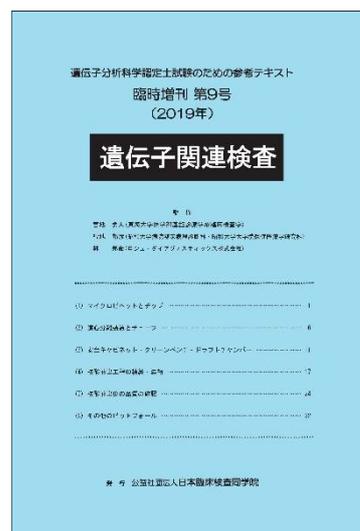


遺伝子関連検査テキスト

監修：宮地 勇人(東海大学医学部基盤診療学系臨床検査学)
福地 邦彦(昭和大学病院臨床病理診断科・昭和大学大学院
保健医療学研究科)
林 邦彦(ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社)

2019年9月、A4判、本文40頁、価格 ¥1,760(税込)
発行・販売 公益社団法人 日本臨床検査同学院



- ・ 機関誌「通信」シリーズ：「**遺伝子関連検査における備品・器具・手技に関する注意点**」の6回シリーズ(43巻 春季号～44巻 夏季号)に一部加筆し、1冊に収録!
- ・ 日々の検査や遺伝子に関する基礎知識の整理にオススメ

このたび、遺伝子関連検査を実施するうえでの実験室の設備・備品の整備、および使用方法について、教科書や使用説明書とは異なる実践的な詳細をまとめることとした。

日本臨床検査同学院・日本遺伝子分析科学同学院では「遺伝子分析科学認定士試験」第1回初級は2007年、第1回一級は2012年から継続して行っている。本試験では、実験室(検査室)で働く者に求められる機器備品の使用方法を含めた正しい実験のポイントが問われている。

「通信」に掲載した内容について現在(2018～'19年)の共通理解に基づき、自らの手で実施しているがごとく実践的に解説した。これらに、さらに一部加筆を行ったものを上梓する。これから仕事を始める者にとっては基礎学習となり、すでにこの領域で仕事をしている者にとっては、自分たちが日々手を動かしている様の再確認となるはずである。

(巻頭言より抜粋)

【内 容】

- (1) マイクロピペットとチップ
- (2) 遠心分離装置とチューブ
- (3) 安全キャビネット・クリーンベンチ・ドラフトチャンバー
- (4) 核酸抽出工程の精製・濃縮
- (5) 核酸抽出後の品質の確認
- (6) その他のピットフォール

【購入申込】

書店での取扱いはありませんので、ホームページから直接お申込みください。
公益社団法人 日本臨床検査同学院

【掲載例】

写真や図を多用した実践的な内容！ 基礎学習、手技等の再確認に

原理

核酸抽出を理解するために

A. フェノール・クロロホルム法の原理

種々の生物試料から核酸 (DNA / RNA) の抽出を行うには大きくは3つのステップ、すなわち、① 生物試料の可溶化^{*}、② 他の生体高分子 (タンパク質など) からの核酸の分離、③ 核酸の精製と濃縮からなる。

DNA の抽出工程は生物試料の破壊と可溶化 ⇒ RNA の消化 ⇒ 核タンパク質の解離 ⇒ 除タンパク質 ⇒ DNA の分離で、RNA の抽出工程は生物試料の破壊と可溶化 ⇒ RNase の変性 ⇒ 除タンパク質 ⇒ RNA の分離である (図 1)。(※可溶化に用いる試薬については表 1 を参照)

抽出 = 検体から核酸 (DNA/RNA) を取り出す

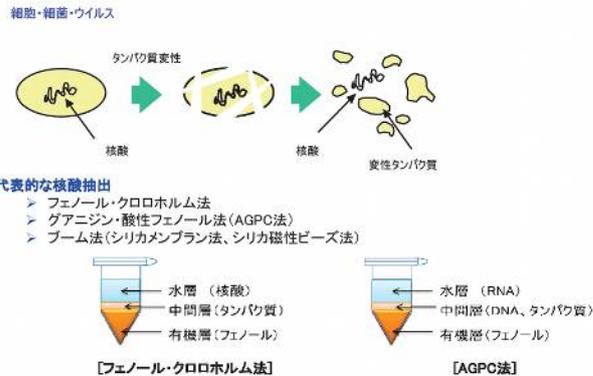


図 1 核酸抽出の流れ

機器

遠心分離装置 チューブ

表 1 回転数 (rpm) による遠心機の種類

種類	回転数の範囲	用途
低速 (汎用) 遠心機	~ 5,000 rpm	10 mL ~ 50 mL の遠心チューブに対応
高速遠心機	~ 20,000 rpm	50 mL ~ 500 mL の遠心ボトルに対応
高速微量遠心機	5,000 ~ 15,000 rpm	1.5 mL ~ 2.0 mL のマイクロチューブに対応
超 (高速) 遠心機	60,000 rpm 以上	超遠心専用の遠心チューブ

※この他に簡単なスピンドダウン専用の卓上小型微量遠心機もある。



図 1 アングルローターとスイングローター



図 6 チューブの種類
スクリューキャップ式 (左) とスナップ式 (右)

手技

マイクロピペット

B. 使用方法

容量可変式ピペットを用いて解説すると

- ① ロック式はロックを解除する。
- ② マイクロピペットの目盛を設定量に合わせる。
- ⋮
- ⑥ マイクロピペットのハンドグリップを握り、容器から試料を量り取る際はマイクロピペットを垂直に持ち上げ、プッシュボタンを第一ストップまで押し込み、容器の中央からチップの先端を試料に差し込んでゆっくりと吸引する (図 3)。
- ⑦ 吸引した試料をチューブなどに注ぐときはエアロゾルの発生を防ぐため、チップの先端をチューブの内壁に当て、プッシュボタンを第二ストップまで押し切って注ぐ (図 4)。



図 3-1 マイクロピペットの握り方

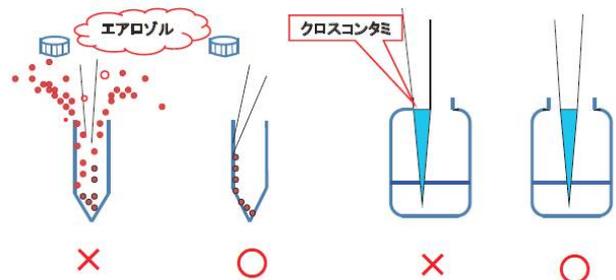


図 4 マイクロピペットの基本操作の例

操作手順

電気泳動について

C. アガロースゲル電気泳動の操作手順の例

1. 1% アガロースゲルの作製

- ① 作製トレイを水平に設置。
- ② ゲル作製ゲートをUV透過トレイにセット。
- ③ コームをトレイにセット。

2. ゲルの調製

- ① 200 mL 三角フラスコに1× TAE buffer 100 mL を加える (TAE と TBE の比較は表 3 を参照)。

表 3 DNA のアガロースゲル電気泳動緩衝液 (TAE と TBE) の比較

	長所	短所
TAE ^{※1}	① もっとも一般的	① 緩衝力が低い
	② 直鎖状、スーパーコイル DNA の分離に適する	② 泳動中に pH の偏りが生じやすい
	③ TBE に比べ約 10% 速く泳動可能	③ 長時間、高電流条件下ではバッファー交換または循環が必要
TBE ^{※2}	① 緩衝力が強い	① 泳動時間が TAE に比べ長い
	② pH の偏りや熱の発生を抑える	

※1 TAE: Tris/ 酢酸 /EDTA バッファー

※2 TBE: Tris/ ホウ酸 /EDTA バッファー

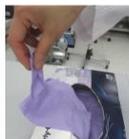
その他

個人防護衣や手袋について

ある施設では一度使用した手袋をポケットに入れておき、使用済みの手袋に息を吹き込み再度装着しているのが見受けられた。感染から自身の身を守るためのみならば止むを得ないかも知れないが、遺伝子関連検査においては要注意である。図 3 にも示してあるが、手袋の装着や脱着は以下のように行うことを推奨する。

- ① 手袋を装着する際は必ず手袋の先端に触れず、手首(柄)側の端から素手で片方のみつまみ取る。素手で手袋に触れた部分には手のヌクレアーゼ (DNase/RNase) が付着し汚染されるからである。
- ② 片方の手に手袋を装着後、手袋を装着した手で他方の手袋を同様にして手袋の手首(柄)側から取

手袋の装着



手袋の脱着



図 3 手袋の装着と脱着の順序