

ReliaPrep™ Viral Total Nucleic Acid Purification Kit, Custom

【カタログ番号 : AX4820】

1. 製品説明

本キットは、血液、血漿、細胞培養液などの無細胞体液 **最大 300µl** からウイルス核酸を精製できます。喀痰などの粘性を高いサンプルは、別途粘性を低下させる処理を行ってください。

2. プロトコル

ユーザーが用意するもの

- 全血の再懸濁用のロティサリーミキサー（サンプルタイプに応じたオプション）
- ボルテックスミキサー
- 1.5ml マイクロ遠心チューブ
- 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

***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. 凍結したサンプルは、室温で溶解し、十分に攪拌し均一な状態にしてください。
*凝集したタンパク質が存在する場合は、遠心し上清をサンプルとしてください。

2. サンプル（無細胞体液）最大 300µl を 1.5ml 遠心チューブへ移す。

3. サンプル液量 100～200µl の場合

Lysis buffer 200µl と Proteinase K 20µl を加え 10 秒間以上攪拌する。

サンプル液量 ～300µl の場合

Lysis buffer 300µl と Proteinase K 30µl を加え 10 秒間以上攪拌する。

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。

4. 56℃で 10 分間インキュベートします。

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。



核酸精製

5. (4)の間に ReliaPrep™ Binding Column を空の Collection Tube にセットします。
7. ヒートブロックからチューブを取り外します。Binding Buffer (BBA) 250µl 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。
8. 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。300µl から抽出するときは、カラムのオーバフローを避けるために、440µl を 2 回に分けて行ってください。
9. 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。
10. 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。
11. Binding Column を新しい収集チューブにセットします。500µl 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。
12. 手順 11 を 2 回繰り返し、合計 3 回洗浄します。
13. Binding Column をきれいな 1.5ml マイクロ遠心チューブに入れます。
14. 50–200µl 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。
15. 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。

4. 溶出した核酸の保存

サンプルをすぐに処理しない場合は、溶出した DNA を氷上または 4°C で最大 24 時間保存できます。長期間保管する場合は、-20°C または -70°C で凍結します。ウイルス RNA は安定性が低いため、できる限り抽出直後にダウストリームアッセイを行ってください。すぐに使用しない場合は、溶出したウイルス RNA を -70°C に保存します。特殊なサンプルの保管と取り扱いについては、ダウストリームアプリケーションの手順を参照してください

推奨事項：この製品は研究専用であり、診断目的ではありません。