門ユーザーによる使用を目的としています。

3. 説明と原理

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitを用いた各手順は、次の4つのステップで構成されています。

- サンプル内の細胞を溶解する
- 細胞溶解液のゲノムDNAをQIAamp Minisピンカラムの膜に結合する
- 膜を洗浄する
- 膜からゲノムDNAを溶出する

このハンドブックには、QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitの2つの代替手順のプロトコールが記載されています。

- 遠心機を使用する、またはQIAcube® Connect MDx (Figur 1) で自動化可能なスピン手順、および
- 遠心機と真空システムを必要とする真空手順です。

詳細については、9ページの「QIAamp DSP DNA Blood Miniのスピン手順および真空手順」フローチャートを参照してください。

3.1. 操作手順の原理

サンプルの溶解

サンプルは、高温かつ強い変性条件下で溶解され、溶解はQIAGEN® Protease (QP) および溶解バッファー (AL) の存在下で行います。

ゲノムDNAのQIAamp Minisピンカラム膜への結合

ゲノムDNAのQIAamp Minisピンカラム膜への結合を最適化するため、まず溶解液にエタノールを添加します。次に、各溶解液をQIAamp Minisピンカラムに添加します。溶解液が真空圧または遠心力で吸引されるにつれて、ゲノムDNAがシリカ膜に吸着します。

残存汚染物質の除去

洗浄バッファー1（AW1）、続いて洗浄バッファー2（AW2）を用いることで、汚染物質は効果的に洗い流されますが、ゲノムDNAはQIAamp Miniスピンカラム膜に結合したまま保持されます。

純度の高いゲノムDNAの溶出

ゲノムDNAは、50～200 µLの溶出バッファー（AE）を用いてQIAamp Minisピンカラム膜から溶出されます。溶出量はダウンストリームアプリケーションに依存するため、ユーザーが設定およびバリデーションを行う必要があります。

溶出したゲノムDNAは、体外診断を含む、さまざまなダウンストリームアプリケーションにすぐに使用できます。溶出バッファー（AE）は、カラムに加える前に室温（15～25 °C）に平衡させておく必要があります。

遠心分離後はスピンカラム膜に残った溶出バッファーが保持されるため、回収される溶出液の量は、カラムに添加した溶出バッファー（AE）の量よりも少なくなる場合があります。さらに、回収される溶出液の量は、サンプルの性質によっても異なります。

溶出したDNAは溶出用チューブ（ET）に回収し、後で使用するために保存できます。

注釈：溶出液の安定性はさまざまな要因に大きく依存するとともに、特定のダウンストリームアプリケーションに関連します。QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitについては、代表的なダウンストリームアプリケーションとの組み合わせにおいて評価済みです。ユーザーは、自身の実験室で使用する特定のダウンストリームアプリケーションの使用説明書を参照し、ワークフロー全体を検証して適切な保存条件を確立する責任があります。

ゲノムDNAの収量と品質

DNAの収量は、検体の種類、出発物質の品質によって異なります。溶出量が減少すると溶出液の最終DNA濃度は上昇しますが、全体的なDNAの収量はわずかに減少します。溶出量はダウンストリームアプリケーションの要件に応じて選択する必要があります。

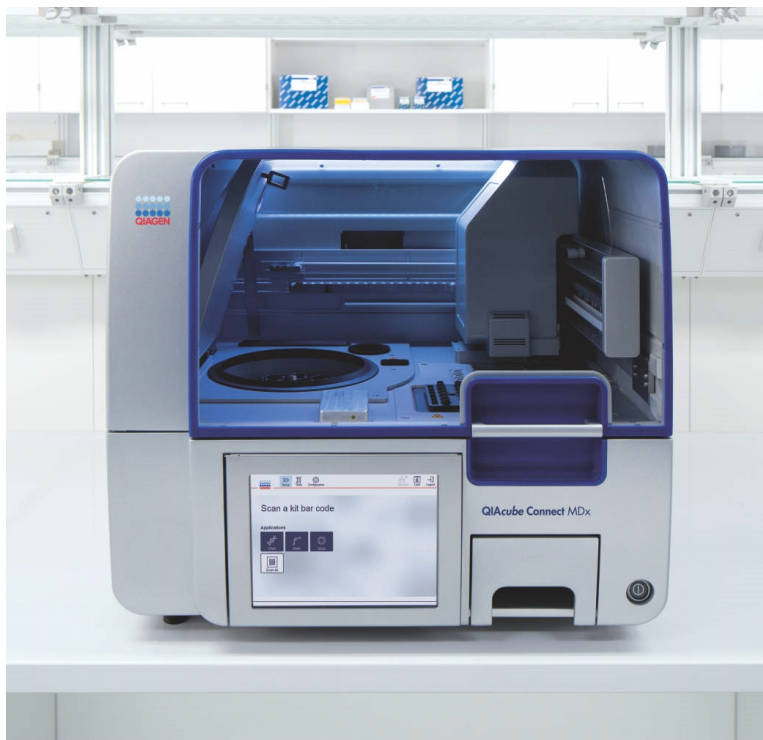
分離されたゲノムDNAの収量と品質は、PCRなどの分子診断における後続の検出手順に適しています。診断アッセイは、各製造元の指示に従って実施してください。

QIAcube Connect MDxでの自動精製

QIAcube Connect MDxは核酸の自動分離と自動精製を実行し、シングルランあたり最大12個のサンプルを処理できます。

QIAcube Connect MDxを使用したサンプル調製は、手動の手順と同じステップ（溶解、結合、洗浄、溶出）に従うため、引き続きQIAamp DSP DNA Blood Mini Kitを使用して高品質なDNAを精製できます。

QIAamp DSP DNA Blood Mini KitをQIAcube Connect MDxで自動化する場合、デッドボリューム、蒸発、および自動ピペッティングによる追加の試薬消費により、装置で処理できるサンプル数が50検体未満になることがあります。QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitを手動で使用する場合、QIAGENでは50検体しかサンプル調製を保証しません。



Figur 1. QIAcube Connect MDx

QIAamp DSP DNA Blood Miniのスピン手順および真空手順

開始する前に、プロトコール（“プロトコール：マイクロ遠心機を用いた骨髓穿刺液サンプルからのゲノムDNAの分離および精製” ページ35および“プロトコール：真空システムを用いた血液サンプルからのゲノムDNAの分離および精製” ページ39）をよくお読みください。

LTに20 μ LのQP、200 μ Lのサンプル、および200 μ LのALを添加します。

15秒間ボルテックスします。

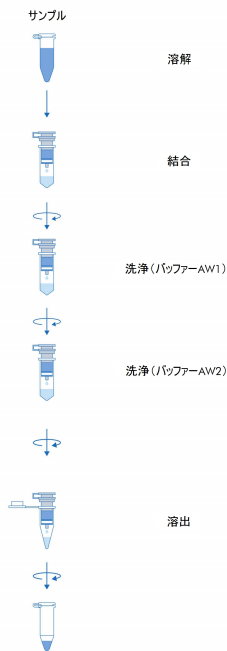
56 $^{\circ}$ Cで10分間インキュベートします。

200 μ Lのエタノールを添加します。

15秒間ボルテックスします。

溶解液をQIAamp Minisピンカラムに移します。

QIAampスピン手順



QIAamp真空手順



スピン手順

6,000 $\times g$ で1分間遠心します。

QIAamp Minisピンカラムを新しいWTにセットし、500 μ LのAW1を加え、6,000 $\times g$ で1分間遠心します。

QIAamp Minisピンカラムを新しいWTにセットし、バッファーAW2を500 μ L加え、フルスピード（約20,000 $\times g$ または14,000 rpm）で1分間遠心します。

真空手順

真空中にします。

バッファーAW1を750 μ L加え、真空中にします。

バッファーAW2を750 μ L加え、真空中にします。

WTにQIAamp Minisピンカラムをセットします。

フルスピード（約20,000 $\times g$ または14,000 rpm）で3分間遠心します。

ETにQIAamp Minisピンカラムをセットします。

50～200 μ LのAEを加え、1分間インキュベートします。

6,000 $\times g$ で1分間遠心します。

3. 2. 概要と説明

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitは、確立された技術を用いて、200 µLの全血からゲノムDNAを迅速かつ簡便に分離・精製するための手段を提供します。

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitの手順は、複数サンプルの同時処理を目的として設計されており、そのまま使用可能な精製DNAが得られます。この手順は、新鮮な全血または凍結した全血と、クエン酸やEDTAで処理した血液に適しています。

マイクロ遠心機を使用した手動抽出プロトコールは、*ipsogen*® IDH1 RGQ PCR Kitとの併用により、骨髓穿刺液サンプルからゲノムDNAを抽出するために使用できます。

白血球の事前分離は必要ありません。本手順は、フェノール/クロロホルム抽出もアルコール沈殿も必要とせず、ユーザーによる操作も最小限で済むため、感染の恐れがあるサンプルを安全に取り扱うことができます。本手順は、サンプル間のクロスコンタミネーションを最小限に抑えるように設計されています。精製したDNAは、PCRなどのアプリケーションにすぐ使用できます。または、後で使うために保存しておくこともできます。ユーザーは、自身の実験室で使用する特定のダウンストリームアプリケーションの使用説明書を参照し、ワークフロー全体を検証して適切な保存条件を確立する責任があります。

QIAamp DSPのスピン手順および真空手順は、複数サンプルの同時処理に適しています。血液サンプルの場合、一部のQIAampスピン手順は、QIAcube Connect MDxで完全に自動化でき、標準化を向上し、使いやすさを実現しています（セクション10「プロトコール：マイクロ遠心機を用いた、またはQIAcube Connect MDxでの自動精製による、血液サンプルからのゲノムDNAの分離および精製」を参照）。

真空手順の場合、プロトコールには真空マニホールド（QIAvac Connecting Systemを備えたQIAvac 24 Plusなど）と、約800~900 mbarの真空を作り出せる真空ポンプ（QIAGEN Vacuum Pumpなど）が必要です。真空圧のモニタリングと真空の開放を簡単に行うために、Vacuum Regulator（QIAvac Connecting Systemの一部）を使用してください。

4. キットに含まれる材料

4. 1. キットの内容

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			61104
カタログ番号			50*
ブレルプ数			
品目	図記号	数量	
5 QIAamp Mini Spin Columns (洗浄チューブ (WT) (2 mL) 付き)	COL	50	
ET 溶出用チューブ (1.5 mL)	ELU TUBE	50	
VC VacConnector	VAC CON	50	
LT 溶解用チューブ (1.5 mL)	LYS TUBE	50	
WT 洗浄チューブ (2 mL)	WASH TUBE	3 x 50	
AL† 溶解バッファー	LYS BUF	12 mL	
AW1† § 洗浄バッファー1 (濃縮)	WASH BUF 1 CONC	19 mL	
AW2† § 洗浄バッファー2 (濃縮)	WASH BUF 2 CONC	13 mL	
AE‡ 溶出バッファー	ELU BUF	25 mL	
PS‡ プロテアーゼ溶媒	QPROT SOLV	2 mL	
QP§ QIAGENプロテアーゼ	QPROT	バイアル 1個	

*QIAamp DSP DNA Blood Mini KitをQIAcube Connect MDx装置で自動化する場合、デッドボリウム、蒸発、および自動ピペッティングによる追加の試薬消費により、装置で処理できるサンプル数が50検体未満になることがあります。QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitを手動で使用する場合、QIAGENでは50検体しかサンプル調製を保証しません。

† グアニジン塩酸塩を含有しています。漂白剤を含む消毒剤とは一緒に使用できません。詳細については、セクション6を参照してください。「警告と注意」

‡ 保存剤としてアジ化ナトリウムを含有しています。

§ “試薬およびバッファーの調製” ページ25については、セクション9を参照してください。

4. 2. キットに含まれるコンポーネント

キットの主要なコンポーネントと有効成分を以下に説明します。

Tabel 1. 供給されている試薬中の有効成分

試薬	有効成分	濃度 (w/w) [%]
QIAGEN プロテアーゼ	サブチリシン	0以上100以下
AL	グアニジン塩酸塩	30以上50未満
	マレイン酸	0.1以上1未満
AW1	グアニジン塩酸塩	50以上70未満

コントロールとキャリブレーター

診断結果に悪影響が及ぶリスクを最小限に抑えるため、ダウンストリームアプリケーションには適切なコントロールを使用する必要があります。

5. キット以外に必要な材料

薬品を取り扱う際は、必ず適切な白衣を着用し、使い捨ての手袋と保護メガネを装着してください。詳しい情報は、製品の供給元が用意する適切な安全データシート（Safety Data Sheets、SDS）を参照してください。

5.1. 追加の試薬

- エタノール（96～100%）*

5.2. 消耗品

- ピペットチップ（クロスコンタミネーションを防ぐため、エアロゾルバリア付きピペットチップの使用を強く推奨します）

5.3. 器具

使用開始前に、器具が製造元の推奨に従って点検され、キャリブレーションされていることを確認してください。

- ピペット（調節可能）
- 56 ° Cのサンプル溶解用ヒーティングブロック（1.5 mLのマイクロテストチューブ用）
- マイクロ遠心機
- メスシリンダー（50 mL）
- ボルテックスミキサー

*変性アルコールは使用しないでください。メタノールやメチルエチルケトンなどの他の物質が含まれているためです。

真空手順専用

- QIAvac 24 Plus 真空システム（カタログ番号19413）または同等品
- オプション：VacValves（カタログ番号19408）
- QIAvac Connecting System（カタログ番号19419）または同等品
- 真空ポンプ（カタログ番号84020または9003250）または-800~-900 mbarの真空を作り出せる同等のポンプ

自動化手順の場合のみ

- QIAcube Connect MDx装置（カタログ番号9003070）
- ローターアダプター（カタログ番号990394）
- ローターアダプターホルダー（カタログ番号990392）
- サンプルチューブCB（カタログ番号990382、サンプル入力チューブ）
- シェーカーラックプラグ（カタログ番号9017854）
- 試薬ボトル、30 mL（カタログ番号990393）
- フィルターチップ、1,000 μ L（カタログ番号990352）
- フィルターチップ、200 μ L（カタログ番号990332）
- SafeSealチューブ、1.5 mL（Sarstedt®、カタログ番号72.706）

6. 警告と注意

デバイスに関連して重大なインシデントが発生した場合、製造元またはその正式な代理人、およびユーザーや患者の所在地を管轄する規制当局への報告について、現地の規制を確認する必要がある可能性がありますのでご注意ください。

体外診断用です。

本キットを使用する前に、すべての説明を注意してお読みください。

6.1. 安全情報

薬品を取り扱う際は、必ず適切な白衣を着用し、使い捨ての手袋と保護メガネを装着してください。詳細は、適切な安全データシート（Safety Data Sheets、SDS）を参照してください。これらは、www.qiagen.com/safetyにてオンラインで、便利でコンパクトなPDF形式で入手可能です。このサイトでは、各QIAGENキットおよびキット構成品のSDSを検索、表示、および印刷できます。

警告



人身傷害の危険

サンプル調製廃棄物に漂白剤や酸性溶液を直接加えないでください。

- 溶解バッファー（AL）と洗浄バッファー1（AW1）にはグアニジン塩酸塩が含まれており、漂白剤と混ぜると高反応性化合物が生じる可能性があります。このようなバッファーを含む液がこぼれた場合は、適切な実験室用洗浄剤と水で清掃してください。こぼれた液に感染病原体が含まれている可能性がある場合は、まず汚染された部分を実験用洗浄剤と水で清掃し、その後次亜塩素酸ナトリウムの1%（v/v）水溶液で清掃してください。
- バッファーボトルに破損や液漏れがある場合は、廃棄する際に、自分や周囲の人がけがをしないよう手袋と保護ゴーグルを着用してください。

- サンプルは感染性である可能性があり、現地の安全手順に従って取り扱い、廃棄する必要があります。
- QIAGENは、QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitの手順によって生じる廃液について、残留感染性物質の有無に関する試験を実施していません。したがって、本製品を取り扱う際には、感染の可能性のあるヒト由来物質取り扱いの一般的な予防措置（手袋、白衣、目の保護具）を講じる必要があります。また、液体廃棄物は感染性があるとみなし、地域の安全規則に従って取り扱い、廃棄する必要があります。

緊急時の連絡先

CHEMTREC

米国およびカナダ：1-800-424-9300

米国およびカナダ以外の国：+1 703-527-3887

6. 2. 注意

以下のリスクと安全性に関する記載は、QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitの各コンポーネントに適用されます。

バッファーAL



含有物質：グアニジン塩酸塩およびマレイン酸。警告！飲み込んだり吸入したりすると有害のおそれがあります。皮膚の炎症の原因となります。皮膚のアレルギー反応の原因となるおそれがあります。重度の眼刺激を引き起こします。防護用手袋、防護服、目および顔面の保護具を着用してください。体調の異常を感じたら、毒物センターに電話するか、医師の診察を受けてください。皮膚刺激または発疹が生じた場合：医師の診察/手当てを受けてください。汚染した衣服は脱ぎ、再度使用する前に洗ってください。内容物や容器は、認可された廃棄物処理工場で廃棄してください。

バッファーAW1



含有物質：グアニジン塩酸塩警告！飲み込んだり吸入したりすると有害です。皮膚の炎症の原因となります。重度の眼刺激を引き起こします。防護用手袋、防護服、目および顔面の保護具を着用してください。汚染した衣服は脱ぎ、再度使用する前に洗ってください。内容物や容器は、認可された廃棄物処理工場で廃棄してください。

QIAGENプロテアーゼ



含有物質：サブチリシン。危険！飲み込むと有害です。皮膚の炎症の原因となります。重篤な目の損傷を引き起こします。吸入すると、アレルギー、ぜんそく症状、呼吸困難を引き起こすおそれがあります。呼吸器を刺激するおそれがあります。粉塵、煙、ガス、ミスト、蒸気、噴霧を吸入しないでください。防護用手袋、防護服、目および顔面の保護具を着用してください。呼吸器用保護具を装着してください。眼に入った場合：水で数分間注意深く洗ってください。コンタクトレンズを装着しており、それを容易にはずせるときは外し、洗眼を続けてください。暴露またはその懸念がある場合：直ちに中毒情報センターや医師に連絡してください。患者を風通しの良い場所に移し、呼吸しやすい姿勢で安静にさせてください。

7. 廃棄

廃棄物にはサンプルおよび試薬が含まれます。廃棄物には毒性物質または感染性物質が含まれていることがあるため、適正に廃棄しなければなりません。適正な廃棄手順については、現地で定められている安全規制を参照してください。

8. 保管および取り扱い

8.1. 試薬の保管および取り扱い

箱に印刷されている使用期限と保管条件に注意してください。期限切れのコンポーネントや保管方法が適切でないコンポーネントは使用しないでください。

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitは室温で出荷されます。製品の受領後、QIAamp Minisピンカラムは元のパッケージに入れたまま2~8 °Cで保管してください。異なるキットのコンポーネントが混ざらないよう、QIAamp Minisピンカラムには各キットのロット番号を記載したラベルを貼ってください。その他のキットコンポーネント（バッファー、凍結乾燥 QIAGEN Protease (QP)、およびプラスチック製品）は、すべて室温（15~25 °C）で保存してください。

正しく保管された場合、QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitは外箱に印字された使用期限まで使用可能です。未開封でこれらの条件下で保管された場合、各コンポーネントは性能や品質が低下することなく2年間安定しています。

仕様に従って保管されていない場合、包装が破損している場合、またはその他の劣化や不具合の兆候が見られる場合は使用しないでください。

使用時の安定性

溶解後のQIAGEN Protease (QP) は、2~8 °Cで保管した場合は最長1年、またはキットの使用期限のいずれかに到達するまで安定しています。QIAGEN Protease (QP) 原液を室温で長時間放置しないでください。

調製済みの洗浄バッファー1 (AW1) および調製済みの洗浄バッファー2 (AW2) は、室温で最長1年間、またはキットの使用期限のいずれかに到達するまで保管できます。

自動化手順用のバッファー調製については、*QIAcube Connect MDx User Manual*（www.qiagen.comの製品ページにあるリソースタブから入手可能）の指示に従ってください。

8. 2. 検体の保管と取り扱い

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitは、セクション13に記載されている検体の種類に使用するためのものです。「制限事項」。すべてのサンプルは、潜在的に有害なものとして扱う必要があります。検体の安定性および核酸抽出の性能は、検体採取デバイスや採取方法、保存温度、凍結融解サイクル、輸送条件などのさまざまな要因に大きく依存するとともに、特定のダウンストリームアプリケーションに関連します。QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitについては、代表的な検体採取方法およびデバイス、ならびにダウンストリームアプリケーションとの組み合わせにおいて確立されています。ユーザーは、自身の実験室で使用する特定の検体採取器具およびダウンストリームアプリケーションの使用説明書を参照し、ワークフロー全体を検証して適切な条件を確立する責任があります。

8. 2. 1. 検体採取

一般的な採取、輸送、および保管に関する推奨事項については、承認済みのCLSIガイドラインMM13-A「*Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods*」(1)を参照してください。また、検体の調製、保管、輸送、および取り扱い全般において、選定した検体採取デバイスの製造元が提供する指示書に従ってください。

静脈全血からのゲノムDNA抽出については、採取チューブ製造元の指示書とは別に、ISO 20186-2:2019 (E)に留意してください。

EDTAまたはACD（クエン酸）で処理した全血サンプルが使用できます。これは新鮮なサンプル、凍結したサンプルのいずれも使用可能です。

注釈：骨髄穿刺液サンプルについては、*ipsogen IDH1 RGQ PCR Kit*使用説明書（ハンドブック）を参照してください。

8. 2. 2. 検体の取り扱い

精製したDNAの収量および品質は、サンプルの保存条件に左右されます。サンプルの凍結融解がDNAの収量および品質に影響を及ぼす可能性があります。凍結血液サンプルは、37℃のウォーターバスに入れて静かに攪拌しながら融解して十分に混和させた後、室温まで平衡化してから手順を開始してください。一次チューブに新鮮な血液サンプルを使用する場合は、血液サンプルを十分に混合（チューブを何回か逆さにするなど）してからサンプルを移してください。サンプルを確実に移すため、サンプルチューブ内に泡ができないようにしてください。サンプル中に血液凝固が生じないように注意し、凝固のないサンプルを移してください。

凍結サンプルを融解する際に生じるクリオプレシピテートが、QIAamp Minisピンカラムの膜を詰まらせたり、QIAcube Connect MDxでの自動処理を妨げたりする場合があります。クリオプレシピテートが見られる場合は、吸引しないでください。

サンプル中の妨害物質

ISO 20186-2:2019 (E)によると、採血管由来のヘパリンは、分離された核酸の純度に影響を及ぼす可能性があり、溶出液へのキャリーオーバーが生じた場合、一部のダウンストリームアプリケーションで阻害の原因となる可能性があります。そのため、抗凝固剤としてEDTAやクエン酸で処理した血液サンプルの使用をお勧めします。

9. 開始前の重要事項

- キットを受け取ったら、キットコンポーネントに損傷がないことを確認してください。プリスターパックまたはバッファボトルに破損がある場合は、QIAGENテクニカルサポートまたは最寄りの販売代理店までご連絡ください。液体がこぼれた場合は、セクション6.1を参照してください。「安全情報」。破損したキットコンポーネントは使用しないでください。使用すると、キットのパフォーマンスが低下したり、ユーザーの負傷、機器の損傷を招いたりするおそれがあります。
- 液体を移すたびにピペットチップを交換してください。クロスコンタミネーションを最小限にするには、エアロゾルバリアの付いたピペットチップの使用をお勧めします。
- 手順全体を通じて必ず使い捨て手袋を使用し、サンプル物質で手袋が汚染していないことを定期的に確認してください。手袋が汚染した場合は廃棄してください。
- クロスコンタミネーションを最小限に抑えるため、チューブは1本ずつ開けてください。
- パルス-ボルテックスのすべてのステップ後、マイクロ遠心チューブを短時間遠心して、蓋の内側についた液滴を取り除いてください。ユーザーは、手順全体を通じてサンプルのトレーサビリティが確保されていることを確認する必要があります。
- 遠心分離の操作はすべて室温で行います。
- ユーザーは、手順全体を通じてサンプルのトレーサビリティが確保されていることを確認する必要があります。
- QIAGENの品質管理手順では、個々のキットロットごとに機能キットリリーステストを実施しています。異なるロットのキットの試薬を混ぜたり、試薬ロットが異なる試薬同士を組み合わせたりしないでください。
- キット試薬に微生物によるコンタミネーションが起こらないように注意してください。
- 感染の可能性がある物質による感染リスクを最小限に抑えるため、サンプルが溶解するまでは層流下での作業をお勧めします。
- 自動化については、ユーザーインターフェース (QIAcube Connect MDx) の指示に従い、*QIAcube Connect MDx User Manual*、www.qiagen.com/HB-2794を参照してください

い。

- QIAvac 24 Plus システムの一般的な情報については、*QIAvac 24 Plus Handbook*、www.qiagen.com/HB-0496を参照してください。
- 本キットは、体外診断に関する実験室業務の訓練を受けた担当者のみが使用してください。

試薬およびバッファの調製

• QIAGEN Proteaseの調製

凍結乾燥されたQIAGEN Protease (QP) のバイアルに1.2 mLのProtease Solvent (PS) を加え、注意深く混合します。泡立ちを防ぐため、バイアルを数回反転させて混合します。QIAGEN Protease (QP) が完全に溶解していることを確認してください。

QIAGEN Protease (QP) を溶解バッファ (AL) に直接加えないでください。

注釈：溶解したQIAGEN Protease (QP) は、2~8 °Cで保存した場合で最長1年間、またはキットの使用期限のいずれか先に到達するまで安定です。QIAGEN Protease (QP) の原液は、室温で長期間保管しないようにしてください。

• 洗浄バッファ1の調製*

ボトルに記載されている通り、19 mLの洗浄バッファ1 (AW1) 濃縮液が入ったボトルに、25 mLのエタノール (96~100%) [†]を加えてください。ラベルにエタノールが添加済みであることを記載してください。調製した洗浄バッファ1 (AW1) は室温で保存してください。

手順を開始する前に、必ず溶解した洗浄バッファ1 (AW1) が入ったボトルを数回反転して混合してください。

*グアニジン塩を含みます。適切な実験室用の安全対策を講じ、取り扱い際には手袋を着用してください。漂白剤を含む消毒剤とは一緒に使用できません。セクション 6.1「安全情報」を参照してください。

[†]変性アルコールは使用しないでください。メタノールやメチルエチルケトンなどの他の物質が含まれているためです。

• 洗浄バッファー2の調製[†]

ボトルに記載されている通り、13 mLの洗浄バッファー2（AW2）濃縮液が入ったボトルに、30 mLのエタノール（96～100%）[‡]を加えてください。ラベルにエタノールが添加済みであることを記載してください。調製した洗浄バッファー2（AW2）は室温で保存してください。

手順を開始する前に、必ず溶解した洗浄バッファー2（AW2）が入ったボトルを数回反転して混合してください。

• 溶出バッファーの調製

キットには溶出バッファー（AE）が1本付属しています。溶出バッファー（AE）のコンタミネーションを防ぐため、ボトルから溶出バッファー（AE）をピペットで移す際には、エアロゾルバリア付きのピペットチップを使用し、その後すぐにボトルのキャップを閉めることを強くお勧めします。

溶出バッファー（AE）には、260 nmで吸光を示す保存剤のアジ化ナトリウムが含まれています。したがって、260 nmでの吸光度測定によって溶出液中のDNAを定量する場合、260 nmおよび280 nmでの吸光度測定によって溶出液中のDNA純度を測定する場合、または220 nmから350 nmの範囲で吸光度スキャンを行う場合には、ブランクに溶出液と同じ濃度のアジ化ナトリウムが含まれていることを確認してください。例えば、50 μ Lの溶出液を100 μ Lの水で希釈して吸光度測定用のサンプルを調製する場合は、50 μ Lの溶出バッファー（AE）を100 μ Lの水で希釈してブランクを調製してください。希釈には、新鮮な蒸留水を使用してください。

[†] 保存剤としてアジ化ナトリウムを含有しています。

[‡] 変性アルコールは使用しないでください。メタノールやメチルエチルケトンなどの他の物質が含まれているためです。

QIAamp Minisピンカラムの取り扱い

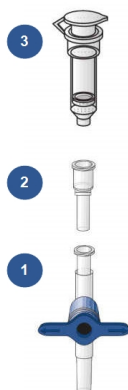
核酸増幅技術は感度が高いため、QIAamp Minisピンカラムを取り扱う際には、サンプル調製間のクロスコンタミネーションを避けるべく以下の予防措置が必要となります。

- QIAamp Minisピンカラムには、サンプルや溶液を慎重に加えてください。サンプルをピペットでQIAamp Minisピンカラムに移す際は、カラムの縁を濡らさないよう注意してください。
- 液体を移すたびに、ピペットチップは必ず交換してください。エアロゾルバリア付きのピペットチップの使用をお勧めします。
- ピペットチップがQIAamp Minisピンカラムの膜に触れないよう注意してください。
- QIAamp Minisピンカラムは1つずつ開封し、エアロゾルが発生しないよう注意してください。

QIAvac 24 Plus真空システムのセットアップ

QIAvac 24 Plusシステムに関する一般情報については、該当するハンドブックを参照してください。

QIAamp Minisピンカラム、VacConnector (VC)、およびVacValveが正しくセットアップされていることを確認してください (Figur 2を参照)。



Figur 2. サンプルの真空処理に使用するQIAamp DSP DNA Blood Mini Kitコンポーネントのアセンブリ。

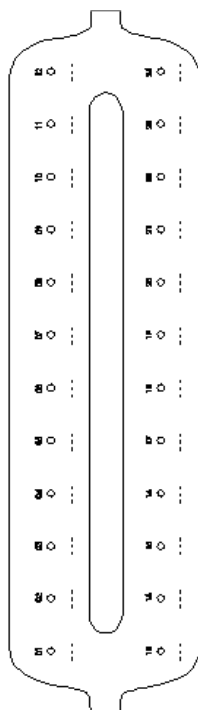
(1) VacValve、 (2) VacConnector (VC)、および (3) QIAamp Miniスピンカラム。

QIAvac 24 Plus真空システムを使用する真空法を実施する場合は、サンプルの取り違えを避けるため、Figur 3の図に従って溶解用チューブ (LT)、溶出用チューブ (ET)、およびQIAamp Miniスピンカラムにラベルを貼り付けることを推奨します。この図は印刷し、サンプル名を記入してラベル付けできます。他の真空システムやスピンの法を使用する場合でも、同様のスキームを用いることをお勧めします。

日付 : _____

オペレーター : _____

ランID : _____



Figur 3. QIAvac 24 Plus真空システムで使用する溶解用チューブ (LT)、溶出用チューブ (ET)、およびQIAamp Miniスピncラムのラベリング図。

10. プロトコール：マイクロ遠心機を用いた、またはQIAcube Connect MDxでの自動精製による、血液サンプルからのゲノムDNAの分離および精製

マイクロ遠心機を用いた、またはQIAcube Connect MDxでの自動化による、EDTAまたはクエン酸処理された200 μ Lの全血サンプルからのゲノムDNAの分離および精製用です。

開始前の重要な留意点

- 以下の手順では、1つの血液サンプルを処理する方法について説明しますが、複数のサンプルを同時に処理することも可能です。その数は使用するマイクロ遠心機の収容数によって異なります。
- QIAcube Connect MDx機器では、2～10個または12個のサンプルを自動処理できます。
- 自動化については、ユーザーインターフェース（QIAcube Connect MDx）の指示に従い、*QIAcube Connect MDx User Manual*、www.qiagen.com/HB-2794を参照してください。

10.1. 開始前に

- 血液サンプルを室温まで平衡化し、十分に混和されていることを確認します。
- すべての試薬とQIAamp Miniスピニングカラム（密閉ブリスターに入った状態）が室温まで平衡化していることを確認します。
- ステップ4で使用するヒートブロックを56 $^{\circ}$ Cに設定します（手動手順および機器外での手動溶解を伴う自動手順で必要です）。
- 洗浄バッファー1（AW1）、洗浄バッファー2（AW2）、およびQIAGEN Protease（QP）が、セクション9の「試薬およびバッファーの調製」の指示に従って調製されていることを確認します。「開始前の重要な注意事項」

- 溶解バッファー（AL）に沈殿物が生じた場合は、56 °Cでインキュベートして溶解します。
- QIAGENの品質管理手順では、個々のキットロットごとに機能キットリリーステストを使用しますので、異なるロットのキットの試薬を混ぜたり、試薬ロットが異なる試薬同士を組み合わせたりしないでください。

手順

- マイクロ遠心機を使用する手動手順の場合は、手順1～17に従ってください。
 - この手順は、以下の3種類の方法で自動化できます。
 - 溶出量：100 µL、全自動（ステップ1から自動化）
 - 溶出量：200 µL、全自動（ステップ1から自動化）
 - 手動溶解：機器外での手動溶解を伴う半自動、溶出量は100～200 µL（10 µL刻み）（ステップ5の後に自動化）
1. 20 µLのQIAGEN Protease（QP）を溶解用チューブ（LT）に分注します。
 ⓘ溶解したプロテアーゼの使用期限を確認してから使用してください。
 2. 200 µLの血液サンプルを溶解用チューブ（LT）に加えます。
 3. 溶解用チューブ（LT）に溶解バッファー（AL）を200 µL加え、蓋を閉めて、パルスボルトテックスで15秒以上混合します。
 ⓘ効率よく溶解させるには、サンプルと溶解バッファー（AL）をよく混ぜ、均一な溶液にすることが重要です。
 ⓘ溶解バッファー（AL）は粘性が高いため、慎重にピペット操作を行い、正確な量を加えてください。
 ⓘQIAGEN Protease（QP）を溶解バッファー（AL）に直接加えないでください。
 4. ヒートブロックで、56 °Cで10分間インキュベートします。

5. 溶解用チューブ (LT) をフルスピードで5秒以上遠心し、蓋の内側の水滴を落とします。

注釈：手動溶解 (ステップ1~5) を機器外 (オフボード) で実施した場合、以降のステップ (ステップ6~17) は、手動溶解用のプロトコールを使用してQIAcube Connect MDxで自動化できます。

6. 溶解用チューブ (LT) に200 μ Lのエタノール (96~100%) を加え、蓋を閉めて15秒以上パルスボルテックスし、十分に混合します。
7. 溶解用チューブ (LT) をフルスピードで5秒以上遠心し、蓋の内側の水滴を落とします。
8. ステップ7の溶解液全量を、縁を濡らさないように注意しながらQIAamp Minisピンカラムに加えます。ピペットチップがQIAamp Minisピンカラムの膜に触れないよう注意してください。

注釈：複数のサンプルを処理する場合は、溶解用チューブ (LT) を1回に1本ずつ開け、エアロゾルが発生しないよう注意してください。

9. QIAamp Minisピンカラムの蓋を閉め、約6,000 x g で1分間遠心します。QIAamp Minisピンカラムをきれいな洗浄チューブ (WT) にセットし、ろ液の入ったチューブを廃棄します。
 - a. 6,000 x g (8,000 rpm) で遠心した後に溶解液が完全に膜を通過していない場合は、フルスピード (最大20,800 x g) で1分間再遠心してください。
 - b. 遠心しても溶解液が膜を通過しない場合は、QIAamp Minisピンカラムを廃棄し、新しいサンプルで手順を繰り返してください。
10. QIAamp Minisピンカラムを慎重に開け、カラムの縁を濡らさないように洗浄バッファー1 (AW1) を500 μ L加えます。ピペットチップがQIAamp Minisピンカラムの膜に触れないよう注意してください。
11. QIAamp Minisピンカラムの蓋を閉め、約6,000 x g で1分間遠心します。QIAamp Minisピンカラムをきれいな洗浄チューブ (WT) にセットし、ろ液の入ったチューブを廃棄します。

12. QIAamp Miniスピンカラムを慎重に開け、カラムの縁を濡らさないように洗浄バッファー2 (AW2) を500 μ L加えます。ピペットチップがQIAamp Miniスピンカラムの膜に触れないよう注意してください。
13. QIAamp Miniスピンカラムの蓋を閉め、フルスピード (約20,000 x g、または14,000 rpm) で1分間遠心します。QIAamp Miniスピンカラムをきれいな洗浄チューブ (WT) にセットし、ろ液の入ったチューブを廃棄します。
14. フルスピード (約20,000 x g、または14,000 rpm) で3分間遠心し、膜を完全に乾燥させます。

注釈: 乾燥遠心分離操作を省略すると、ダウンストリームアプリケーションが阻害される原因となることがあります。

15. QIAamp Miniスピンカラムを新しい溶出用チューブ (ET) にセットし、ろ液の入っている洗浄チューブ (WT) を廃棄します。QIAamp Miniスピンカラムの蓋を慎重に開け、膜の中央に50~200 μ Lの溶出バッファー (AE) (ダウンストリームアプリケーションに応じて異なる) を加えます。

①ダウンストリームアプリケーションの阻害につながる可能性がある、残留洗浄バッファーによるコンタミネーションを避けるため、新しい溶出用チューブ (ET) を使用してください。

①溶出量が少ない場合は、核酸と溶出バッファー (AE) を最適に回収できるよう、膜の中央に溶出バッファー (AE) を分注してください。

①溶出量はダウンストリームアプリケーションの要件に応じて選択する必要があります。自動ワークフローでは、100~200 μ Lの溶出量を10 μ L刻みで設定可能です。遠心分離後、スピンカラム膜によって残留溶出バッファーが保持されるため、回収される溶出液の容量は、カラムに添加した溶出バッファーの容量よりも少なくなることがあります。

①溶出バッファーが室温に平衡化されていることを確認してください。

16. 蓋を閉め、室温で1分間インキュベートします。

17. 溶出用チューブ（ET）を遠心分離機にセットします。ETの蓋がローターの回転方向と逆方向を向くように配置してください（例：ローターが時計回りに回転する場合は、蓋が反時計回りを向くようにします）。約6,000 x *g* (8,000 rpm) で1分間遠心し、DNAを溶出させます。

注釈：すべての自動手順において、ラン終了後は直ちに機器から溶出液を取り出し、後で使用できるように保管してください。

11. プロトコール：マイクロ遠心機を用いた骨髄穿刺液サンプルからのゲノムDNAの分離および精製

K2-EDTA採血管で採取した200 μ Lの骨髄穿刺液サンプルからの、マイクロ遠心機を用いたゲノムDNAの分離および精製用です。

注釈： *ipsogen IDH1 RGQ PCR Kit* 使用説明書（ハンドブック）も併せて参照してください。

開始前の重要な留意点

- 以下の手順では、1つの骨髄穿刺液サンプルの処理方法について説明しますが、複数のサンプルを同時に処理することも可能です。その数は使用するマイクロ遠心機の収容数によって異なります。

11.1. 開始前に

- サンプルを室温まで平衡化させ、十分に混和されていることを確認してください。
- すべての試薬とQIAamp Mini スピンカラム（密閉ブリスターに入った状態）が室温まで平衡化していることを確認します。
- ステップ4で使用するヒートブロックを56 $^{\circ}$ Cに設定してください。
- 洗浄バッファー1（AW1）、洗浄バッファー2（AW2）、およびQIAGEN Protease（QP）が、セクション9の「試薬およびバッファーの調製」の指示に従って調製されていることを確認します。「開始前の重要な注意事項」
- 溶解バッファー（AL）に沈殿物が生じた場合は、56 $^{\circ}$ Cでインキュベートして溶解します。
- QIAGENの品質管理手順では、個々のキットロットごとに機能キットリリーステストを使用しますので、異なるロットのキットの試薬を混ぜたり、試薬ロットが異なる試薬同士を組み合わせたりしないでください。

手順

1. 20 μ LのQIAGEN Protease (QP) を溶解用チューブ (LT) に分注します。

溶解したプロテアーゼの使用期限を確認してから使用してください。

2. 溶解用チューブ (LT) にサンプル200 μ Lを加えます。
3. 溶解用チューブ (LT) に溶解バッファー (AL) を200 μ L加え、蓋を閉めて、パルスボルテックスで15秒以上混合します。

①効率よく溶解させるには、サンプルと溶解バッファー (AL) をよく混ぜ、均一な溶液にすることが重要です。

②溶解バッファー (AL) は粘性が高いため、慎重にピペット操作を行い、正確な量を加えてください。

③QIAGEN Protease (QP) を溶解バッファー (AL) に直接加えないでください。

4. ヒートブロックで、56 $^{\circ}$ Cで10分間インキュベートします。
5. 溶解用チューブ (LT) をフルスピードで5秒以上遠心し、蓋の内側の水滴を落とします。
6. 溶解用チューブ (LT) に200 μ Lのエタノール (96~100%) を加え、蓋を閉めて15秒以上パルスボルテックスし、十分に混合します。
7. 溶解用チューブ (LT) をフルスピードで5秒以上遠心し、蓋の内側の水滴を落とします。
8. ステップ7の溶解液全量を、縁を濡らさないように注意しながらQIAamp Minisピンカラムに加えます。ピペットチップがQIAamp Minisピンカラムの膜に触れないよう注意してください。

注釈：複数のサンプルを処理する場合は、溶解用チューブ (LT) を1回に1本ずつ開け、エアロゾルが発生しないよう注意してください。

9. QIAamp Minisピンカラムの蓋を閉め、約6,000 $\times g$ で1分間遠心します。QIAamp Minisピンカラムをきれいな洗浄チューブ (WT) にセットし、ろ液の入ったチューブを廃棄します。

- a. $6,000 \times g$ (8,000 rpm) で遠心した後、溶解液が膜を完全に通過していない場合はフルスピード (最大 $20,800 \times g$) でさらに1分間遠心してください。
 - b. 遠心しても溶解液が膜を通過しない場合は、QIAamp Miniスピнкаラムを廃棄し、新しいサンプルで手順を繰り返してください。
10. QIAamp Miniスピнкаラムを慎重に開け、カラムの縁を濡らさないように洗浄バッファー1 (AW1) を500 μ L加えます。ピペットチップがQIAamp Miniスピнкаラムの膜に触れないよう注意してください。
 11. QIAamp Miniスピнкаラムの蓋を閉め、約 $6,000 \times g$ で1分間遠心します。QIAamp Miniスピнкаラムをきれいな洗浄チューブ (WT) にセットし、ろ液の入ったチューブを廃棄します。
 12. QIAamp Miniスピнкаラムを慎重に開け、カラムの縁を濡らさないように洗浄バッファー2 (AW2) を500 μ L加えます。ピペットチップがQIAamp Miniスピнкаラムの膜に触れないよう注意してください。
 13. QIAamp Miniスピнкаラムの蓋を閉め、フルスピード (約 $20,000 \times g$ または 14,000 rpm) で1分間遠心します。QIAamp Miniスピнкаラムをきれいな洗浄チューブ (WT) にセットし、ろ液の入ったチューブを廃棄します。
 14. フルスピード (約 $20,000 \times g$ 、または 14,000 rpm) で3分間遠心し、膜を完全に乾燥させます。

注釈：乾燥遠心分離操作を省略すると、ダウンストリームアプリケーションが阻害される原因となることがあります。

15. QIAamp Miniスピнкаラムを新しい溶出用チューブ (ET) にセットし、ろ液の入っている洗浄チューブ (WT) を廃棄します。QIAamp Miniスピнкаラムの蓋を慎重に開け、膜の中央に溶出バッファー (AE) 200 μ Lを加えます。

①ダウンストリームアプリケーションの阻害につながるおそれのある残留洗浄バッファーによるコンタミネーションを避けるため、新しい溶出用チューブを使用してください。

① 溶出量が少ない場合は、核酸と溶出バッファー（AE）を最適に回収できるよう、膜の中央に溶出バッファー（AE）を分注してください。

① 溶出量はダウンストリームアプリケーションの要件に応じて選択する必要があります。遠心分離後、スピンカラム膜に残留溶出バッファーが保持されるため、回収される溶出液の量がカラムに加えた溶出バッファーの量よりも少なくなる場合がありますため、ご注意ください。

① 溶出バッファーが室温に平衡化されていることを確認してください。

16. 蓋を閉め、室温で1分間インキュベートします。
17. 溶出用チューブ（ET）を遠心分離機にセットします。ETの蓋がローターの回転方向と逆方向を向くように配置してください（例：ローターが時計回りに回転する場合は、蓋が反時計回りを向くようにします）。DNAを溶出させるため、約 $6,000 \times g$ (8,000 rpm) で1分間遠心します。

12. プロトコール：真空システムを用いた血液サンプルからのゲノムDNAの分離および精製

QIAvac 24 Plus真空システムなどの真空システムを用いた、EDTAまたはクエン酸処理済み全血サンプル200 μ LからのゲノムDNAの分離および精製用です。

開始前の重要な留意点

以下の手順では、1つの血液サンプルを処理する方法について説明しますが、QIAvac 24 Plus真空システムでは、同時に最大24個のサンプルを処理できます。

12.1. 開始前に

- 血液サンプルを室温まで平衡化し、十分に混和されていることを確認します。
- すべての試薬とQIAamp Miniスピニングラム（密閉ブリスターに入った状態）が室温まで平衡化していることを確認します。
- ステップ4で使用するヒートブロックを56 °Cに設定してください。
- 洗浄バッファー1（AW1）、洗浄バッファー2（AW2）、およびQIAGEN Protease（QP）が、セクション9の「試薬およびバッファーの調製」の指示に従って調製されていることを確認します。「開始前の重要な注意事項」
- 溶解バッファー（AL）に沈殿物が生じた場合は、56 °Cでインキュベートして溶解します。
- クロスコンタミネーションを最小限に抑えるため、真空システムの各ルアーアダプターにVacConnector（VC）を挿入してください。
- 真空システムの廃液ボトルが空になっており、すべてのカップリングが正しく接続されていることを確認してください。
- QIAGENの品質管理手順では、個々のキットロットごとに機能キットリリーステストを使

用しますので、異なるロットのキットの試薬を混ぜたり、試薬ロットが異なる試薬同士を組み合わせたりしないでください。

手順

1. 20 μ LのQIAGEN Protease (QP) を溶解用チューブ (LT) にピペットで分注します。
i 溶解したプロテアーゼの使用期限を確認してから使用してください。
2. 200 μ Lの血液サンプルを溶解用チューブ (LT) に加えます。
3. 200 μ Lの溶解バッファー (AL) を溶解用チューブ (LT) に加え、蓋を閉めて、パルスボルテックスで15秒以上混合します。
i 効率よく溶解させるには、サンプルと溶解バッファー (AL) をよく混ぜ、均一な溶液にすることが重要です。
i 溶解バッファー (AL) は粘性が高いため、慎重にピペット操作を行い、正確な量を加えてください。
i QIAGEN Protease (QP) を溶解バッファー (AL) に直接加えないでください。
4. ヒートブロックで、56 $^{\circ}$ Cで10分間インキュベートします。
5. 溶解用チューブ (LT) をフルスピードで5秒間以上遠心し、蓋の内側の水滴を落とします。
6. 200 μ Lのエタノール (96~100%) を溶解用チューブ (LT) に加え、蓋を閉めて、パルスボルテックスで15秒以上十分に混合します。
7. 溶解用チューブ (LT) をフルスピードで5秒間以上遠心し、蓋の内側の水滴を落とします。
8. QIAamp Miniスピンカラムを真空システム上のVacConnector (VC) に挿入します。メイン真空バルブ (真空システムと真空マニホールドの間) とスクリーキャップバルブ (真空マニホールド上) が閉じていることを確認してください。真空ポンプの電源を入れます。

9. ブリスター内でQIAamp Miniスピンカラムがセットされている洗浄チューブ (WT) (2 mL) を廃棄します。

注釈: 真空は接続システム (使用している場合) にのみ適用され、真空マニホールドには適用されません。

10. ステップ7の溶解液全量を、縁を濡らさないように注意しながらQIAamp Miniスピンカラムに加えます。ピペットチップがQIAamp Miniスピンカラムの膜に触れないよう注意してください。

注釈: 複数のサンプルを処理する場合は、溶解用チューブ (LT) を1回に1本ずつ開け、エアロゾルが発生しないよう注意してください。

11. メイン真空バルブを開けます。溶解液がQIAamp Miniスピンカラムを通して吸引されたらメイン真空バルブを閉め、真空マニホールド上のスクリーキャップバルブを開けてマニホールドをベントします。マニホールド内の真空が解放されたら、スクリーキャップバルブを閉めます。

メイン真空バルブを閉めた後、真空は接続システム (使用している場合) にのみかかり、真空マニホールドにはかかりません。

① 真空を急速に解放するには、真空マニホールドのスクリーキャップバルブを使用してください。

注釈: 複数のQIAamp Miniスピンカラムを同時に処理する場合は、この真空ステップ時間を短縮するため、溶解液が通過した後に各カラムのVacValveを閉めることをお勧めします。

- a. 10分経過しても溶解液が完全に膜を通過しない場合は、QIAamp Miniスピンカラムをきれいな洗浄チューブ (WT) に入れ、蓋を閉めて、 $6,000 \times g$ (8,000 rpm) で3分間、または溶解液が完全に通過するまで遠心してください。QIAamp Miniスピンカラムを別のきれいな洗浄チューブ (WT) にセットし、ステップ12に進みます。
- b. 遠心しても溶解液が膜を通過しない場合は、QIAamp Miniスピンカラムを廃棄し、新しいサンプルで手順を繰り返してください。

12. QIAamp Minisピンカラムの縁を濡らさないようにして、750 μ Lの洗浄バッファー1 (AW1)を加えます。ピペットチップがQIAamp Minisピンカラムの膜に触れないよう注意してください。カラムの蓋は開けたままにし、メイン真空バルブを開けます。洗浄バッファー1 (AW1)がQIAamp Minisピンカラムを通して吸引されたら、メイン真空バルブを閉め、スクリューキャップバルブを開けてマニホールドをベントします。マニホールド内の真空が解放されたら、スクリューキャップバルブを閉めます。
13. QIAamp Minisピンカラムの縁を濡らさないようにして、750 μ Lの洗浄バッファー2 (AW2)を加えます。ピペットチップがQIAamp Minisピンカラムの膜に触れないよう注意してください。カラムの蓋は開けたままにし、メイン真空バルブを開けます。洗浄バッファー2 (AW2)がQIAamp Minisピンカラムを通して吸引されたら、メイン真空バルブを閉め、スクリューキャップバルブを開けてマニホールドをベントします。マニホールド内の真空が解放されたら、スクリューキャップバルブを閉めます。
14. QIAamp Minisピンカラムの蓋を閉めて真空システムから取り外し、VacConnector (VC)を廃棄します。QIAamp Minisピンカラムをきれいな洗浄チューブ (WT)にセットし、フルスピード (約20,000 $\times$ g、または14,000 rpm)で3分間遠心して膜を完全に乾燥させます。

注釈：乾燥遠心分離操作を省略すると、ダウンストリームアプリケーションが阻害される原因となることがあります。

15. QIAamp Minisピンカラムを新しい溶出用チューブ (ET)にセットし、ろ液の入っている洗浄チューブ (WT)を廃棄します。QIAamp Minisピンカラムの蓋を慎重に開け、膜の中央に50~200 μ Lの溶出バッファー (AE) (ダウンストリームアプリケーションに応じて)を添加します。

①ダウンストリームアプリケーションの阻害につながるおそれのある残留洗浄バッファーによるコンタミネーションを避けるため、新しい溶出用チューブを使用してください。

②溶出量が少ない場合は、核酸と溶出バッファー (AE)を最適に回収できるよう、膜の中央に溶出バッファー (AE)を分注してください。

① 溶出量はダウンストリームアプリケーションの要件に応じて選択する必要があります。遠心分離後、スピンカラム膜によって残留溶出バッファーが保持されるため、回収される溶出液の容量は、カラムに添加した溶出バッファーの容量よりも少なくなることがあります。

① 溶出バッファーが室温に平衡化されていることを確認してください。

16. 蓋を閉め、室温で1分間インキュベートします。
17. 溶出用チューブ（ET）を遠心分離機にセットします。ETの蓋がローターの回転方向と逆方向を向くように配置してください（例：ローターが時計回りに回転する場合は、蓋が反時計回りを向くようにします）。DNAを溶出させるため、約6,000 × *g* (8,000 rpm) で1分間遠心します。

本プロトコール実施後は、真空システムのメンテナンス手順に従ってください（詳細については、www.qiagen.com/HB-0496を参照してください）。

13. 制限事項

- 本システムの性能は、ゲノムDNA分離用の全血を使用して確立されています。
- 手動抽出プロトコールは、*ipsogen* IDH1 RGQ PCR Kitおよびマイクロ遠心機を使用するプロトコールと組み合わせて、骨髓穿刺液サンプルからのゲノムDNAの分離についてさらに検証されています。
- **重要**：QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitを使用して骨髓穿刺液サンプルから分離したゲノムDNAは、*ipsogen* IDH1 RGQ PCR Kitとの併用以外の目的で使用しないでください。*ipsogen* IDH1 RGQ PCR Kitは、お住まいの国によっては販売されていない場合がありますのでご注意ください。現地の規制要件を遵守するのはユーザーの責任です。
- QIAamp DSP DNA Blood Mini Kitの使用に関する情報は、セクション3に記載されています。「説明と原理」。自動化手順の詳細は、セクション10に記載されています。「プロトコール：マイクロ遠心機を用いた、またはQIAcube Connect MDxでの自動精製による、血液サンプルからのゲノムDNAの分離および精製」。
- ユーザーの実験室で使用する手順のうち、QIAGENの性能試験の対象外となるものについて、システム性能を検証するのはユーザーの責任です。
- 診断結果に悪影響が及ぶリスクを最小限に抑えるため、ダウンストリームアプリケーションには適切なコントロールを使用する必要があります。さらなる検証については、*ICH Q2(R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology* (2)における「医薬品規制調和国際会議（ICH）」のガイドラインが推奨されます。
- 作成された診断結果はすべて、他の臨床所見や検査所見と併せて解釈する必要があります。

14. 性能特性

該当する性能特性は、www.qiagen.comの製品ページにあるリソースタブでご確認いただけます。

15. 参考文献

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (2020) *Collection, transport, preparation, and storage of specimens for molecular methods* (CLSI document MM13-A).
2. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. (2005) *ICH harmonised tripartite guideline: Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2 (R1)*.

16. トラブルシューティングガイド

このトラブルシューティングガイドは、何らかの問題が発生した際にお役立てください。詳細については、当社のテクニカルサポートセンターの「よくある質問」ページ（www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx）も併せて参照してください。QIAGENテクニカルサポートの技術スタッフは、本ハンドブックの情報やプロトコール、またはサンプルおよびアッセイ技術に関するいかなるご質問にもいつでもお答えいたします（連絡先については、www.qiagen.comをご覧ください）。

コメントと推奨事項

取り扱い全般

- | | |
|------------------------------------|--|
| a) サンプル分注時のピペットチップの目詰まり | サンプルを移す前に、チューブを数回反転させるなどしてサンプルを十分に混合してください。凍結サンプルは、37 °Cのウォーターバスに入れて静かに攪拌しながら融解して十分に混和させ、室温まで平衡化させてから手順を開始してください。 |
| | サンプルが凝固しないよう注意し、凝固のないサンプルを移してください。凍結サンプルを融解する際に生じるクリオプレシビテートが、QIAamp Miniスピナラムの膜を詰まらせたり、QIAcube Connect MDxでの自動処理を妨げたりする場合があります。 |

b) QIAamp Minisピンカラムの目詰まり

スピンワークフローの場合：

6,000 × *g* (8,000 rpm) で遠心しても溶解液が完全に膜を通過していない場合は、フルスピード（最大20,800 × *g*）で1分間再度遠心してください。

遠心しても溶解液がまだ膜を通過しない場合は、サンプルを廃棄し、新しいサンプルを用いてステップ1から分離および精製をやり直してください。

真空ワークフローの場合：

流量を減少すると、真空時間を延長することができます。

または、VacValve（使用している場合）を閉じて、溶解液を失わないように注意しながら、QIAamp MinisピンカラムからVacConnector-VacValveアセンブリを慎重に取り外してください。

QIAamp Minisピンカラムを真空マニホールドから取り出し、2 mL洗浄チューブに入れ、サンプルが完全に膜を通過するまでフルスピードでスピンします。残りの溶解液が入ったVacConnector-VacValveアセンブリを戻します。真空ポンプのスイッチを入れてVacValveを開き、残りの溶解液を引き続き投入してください。

QIAamp Minisピンカラムの目詰まりが解消されない場合は、上記の手順を繰り返してださい。

遠心しても溶解液がまだ膜を通過しない場合は、サンプルを廃棄し、新しいサンプルを用いてステップ1から分離および精製をやり直してください。

一般情報

凍結融解の繰り返しにより、クリオプレシピテートが形成された可能性があります。これはQIAamp Minisピンカラムを塞ぎ、QIAcube Connect MDxでの自動手順に支障をきたす可能性があります。凍結サンプルは、37 °Cのウォーターバスに入れて静かに攪拌しながら融解して十分に混和させ、室温まで平衡化させてから手順を開始してください。

クリオプレシピテートが見られる場合は、吸引しないでください。

c) 溶解バッファー（AL）に沈殿が生じた場合

溶解バッファー（AL）を56 °Cでインキュベートして溶解してください。

- d) 溶出量の変動
- 回収される溶出液の量は、検体の種類の性質によって異なります。
- 遠心分離後は、スピンカラム膜に残留溶出バッファー（AE）が保持されるため、回収される溶出液の量がカラムに加えた溶出バッファーの量より少なくなる場合があります。
- 膜の中央に溶出バッファー（AE）を加えます。溶出量が少ない場合は、核酸および溶出バッファー（AE）を効率よく回収するため、膜の中央に溶出バッファー（AE）を分注することが特に重要です。
- e) 真空圧が約
800～900 mbarに達していない
- 真空マニホールドがしっかり閉じていません。**真空のスイッチを入れた後、真空マニホールドの蓋を押し下げ、真空圧に達しているかを確認してください。
- QIAvacの蓋のガスケットが摩耗しています。**マニホールドのシールを目視で確認し、必要に応じて交換してください。
- VacValveが摩耗しています。**すべてのVacValveを取り外し、VacConnector（VC）を直接ルアーエクステンションに挿入してください。QIAamp MiniスピンカラムをVacConnector（VC）に挿入し、カラムの蓋を閉じて真空スイッチを入れてください。真空圧に達しているかを確認してください。必要に応じてVacValveを交換してください。
- 真空ポンプへの接続部から漏れが生じている。**すべてのルアーエクステンションをルアーキャップで閉じ、真空ポンプのスイッチを入れてください。ポンプのスイッチを入れ、Vacuum Regulatorバルブを閉じている状態で、真空圧が安定しているか確認してください。必要に応じて、ポンプと真空マニホールド間の接続を交換してください。
- それでも真空圧に到達しない場合は、真空ポンプをより強力なポンプと交換してください。
- f) 自動ワークフローにおける問題について
- QIAcube Connect MDxユーザーマニュアル（www.qiagen.comの製品ページのリソースタブにあります）を参照してください。

DNA収量が少ない

a) サンプルの不完全溶解

QIAGEN Protease (QP) は、高温に長時間さらされると、活性が失われる可能性があります。新しいサンプルと新鮮なQIAGEN Protease (QP) を用いて手順を繰り返してください。

上述の指示に従い、QIAGEN Protease (QP) をProtease Solvent (PS) で確実に溶解してください。泡立ちを防ぐため、パイアルを数回反転させて混合します。QIAGEN Protease (QP) が完全に溶解していることを確認してください。QIAGEN Protease (QP) を溶解バッファー (AL) に直接加えないでください。

効率よく溶解させるには、サンプルと溶解バッファー (AL) をよく混ぜ、均一な溶液にすることが重要です。溶解バッファー (AL) は粘性が高いため、適切なピペットを使用してピペット操作を慎重に行い、正確な量を加えてください。

b) 96~100%のエタノールの代わりに低濃度のエタノールを使用した

新しいサンプルと96~100%エタノールを使って、精製手順を繰り返してください。

変性アルコールは使用しないでください。メタノールやメチルエチルケトンなどの他の物質が含まれているためです。

c) バッファーAW1またはバッファーAW2が正しく調製されていないかった

手順を開始する前に、バッファーAW1およびバッファーAW2の濃縮物が正しい量の96~100%エタノールで希釈されており、ボトルを数回反転させて混合されていることを確認してください。

d) サンプルが適切に保存されていないかった

精製したDNAの収量および品質は、サンプルの保存条件に左右されます。サンプルの凍結融解作業は、DNAの収量と品質に影響を及ぼす可能性があります。ユーザーは、自身の実験室で使用する特定のダウンストリームアプリケーションの使用説明書を参照し、ワークフロー全体を検証して適切な保存条件を確立する責任があります。

e) 融解後、凍結サンプルが適切に混合されなかった

凍結サンプルは、37 °Cのウォーターバスに入れて静かに攪拌しながら融解して十分に混和させ、室温まで平衡化させてから手順を開始してください。

ダウンストリームアプリケーションでDNAがうまく動作しない

a) 溶出液中のDNAが微量である、または存在しない

考えられる原因については、上記の「DNA収量が少ない」を参照してください。可能な場合は、反応に加える溶出液の量を増やしてください。

b) 不適切な溶出容量を使用した

溶出量はダウンストリームアプリケーションの要件に応じて選択する必要があります。バッファーAEの量を少なくして溶出すると、核酸濃度は高くなりますが総収量は低下する可能性があります。

コメントと推奨事項

- | | | |
|----|-------------------|--|
| c) | 使用したDNA量が不十分だった | 260 nmの吸光度の分光光度測定で精製DNAを定量してください。 |
| d) | 使用したDNA量が多すぎた | DNA量が多すぎると、一部の酵素反応を阻害することがあります。260 nmの吸光度の分光光度測定で精製DNAを定量してください。 |
| e) | 阻害物質のキャリアオーバーの可能性 | 溶出前には必ず乾燥遠心の工程を行い、ダウンストリームアプリケーションを阻害する可能性を阻止してください。ダウンストリームアプリケーションを阻害する可能性のある残留洗浄バッファーによるコンタミネーションを避けるため、新しい溶出用チューブ（ET）を使用することが重要です。 |

17. 図記号

使用説明書やパッケージとラベルには、次の図記号が表示されます。

図記号	図記号の定義
	<N>回分の反応に十分な量の試薬が含まれています
	使用期限
	この製品は、体外診断用医療機器に関する欧州規則2017/746の要件を満たしています。
	体外診断用医療機器
	納品時
	納入時に開封：QIAamp Minisピンカラムを2～8 °Cで保管
	カタログ番号
	ロット番号
	資材番号（コンポーネントのラベル）
	コンポーネント
	含有物質
	番号
	グローバルトレードアイテム番号
Rn	Rは使用説明書の改訂を示し、nは改訂番号を示しています

図記号

図記号の定義



温度制限



製造元



使用説明書を参照



容量



ボトルにエタノールを添加した後、現在の日付を記入してください



添加



凍結乾燥済み



以下で溶解：



エタノール



グアニジン塩酸塩



結果



重要な注意



機器固有識別子



マレイン酸



警告/注意

図記号

図記号の定義



腐食性



危険



健康有害性

18. お問い合わせ先

技術的なサポートおよび詳細については、弊社の技術サポートセンター（support.qiagen.com）を参照してください。

19. 発注情報

製品	目次	カタログ 番号
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	50回調製用：QIAamp Minisピンカラム、バッファー、試薬、チューブ、VacConnectors	61104
関連製品		
QIAcube Connect MDx*	機器	9003070
QIAvac 24 Plus システム†	スピнкаラムを1〜24本処理できる真空マニホールド：QIAvac 24 Plus真空マニホールド、ルアープラグ、クイックカップリングを含む	19413
真空ポンプ (230 V、50 Hz) †	ユニバーサル真空ポンプ	84020または9003250
VacConnectors (500) †	ルアーコネクタに取り付けてQIAampスピнкаラムで使用する使い捨てコネクタ500個	19407
VacValves (24) †	QIAvac 24およびQIAvac 24 Plusで使用するバルブ24個	19408
QIAvac Connecting System†	真空マニホールドと真空ポンプを接続するシステム：トレイ、廃液ボトル、チューブ、カップリング、バルブ、ゲージ、24個のVacValveを含む	19419
ローターアダプター (10 x 24)	240回調製用：使い捨てローターアダプター240個、溶出用チューブ (1.5 mL) 240本。QIAcube Connect MDx用	990394
ローターアダプターホルダー	使い捨てローターアダプター (12個) 用ホルダー、QIAcube Connect MDx用	990392
サンプルチューブCB (2 mL)	QIAcube Connect MDxで使用する、スカートなしコニカルスクリュウキャップチューブ (2 mL) 1,000本	990382
シェーカーラックプラグ	QIAcube Connect MDxシェーカーラック投入用	9017854
試薬ボトル、30 mL (6)	蓋付き試薬ボトル (30 mL) 、6個入り、QIAcube Connect MDx用	990393
フィルターチップ、1,000 µL (1,024)	使い捨てフィルターチップ、ラック入り (8×128) 。QIAcube Connect MDx用	990352

製品	目次	カタログ 番号
フィルターチップ、1,000 µL、 ワイドボア (1,024)	使い捨てフィルターチップ、ワイドボア、ラック入り (8 × 128)。すべてのプロトコールに必要というわけではありません。 QIAcube Connect MDx用	990452
フィルターチップ、200 µL (1,024)	使い捨てフィルターチップ、ラック入り (8 × 128)。QIAcube Connect MDxおよびQIAsymphony SP/AS機器用	990332

*QIAcube Connect MDxは、一部の国ではご利用いただけません。詳細については、QIAGENテクニカルサービスにお問い合わせください。

†真空プロトコールに使用。

ライセンスに関する最新情報や製品に固有の免責事項については、該当するQIAGENキットの使用説明書をご覧ください。QIAGENキットの使用説明書は、www.qiagen.comから入手可能です。または、QIAGENテクニカルサービスもしくはお近くの販売代理店までお問い合わせください。

20. 文書の改訂履歴

改訂	説明
R1、2022年6月	バージョン3、改訂1 - 体外診断用医療機器規則への適合に伴い、キットバージョン3に更新 「説明と原理」を更新 「キットに含まれる材料」（有効成分を追記）および「キット以外に必要な材料」を更新 「警告と注意」を更新（緊急時の連絡先と「廃棄」のセクションを追記） 「試薬の保管と取り扱い」を更新 「検体の採取、保管、および取り扱い」を更新 「重要な注意」と「手順」を更新 「制限事項」を更新 「性能特性」を更新 「図記号」のセクションを更新 「発注情報」を更新
R2、2026年5月	バージョン3、改訂2 - 説明および原理：骨髓穿刺液に関する情報の追加および編集上の変更 「キットに含まれる材料」および「キット以外に必要な材料」を更新 「警告と注意」を更新 「試薬の保管と取り扱い」を更新 - 検体の採取、保存、および取り扱い：血液サンプルに関する情報の更新、骨髓穿刺液に関する情報の追加、および編集上の変更 - 手順のセクション：骨髓穿刺液用のプロトコールの追加、および編集上の変更 - 制限事項：骨髓穿刺液に関する情報の追加 - トラブルシューティングガイドを更新 「図記号」のセクションを更新 「発注情報」を更新

QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kitの限定使用許諾契約

本製品の購入者またはユーザーは、本製品を使用した時点で、以下の条項に同意したものとみなされます。

1. 本製品は、本製品書と共に提供されるプロトコルおよび本製品説明書のみに従い、パネルに含まれるコンポーネントのみを用いて使用することができます。QIAGENは、本製品と共に提供されるプロトコル、本製品説明書、www.qiagen.comに掲載されている追加プロトコルに説明されているものを除き、所有する知的財産の下、このパネルに含まれるコンポーネントをこのパネルに含まれていないコンポーネントと一緒に使用または組み込むライセンスを一切許諾しません。追加プロトコルには、QIAGENのユーザーがQIAGENの他のユーザーに提供しているものがあります。これらのプロトコルは、QIAGENによって十分に検証または最適化されたものではありません。QIAGENはこれらを保証するものではなく、また第三者の権利を侵害していないことを保証するものでもありません。
2. 明示されたライセンスを除き、QIAGENは本パネル、その使用、またはこの両方が第三者の権利を侵害しないことを保証しません。
3. 本パネルとそのコンポーネントは1回のみ使用についてライセンスが許諾されるものであり、それらを再使用したり、再生したり、再販したりすることはできません。
4. QIAGENは明示的に言及されているものを除き、明示・黙示を問わず他のあらゆるライセンス許諾を具体的に否認します。
5. 本パネルの購入者とユーザーは、上記の禁止事項に至る、またはこれを助長する可能性のある行為を行わず、また他者に対しかかる行為を許容しないことに同意します。QIAGENは、本限定ライセンス契約の禁止事項について裁判所を通じてその履行を求めることができます。また、本限定ライセンス契約を執行するため、もしくは本パネルまたはそのコンポーネントに関しQIAGENが保有する知的財産権を行使するために法的措置をとる場合、弁護士費用を含む調査・訴訟にかかる一切の費用を回収することができます。

最新のライセンス条項については、www.qiagen.comをご覧ください。

商標：QIAGEN®、Sample to Insight®、QIAamp®、QIAcube® (QIAGEN Group)、Sarstedt® (Sarstedt AG and Co. KG)。本文書に記載されている登録名称や商標などは、特に明記されていない場合でも、法的な保護の対象となります。

2026/5 HB-3030-002 R2 © 2026 QIAGEN, all rights reserved.

ライセンスに関する最新情報や製品に固有の免責事項については、該当するQIAGENキットのハンドブックまたはユーザーマニュアルをご覧ください。QIAGENキットハンドブックおよびユーザーマニュアルはwww.qiagen.comから入手可能です。また、QIAGENテクニカルサポートまたはお近くの販売代理店に請求することもできます。

商標：QIAGEN®、Sample to Insight®、QIAamp®、QIAcube®、Pyrosequencing® (QIAGEN Group)、BD™、Vacutainer® (Becton Dickinson and Company)、S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.)、Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH)。本文書に記載されている登録名称や商標などは、特に明記されていない場合でも、法的な保護の対象となります。

2026/5 HB-3030-D01-002 © 2026 QIAGEN, all rights reserved.