RNAdvance Blood 追加プロトコル
ウィルスからの DNA/RNA 抽出

本追加プロトコルは簡易版です。使用前には、正式な製品マニュアルと Supplemental Protocol（英文）を必ずご一読ください。

Material Supplied by the User

1.2 mL 96 ウェルプレート

例：Thermo Fisher Scientific, AB1127

V&P Scientific 7 Bar Magnet, VP 771MWZM-1ALT

試薬

100%イソプロパノール

70%エタノール (ヌクレアーゼフリー水で用時調製)

ヌクレアーゼフリー水

Reagent Preparation

1. Proteinase K 50 mg/mL 溶液を調製します。

Proteinase K のボトルに Proteinase K Buffer を、ラベルに記載された容量加え、混合します。調製後の溶液は、 -20℃で保存します。

2. Wash WBE 溶液を調製します。

Wash WBE のボトルに 100%イソプロパノールを、Wash WBE : 100%イソプロパノール = 3 : 2 の割合で加え、混合します。調製後の溶液は、室温で保存します。

3. Bind BBD-イソプロパノール溶液を用時調製します。

1 サンプルあたり、Bind BBD-イソプロパノール溶液が 205 µL 必要です。Bind BBD のボトルを少なくとも 30 秒間ボルテックスし、再懸濁します。Bind BBD 5 µL に 100%イソプロパノールを 200 µL を加え、混合します。

Purification Procedure

1. サンプル消化
   a. サンプル 200 µL に対して、Lysis LBF 150 µL と Proteinase K (50 mg/mL; Reagent Preparation ステップ 1) 溶液 10 µL を加えます。
   b. ピペッティング 10 回により混合します。
   c. 室温で 20 分間反応します。
2. 結合
   a. Bind BBD-イソプロパノール溶液 (Reagent Preparation ステップ 3) 205 µL を加えます。
   b. ピペッティング 10 回により混合します。
   c. 室温で 5 分間静置します。
   d. 反応プレートを磁気プレート上で 10 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
   e. 反応プレートを磁気プレート上に置いたままで、上清を除去します。
   f. 反応プレートを磁気プレートから下ろします。
3. 洗浄
   a. Wash WBE 溶液 (Reagent Preparation ステップ 2) 400 µL を加えます。
   b. ピペッティング 10 回により混合します。
   c. 反応プレートを磁気プレート上で 5 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
   d. 反応プレートを磁気プレート上に置いたままで、上清を除去します。
   e. 反応プレートを磁気プレートから下ろします。
   f. 70%エタノール 400 µL を加えます。
   g. ピペッティング 10 回により混合します。
   h. 反応プレートを磁気プレート上で 1 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
   i. 反応プレートを磁気プレート上に置いたままで、上清を除去します。
   j. 反応プレートを磁気プレートから下ろします。
   k. 3.f~3.j のステップを繰り返し行い、合計 2 回の 70%エタノール洗浄を行います。
   l. 反応プレートを磁気プレート上で 1 分間静置し、磁性ビーズを乾燥させます。
   m. 反応プレートを磁気プレートから下ろします。
4. 溶出
   a. ヌクレアーゼフリー水 20 µL を加えます。

b. 室温で 5 分間静置します。

c. 反応プレートを磁気プレート上で 2 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。

d. 溶出 RNA を含む上清を、新しい保存用プレートに移します

Example Data

HBV 陽性血清から HBV ウイルス DNA 抽出を行いました。RNAdvance Blood 追加プロトコルと他社キット A でそれぞれ抽出を行い、PCR 増幅で行い、Agilent 4200 Tape Station (Agilent Technologies) にて増幅産物を検出しました (Figure 1)。

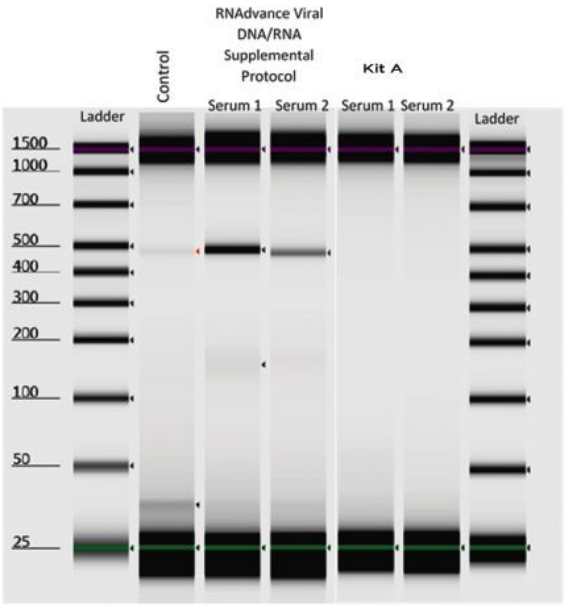

Figure 1. RNAdvance Blood 追加プロトコルと他社キット A で、HBV 陽性血清から DNA を抽出し、PCR で 500 bp フラグメントを増幅。レーン 2~4 で増幅を検出し、抽出 DNA が HBV に由来であることを確認。

210217_SP-JP_RNAdvanceBlood_ViralTNA

ベックマン・コールター株式会社
本　社：〒135-0063 東京都江東区有明3-5-7 TOC有明ウエストタワー
お客様専用 0120-566-730　☎ 03-6745-4704　FAX 03-5530-2460
e-mail bckkcas@beckman.com　URL http://www.beckmancoulter.co.jp