

# ウイルス核酸濃縮精製キット(5tests)

遊離核酸やウイルスを含む、不純物が比較的少ない検体1mlからたんぱく分解処理と変性剤処理後、Silica Column 1000に核酸を吸着させる。遠心機や吸引機を使用せず、Feed Syringeでカラムを洗浄後、40～50ulで溶出することで20～25倍に核酸を濃縮精製します。1キットで5検体の核酸精製ができ、全工程の所要時間は約10分です。遠心機や吸引機を使用しないため、野外での使用にも適しています。50回分の検体処理ができる“ウイルス核酸濃縮精製キット(50テスト)”のためのお試しキットとしてごもご使用ください。

	キットに含まれるもの	1回使用量	備考
Virus-BindSol		Virus-BindSol (10ml)x1本	2ml 核酸の結合液
WashSol		WashSol (20ml)x1本	4ml カラム洗浄液
5mlEppen Tube		Silica Column 1000 x 5本	1本 核酸吸着用カラム
5ml Syringe & Column 1000		10ml Feed Syringe x 5本	1本 Silica Column 1000に装着
		ElutSol (500ul) x1本	40～50ul カラムから核酸を溶出させる、4℃で保存
		Pro K (100ul) 1本	20ul 蛋白分解酵素、4～8℃保存
DNA Stock Tube		5ml Eppen Tube x 5本	1本 検体処理容器
		DNA Stock Tubes x 5本	1個 精製した核酸保存容器 Ringless NA Stock
Pro K-Sol			

## 抽出に必要なその他の器具

- 1) 検体不活化用煮沸鍋
- 2) ProK処理用の保温機(50-60℃)



野外用軽量チタン製煮沸カップとバーナー  
(キャンプ用品)



AC(100-240V)-DC12V  
変圧器



50-60℃保温用  
5ml Tubeアルミブロックヒーター

50-60℃でたんぱく処理するための保温機器  
(車の12Vの電源を使用して55℃前後で保温)

# ウイルス核酸濃縮精製キット (50tests)

遊離核酸やウイルスを含む、不純物が比較的少ない検体1mlからたんぱく分解処理と変性剤処理後、Silica Column 1000に核酸を吸着させる。遠心機や吸引機を使用せず、Feed Syringeでカラムを洗浄後、40～50ulで溶出することで20～25倍に核酸を濃縮精製します。全工程の所要時間は約10分です。5回分の検体処理ができる“ウイルス核酸濃縮精製キット(5テスト)”をお試しキットとしてご使用ください。

		キットに含まれる製品	1回使用量	備考
Virus-BindSol		Virus-BindSol (100ml) 1bottle	2ml	検体と混合し核酸をカラムに結合させる試薬液。
WashSol		WashSol (200ml) 1bottle	4ml	カラムを洗浄する液
ProkSol		ProkSol(1ml) 1bottle	20ul	検体の蛋白分解 長期保存には4-8℃
ElutSol		ElutSol (2.5ml) 1bottle	40～50ul	4℃で保存。核酸をカラムから溶出させる。
Silica Column		SilicaColumn1000 (50本)	1本	核酸吸着用カラム

		購入が必要な個別販売品	1回使用量	備考
Feed Syringe		10ml Feed Syringe (100本/箱)	1本	カラムに装着して使用
5ml Tube		5ml Eppen Tube (250本/箱)	1本	検体の加熱処理に使用

## 抽出に必要なその他の器具

- 1) 検体不活化用煮沸鍋
- 2) ProK処理用の保温機(50-60℃)



野外用軽量チタン製煮沸カップとバーナー (キャンプ用品)



AC(100-240V)-DC12V 変圧器 50-60℃保温用 5ml Tubeアルミブロックヒーター  
50-60℃でたんぱく処理するための保温機器 (車の12Vの電源を使用して55℃前後で保温)

# ウイルス核酸濃縮精製操作手順

1. 5ml容積のEppen Tubeに検体1ml、ProKSol20ulを入れ、50-60°Cで3分間加温し、たんぱくを分解する。
2. Virus-BindSolをTubeの3mlの目盛まで滴下（もしくはピペットで2ml添加）し、混合する。
3. 10mlのFeed Syringeの先端にSilica Column 1000を装着し、Step2を終えた混合液を全量ColumnのSilica膜面の上まで吸い上げたのち、全量をゆっくりと押し出してカラムのSilica面に核酸を吸着させる。吐出液は廃棄する。  
\*カラムの先端から水滴が独立して落ちる程度の力で押し出す。水滴が連結して出るような強い力で押し出すと核酸のカラムへの結合率が悪くなる。
4. WashSolをEppenTubeの4ml目盛まで滴下する（もしくはピペットで4ml入れる）。WashSol 4mlを全量吸い上げ、強く吐出してカラムを洗浄する。押し出した洗浄液は廃棄する。
5. シリンジ内に10mlの空気を取り込み、強く押し出す。この工程を5~10回繰り返し、カラムに付着した洗浄液を押し出してカラムを乾燥させる。
6. ElutSol 40~50ulを空のDNA回収用のTubeに入れる。シリンジに装着されたカラムの先端をTissueでふき取り、シリンジでElutSolをカラムのSilica面の上まで、バブルをつくらないようにゆっくりと吸い上げる。Silicaから核酸が遊離するまで約2分待ったあと、DNA回収Tubeに核酸が溶出した液を押し出す。  
\*回収率が悪い場合は吸引・吐出を数回繰り返すと、核酸の回収率が上がることもある。



蛋白  
分解/  
変性



吸着



洗浄



溶出



## 実施例

**実施例 1. カラム吸着率:** 大腸菌から抽出した染色体DNA 500ngを1mlのTE bufferに懸濁し、検体として上記の手順でProteinase K 処理したのち、Virus-BindSol 2mlと混合して、カラムに吸着させた。カラムを一回通過させた液のDNA濃度を測定したところ99%以上のDNAが吸着していた。

**実施例2. 蛋白の混入とカラム吸着:** 1mlのTE bufferに500ngの大腸菌DNAと500ugのAlbuminを加え検体とした。この検体を上記手順でProteinase K処理してカラムを通過させた場合と、Proteinase K 処理を省いてカラムを通過させた。除蛋白工程して吸着させた場合に比べて、除蛋白しなかった方法ではカラムへの核酸の吸着量は4~5割に低下していた。