

Agencourt RNAdvance Viral XP

クイックマニュアル



本クイックマニュアルは簡易版です。使用前には、正式なマニュアル(英文)を必ずご一読ください。

Introduction

ベックマン・コールターのスリッドフェーズ可逆固定化 (SPRI) 磁性ビーズ技術により、バイラルトランスポート溶液で保存されたサンプルからの RNA 抽出に対応します。本プロトコルではバイラルトランスポート溶液 200 μ L をサンプルとして、96 ウェルプレートまたは 1.5 mL チューブを用いた抽出方法を解説します。

保存方法

Lysis LBF 15~30°C 保存

Bind VBE 15~30°C 保存

本マニュアルの対応製品

C59543 RNAdvance Viral XP 1,056 preps

Material Supplied by the User

96 ウェル反応プレートの場合

96 ウェル 1.2 mL ディープウェルプレート

例: Thermo Fisher Scientific, AB-1127

上のプレート用のシール

例: Thermo Fisher Scientific, 0580

A32782 Agencourt SPRIPlate 96R Ring Super Magnet Plate

1.5 mL チューブの場合

1.5 mL マイクロチューブ

例: Eppendorf, 022431021

A29182 Agencourt SPRIStand 6 Position Tube Magnet

試薬

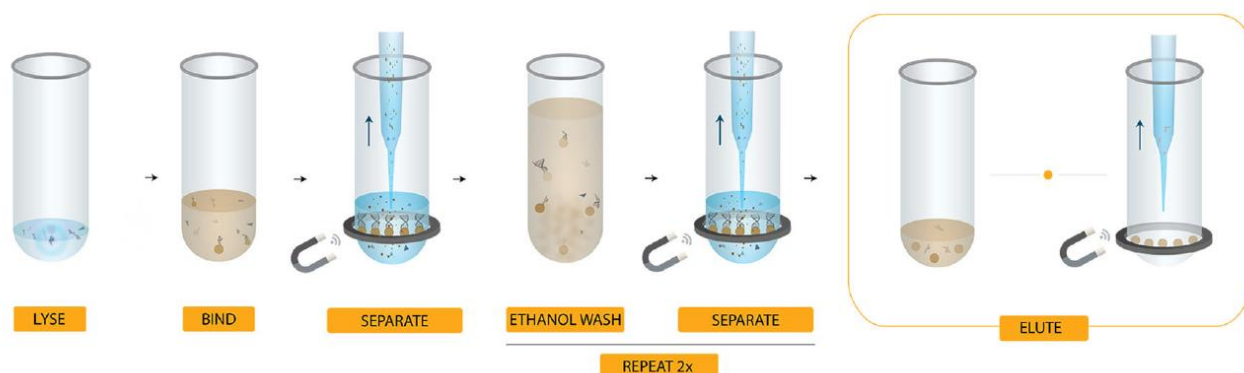
70%エタノール (ヌクレアーゼフリー水で用時調製)

ヌクレアーゼフリー水

RNase フリー条件での実験について

RNAdvance Viral XP は RNase フリーにて製造されており、試薬製品にヌクレアーゼの混入がないことを確認しています。本試薬のご使用時は、サンプルへの RNase 混入を防ぐ対策を十分に取った上で、実験を行うことをお勧めします。

Quick Reference



1. サンプル 200 μL あたり Lysis LBF 150 μL を加え、ピペッティング 10 回で混合し、室温で 20 分間静置。
2. Bind VBE 350 μL を加え、ピペッティング 10 回またはボルテックスで混合後に 5 分間静置。
3. 磁気上で 10 分間静置し、上清を除去。
4. 磁気から下ろし 70%エタノール 400 μL を加えピペッティング 10 回で再懸濁後、磁気上で 2 分静置し上清を除去。この 70%エタノール洗浄を合計 2 回実施後、1 分間風乾。
5. 磁気から下ろし、RNase フリー水 40 μL を加えピペッティング 10 回で再懸濁後、5 分間静置により RNA を溶出。磁気上で 2 分間静置し、溶出 RNA を回収。

Purification Procedure

スワブサンプルは、そのキットメーカーの指示に従って保存してください。スワブキットにトランスポート溶液が含まれている場合は、キットメーカーの指示に従って混合し、トランスポート溶液を RNA 抽出に使用してください。スワブにトランスポート溶液が含まれていない場合は、市販のトランスポート溶液またはユーザーで調製されたトランスポート溶液を使用することができます。トランスポート溶液の代わりに PBS を使用することもできます。RNA 抽出前には、サンプルを十分に混合する必要があります。下流アプリケーションのために RNA の収量と純度をチェックすることをお勧めします。また、下流解析の検証するために、コントロール RNA を用いてサンプルをスパイクすることをお勧めします。

96 ウェル 1.2 mL 反応プレートでの実験手順

1. トランスポート溶液または PBS を最高速で 10 秒間ボルテックスし、サンプルを再懸濁します。軽く遠心することにより、キャップに付いた液体を回収します。サンプルのうち 200 μ L を 1.2 mL ウェルサイズの反応プレートに入れます。
2. Lysis LBF 150 μ L を加え、ピペッティング 10 回により混合します。
3. 反応プレートをシールで封をして、室温 (15~30°C) で 20 分間反応します。
4. Bind VBE のボトルを攪拌し、磁性ビーズを再懸濁します。
5. Bind VBE 350 μ L を加え、ピペッティング 10 回により混合し、室温 (15~30°C) で 5 分間静置します。
6. 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。
7. 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。
8. 反応プレートを磁気プレートから下ろし、70%エタノール 400 μ L を加えます。ピペッティング 10

回または磁性ビーズが十分に再懸濁するまで混合します。

9. 反応プレートが磁気プレート上で 2 分間静置し、溶液中のビーズを分離します。
10. 反応プレートを磁気プレート上に置いたままで、上清を完全に除去します。このとき、磁性ビーズをピペットチップで乱さないようにします。
11. ステップ 8~10 の 70%エタノール洗浄を再度繰り返し、合計 2 回の洗浄を行ってください。
12. 室温 (15~30°C) で 1 分間磁性ビーズを風乾します。
磁性ビーズを完全に乾燥させる必要はありませんが、ウェル壁に付いた水滴は乾燥させてください。
13. 反応プレートを磁気プレートから下ろし、ヌクレアーゼフリー水 40 μ L を加え、ピペッティング 10 回により再懸濁し、室温 (15~30°C) で 5 分間静置により RNA を溶出します。
14. 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。溶出 RNA を含む上清を、新しい保存用プレートに移します。
RNA サンプルは、すぐ使用する場合には氷上で、長期保存する場合には -20~-80°C 保存してください。

1.5 mL 反応チューブでの実験手順

1. トランスポート溶液または PBS を最高速で 10 秒間ボルテックスし、サンプルを再懸濁します。軽く遠心することにより、キャップに付いた液体を回収します。サンプルのうち 200 μ L を 1.5 mL の反応チューブに入れます。
2. Lysis LBF 150 μ L を加え、ピペッティング 10 回により混合します。
3. 反応チューブをキャップで封をして、室温 (15~30°C) で 20 分間反応します。
4. Bind VBE のボトルを撈拌し、磁性ビーズを再懸濁します。
5. Bind VBE 350 μ L を加え、ボルテックスで混合し、室温 (15~30°C) で 5 分間静置します。
6. 反応チューブを磁気スタンド上で 10 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。
7. 反応チューブを磁気スタンド上に置いたままで、上清を除去します。
8. 反応チューブを磁気スタンドから下ろし、70%エタノール 400 μ L を加えます。ピペッティング 10 回または磁性ビーズが十分に再懸濁するまで混合します。
9. 反応チューブを磁気スタンド上で 2 分間静置し、溶液中のビーズを分離します。
10. 反応チューブを磁気スタンド上に置いたままで、上清を完全に除去します。このとき、磁性ビーズをピペットチップで乱さないようにします。
11. ステップ 8~10 の 70%エタノール洗浄を再度繰り返し、合計 2 回の洗浄を行ってください。
12. 室温 (15~30°C) で 1 分間磁性ビーズを風乾します。
磁性ビーズを完全に乾燥させる必要はありませんが、チューブ壁に付いた水滴は乾燥させてください。

13. 反応チューブを磁気スタンドから下ろし、ヌクレアーゼフリー水 40 μ L を加え、ピペッティング 10 回により再懸濁し、室温 (15~30°C) で 5 分間静置により RNA を溶出します。

14. 反応チューブを磁気スタンド上で 2 分間静置し、溶液中の磁性ビーズを分離します。溶出 RNA を含む上清を、新しい保存用チューブに移します。

RNA サンプルは、すぐ使用する場合には氷上で、長期保存する場合には-20~-80°C保存してください。



200512_QMJ_RNAdvanceViralXP

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 ☎ 03-5530-2460
✉ bckkcas@beckman.com URL <http://www.beckmancoulter.co.jp>