

Lysis Buffer S Ver.2を用いた溶血試料の前処理方法について

【CSFV/ASFV Direct RT-qPCR Mix & Primer/Probe Ver.2（製品コードRC213A）】

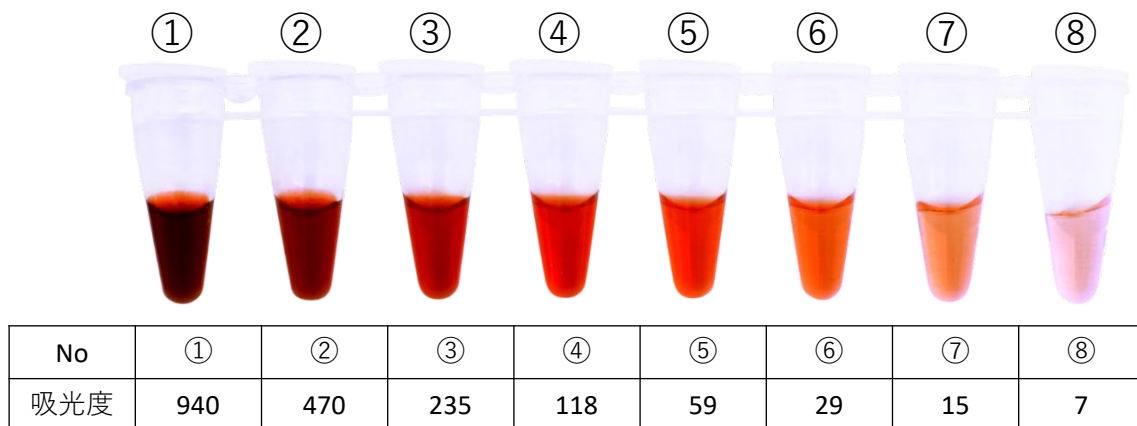
【CSFV/ASFV Direct RT-qPCR Mix & Primer/Probe (with ROX Reference Dye) Ver.2（製品コードRC214A）】

【Lysis Buffer S Ver.2（製品コード9812）】

これらの製品の取扱説明書およびデータシートも必ずご覧ください。

本製品は血清および臓器乳剤を用いた核酸の増幅に適した組成となっていますが、溶血等による着色の程度によっては試料中の色素の影響で蛍光の検出が阻害される場合があります。溶血の程度が強い試料をLysis Buffer S Ver.2にて前処理する場合には、試料の色味に応じて前処理後に希釈することを推奨します。以下に、溶血サンプルの色と吸光度（参考値）の例を示します。

■溶血した試料の色と415nmにおける吸光度の例



（吸光度は参考値です(光路長を10mmとした場合の換算値)※）
※ NanoDrop1000（Thermo Fisher Scientific 社）を用いた測定値。

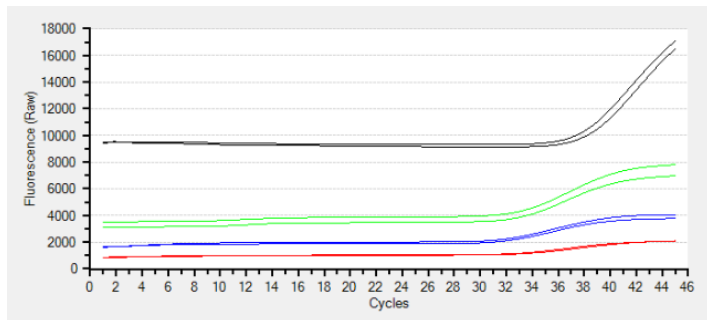
色味に応じた前処理方法

- ① の場合： Lysis Buffer S Ver.2による処理は推奨しない。Solution N（製品コード9815）または核酸精製のキット等を用いて、核酸を抽出・精製して検出に用いる。
- ②、③ の場合： 前処理後の試料をそのまま用いるほか、前処理後の試料を滅菌精製水で2倍、4倍および8倍に希釈して反応液に添加する。
- ④～⑧ の場合： RC213AおよびRC214A取扱説明書のVI. 2-2.に記載されている前処理後のサンプルをそのまま使用する。

補足：反応後、増幅曲線のRaw dataを確認することをお勧めします。

Raw DataでFAMのBackgroundのレベルを確認し、当該試料のレベルが陽性対照（Positive Control）に比べて顕著に低下している場合は、蛍光の検出が阻害されている可能性があります。その場合は、前項を参考に前処理後の試料を滅菌精製水で希釈するか、もしくは試料から核酸を抽出・精製して再検査してください。

< FAM検出のBackgroundレベルが低下した例 >



溶血していない試料での増幅反応（黒）と比較して、溶血試料での増幅反応（赤、青、緑の3種）では、FAM検出におけるBackgroundの低下が確認された。

ご注意：試料の色味以外の要因により検出不良になる場合もあります。その場合は、試料から核酸精製を行なって再検査してください。

（核酸精製キット：NucleoSpin Virus（製品コード 740983.10/50/250、マッハライナーゲル社）ほか）