Promega Corporation
tel: 03-3669-7981 • www.promega.com

2020/05/01 Version 1.2

ReliaPrep™ Viral Total Nucleic Acid Purification Kit, Custom （カタログ番号 AX4820）を用いた鼻咽頭ぬぐい液からの RNA 抽出

1. ご注意点

本法は、Binding Buffer (BBA)の代わりにイソプロパノールを用いることで、高収率にウイルス RNA を精製するためのカスタムプロトコルです。キットにはイソプロパノールは含まれていないため、別途ご準備ください。**Binding Buffer (BBA)は使用しません。**

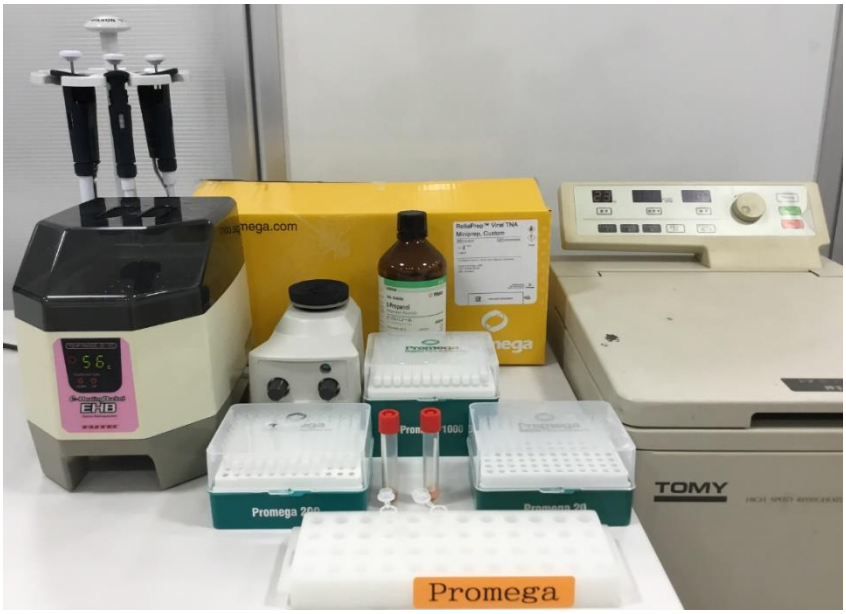
本キットは吸引法には対応しておりません。

スワブの懸濁液は、生理食塩水や UTM ウイルス輸送用培地をご利用ください。

2. プロトコル

ユーザーが用意するもの

- ボルテックスミキサー
- 1.5 ml 遠心チューブ
- 56℃に設定されたヒートブロック
- 14,000×g に対応したマイクロ遠心分離機
- イソプロパノール



Promega products are warranted to meet or exceed the stated specifications. Promega's sole obligation and the customer's sole remedy is limited to replacement of products free of charge in the event products fail to perform as warranted.

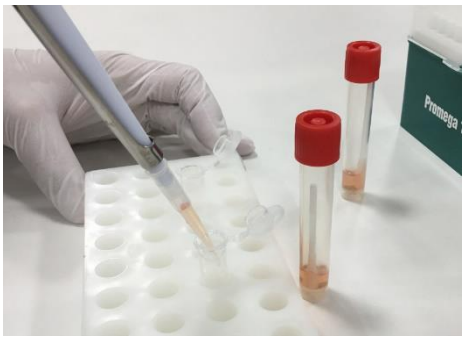
Promega Corporation
tel: 03-3669-7981 • www.promega.com

＊すべての遠心は、14,000×g、室温(15～25℃)で実施してください。

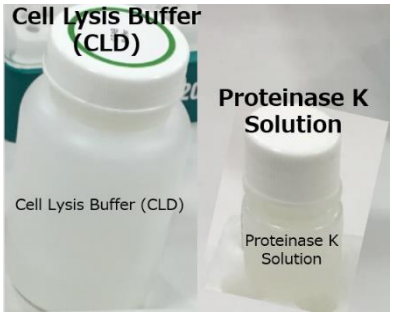
サンプルの準備

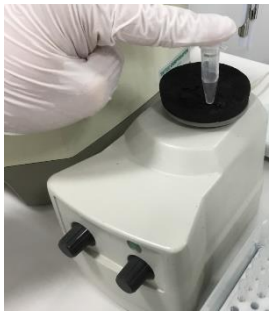
1. 鼻咽頭ぬぐい液 200 µl を 1.5 ml 遠心チューブへ移す。

   注：検体量を増やす場合には、別途ご相談ください



2. Cell Lysis Buffer (CLD) 200 µl と
   Proteinase K 20 µl を加え
   10 秒間以上撹拌する。





3. 56℃で 10 分間インキュベートします。

   注：抽出コントロール核酸を使用する場合、ステップ 3 の後にライセートに追加することができます。このキットにはコントロールは含まれていません。

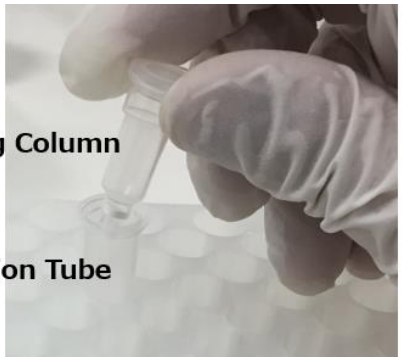
調製したライセートは、Maxwell® RSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit（カタログ番号 AS1330）を用いた自動核酸精製にも使用できます。

Promega products are warranted to meet or exceed the stated specifications. Promega's sole obligation and the customer's sole remedy is limited to replacement of products free of charge in the event products fail to perform as warranted.

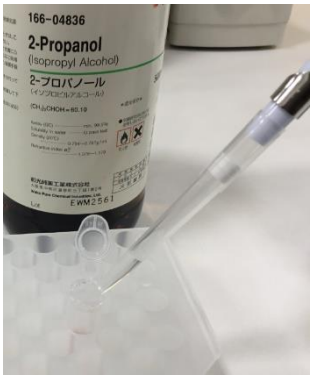
Promega Corporation
tel: 03-3669-7981 • www.promega.com

核酸精製

4. (3)の間に ReliaPrep™ Binding Column を空の Collection Tube にセットします。

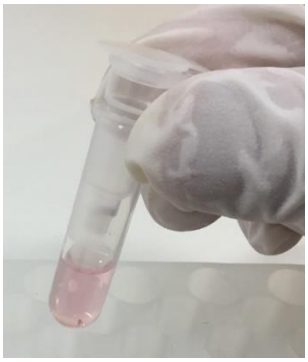


5. ヒートブロックからチューブを取り外します。イソプロパノール 250 µl を加え、チューブに蓋をし、ボルテックスミキサーで 10 秒間ボルテックスして混合します。



6. チューブの内容物を Binding Column に加え、蓋をして微量遠心機に入れます。

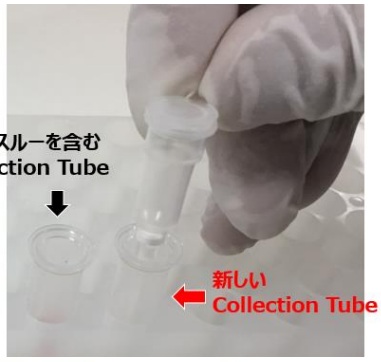
7. 1 分間遠心します。Binding Column 内のライセートがメンブレンを完全に通過したことを確認します。ライセートがメンブレン上に残っている場合は、カラムをさらに 1 分間遠心します。



Promega products are warranted to meet or exceed the stated specifications. Promega's sole obligation and the customer's sole remedy is limited to replacement of products free of charge in the event products fail to perform as warranted.

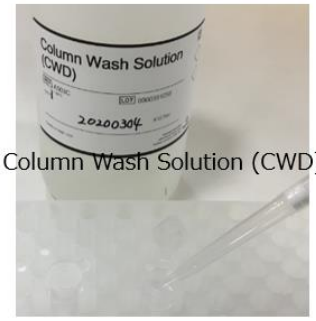
Promega Corporation
tel: 03-3669-7981 • www.promega.com

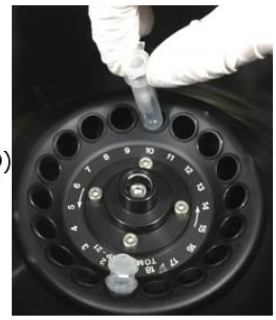
8. フロースルーを含む Collection Tube を取り外し、液体を有害廃棄物として廃棄します。



9. Binding Column を新しい Collection Tube にセットします。500 µl の Column Wash Solution（CWD）をカラムに加え、3 分間遠心します。フロースルーを廃棄します。

注：Collection Tube は使い捨てです。洗浄のたびに新しい Collection Tube をご使用ください。

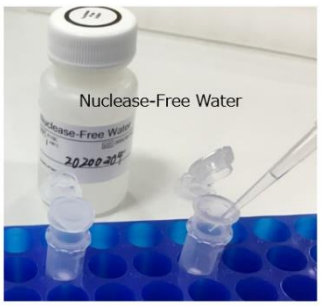




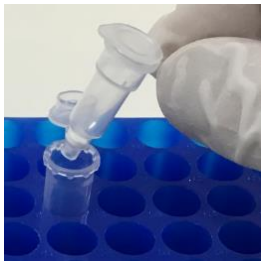
10. 手順 9 を 2 回繰り返し、合計 3 回洗浄します。

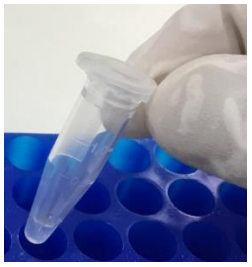
11. Binding Column をきれいな 1.5ml マイクロ遠心チューブに入れます。

12. 50−100µl の Nuclease-Free Water をカラムに加え、1 分静置したのち、1 分間遠心します。



13. Binding Column を捨て、溶出液を保存します。Binding Column や Collection Tube の再利用は避けてください。





3. 溶出した核酸の保存

ウイルス RNA は安定性が低いため、できる限り抽出直後に RT-qPCR を行ってください。すぐに使用しない場合は、溶出したウイルス RNA を−70℃に保存します。

Promega products are warranted to meet or exceed the stated specifications. Promega's sole obligation and the customer's sole remedy is limited to replacement of products free of charge in the event products fail to perform as warranted.