# Viral Nucleic Acid Extraction Kit (DNA/RNA)

**Cat. No. YVN50** 50 ミニプレップ

Carrier RNA: 1mg \*
VB Buffer: 30ml
W1 Buffer: 25ml
R-Wash Buffer (conc.): 25ml \*\*

RNase-free Water: 10ml VB Column (2ml Collection Tube にセットして提供): 50 本 Cat. No. YVN100 100 ミニプレップ

Carrier RNA: 2mg \* VB Buffer: 60ml W1 Buffer: 50ml R-Wash Buffer (cor

R-Wash Buffer (conc.): 25ml \*\* RNase-free Water: 10ml VB Column (2ml Collection Tube にセットして提供): 100 本

対象ウイルス: レトロウイルス、インフルエンザ、エンテロ・ウイルス、DNA ウ

イルス等(ウイルス由来 DNA またはウイルス由来 RNA)

対象サンプル:無細胞サンプル(血清、血漿、細胞培養上清、体液)

サンプル量: 200µl 所要時間: 20分

用途: RT-PCR/PCR (研究用または分子アッセイ用)

\* 初めにご使用になる前に、Carrier RNA(1mg)を RNase-free Water 1ml に溶かした後、VB Buffer に加えてください。Carrier RNA を加えた VB Buffer は 4°Cで保存してください。

\*\* 初めにご使用になる前に、R-Wash Buffer に 100ml(4 倍量)のエタノールを加 えてください。

1

プロトコール

※ 初めにご使用になられる前に、Carrier RNA(1mg)を RNase-free Water 1ml に溶かした後、VB Buffer に加えてください。Carrier RNA を加えた VB Buffer は 4℃ で保存してください。(Carrier RNA の添加は必須ではありません。)

追加でご用意いただくもの: 95%エタノール、1.5ml エッペンチューブ (RNase フリー)、PBS (サンプル量が 200 $\mu$ l 以下の場合)



無細胞サンプル ightarrow 溶解 ightarrow エタノール添加 ightarrow 結合 ightarrow 洗浄 ightarrow 核酸溶出

## 溶解

- (血清、血漿、体液、細胞培養上清など)サンプル 200 µl をエッペンチューブ に移し入れる。サンプル量が200 µl より少ない場合はPBS を加えて全部で200 µlになるように調製する。(エッペンチューブ及びPBS は本製品の付属品ではありません。)
- (Carrier RNA 添加済みの) VB Buffer 400 μl をチューブに加え、ボルテック スにかけて混ぜ合わせる。
- 3. 室温で10分間インキュベートする。

## 結合

3

- 4. 2ml Collection Tube 内にセットされた VB Column を準備する。
- 5. サンプル溶液に 95%エタノール 500  $\mu$ I を加え、すぐに、ボルテックスにかけて混ぜ合わせる。
- 6.5で得られたエタノール希釈後のサンプル溶液 600 µl を VB Column に加える。
- 7. 遠心分離機に 10,000xg(13,000rpm)で 1 分間かける。
- 8. 排液を捨て、残りのサンプル溶液を VB Column に加える。
- 9. 遠心分離機に 10,000xg (13,000rpm) で 1 分間かける。
- 10. 排液を捨て、VB Column を Collection Tube 内に戻す。

#### 概要

Viral Nucleic Acid Extraction Kit は、無細胞サンプルからウイルスの RNA/DNA を精製するために設計されています。

本製品では、界面活性剤とカオトロピック塩を使用して、ウイルス粒子を溶解させます。カオトロピック溶液中の核酸は、スピンカラム内のグラスファイバー充填材に結合します。Carrier RNA により、タイターの低いサンプルからのウイルスRNAの回収が促進されます。不純物を洗い流した後、RNase-free Water を加えることにより、精製された核酸を溶出します。

一連のプロセスは 20 分で完了します。精製された核酸は、RT-PCR や PCR などに使用できます。

## 品質管理

Viral Nucleic Acid Extraction Kit はロット毎に、全ての内容物について品質試験を行っています。

#### 用途(研究用・臨床応用)

本製品は研究用です。医療用(診断・治療及び血液貯蔵用)に特定の生物を識別するための製品として許可を得たものではありません。これらの用途に使用する場合は自己責任となります。

本製品は、米国臨床検査室改善法(CLIA'88) 及び米国以外の国での同等法に基づき検査システムの認定を受けた臨床検査室が分子アッセイ用に使用することは可能です。本製品の取扱いには十分に注意してご使用ください。

## 留意点(DNA/RNA の選択ついて)

本製品を使用した場合、DNA 及び RNA が同時に精製されるため、ウイルスの RNA・DNA 両方の抽出に便利です。ウイルス RNA 抽出において DNA の混入を減らすためには、必ず無細胞サンプルをご使用ください。ウイルス DNA 抽出において、Carrier RNA の添加は必須ではありません。本製品は無細胞サンプルに最適化されています。口腔スワブなどの感染性サンプルやその他の検体からウイルスの RNA/DNA を抽出される場合は Genomic DNA Extraction Kit (YGB)または Total RNA Extraction Kit (YRB)をご使用ください。

参考文献 (1) Vogelstein, B., and Gillespie, D. (1979) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 615.

注意事項 (1) 滅菌済みで RNase フリーのピペットチップと遠心管をお使いください。また、RNase のコンタミを防ぐため、ご使用中は必ず、白衣、使い捨ての手袋を着用してください。

## Viral Nucleic Acid Extraction Kit

2

## 洗净

- 11. VB Column に W1 Buffer 400 μ I を加える。
- 12. 遠心分離機に 10,000xg (13,000rpm) で 30 秒間かける。
- 13. 濾液を捨て、VB Column を Collection Tube 内に戻す。
- 14. VB Column に(エタノールで薄めた)R-Wash Buffer 600 μ l を加える。
- 15. 遠心分離機に 10,000xg (13,000rpm) で 30 秒間かける。 16. 濾液を捨て、VB Column を Collection Tube 内に戻す。
- 17. 再度、遠心分離機に 10,000xg (13,000rpm) で 3 分間かけて、カラム充填材を 乾かす。

## 核酸溶出

- 18. 乾いた VB Column を新しいエッペンチューブ (RNase フリー) に移し入れる。 (エッペンチューブは本製品の付属品ではありません。)
- 19. カラム充填材の中央に、RNase-free Water 50 μ l を加える。
- 20. RNase-free Water が充填材に吸収されるまで3分間、遠心管を立てて置く。
- 21. 遠心分離機にフルスピードで1分間かけて、精製された核酸を溶出させる。溶 出した核酸は、阻害剤やヌクレアーゼ、タンパク質などの不純物を含んでおらず、PCR、リアルタイム PCR、その他分子アッセイ用に使用できます。

製品の取扱い方法についてのお問合せは、以下の弊社窓口まで ご相談ください。

RBC Bioscience 社製品 日本総代理店

有限会社 サイトローブ

マーケティング営業部

〒113-0031 東京都文京区根津 2-4-2-1 階

Tel:03-5842-1749 Fax:03-5842-1926 E-mail:rbc@scitrove.co.jp