

FavorPrep™ Viral DNA/RNA Extraction Mini Kit

Cat. No. : FAVN1020 (4 回分) / FAVN1023 (50 回分) / FAVN1024 (100 回分) / FAVN1026 (300 回分)

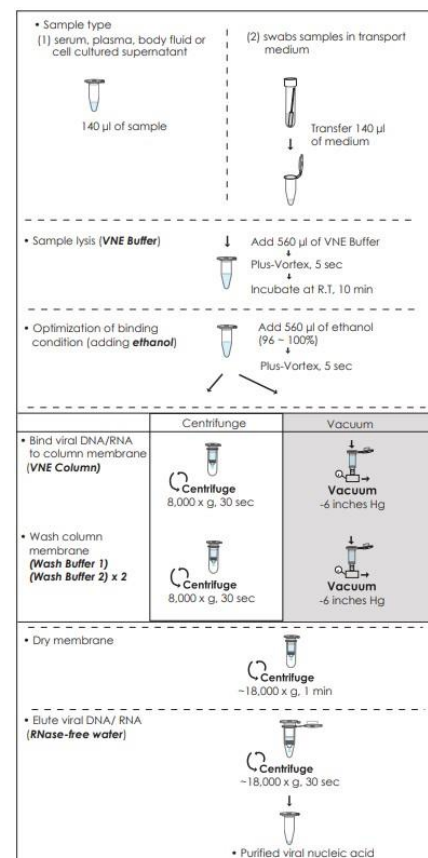
本製品は研究用です v 202505

● キットの内容

	FAVN1020 (FAVNC 000-1) (4 preps)	FAVN1023 (FAVNC 001) (50 preps)	FAVN1024 (FAVNC 001-1) (100 preps)	FAVN1026 (FAVNC 001-2) (300 preps)
VNE Buffer	1.8 ml × 2	35 ml	70 ml	200 ml
Carrier RNA	0.04 mg	0.4 mg	0.8 mg	2.2 mg
Wash Buffer 1 (Concentrate)*	0.48 ml × 2	12 ml	24 ml	72 ml
Wash Buffer 2 (Concentrate)*	1.5 ml	20 ml	20 ml × 2	50 ml × 2
RNase-Free Water	0.5 ml	6 ml	12 ml	20 ml
VNE Columns	4 pcs	50 pcs	100 pcs	300 pcs
Collection Tubes	8 pcs	100 pcs	200 pcs	600 pcs
Elution Tubes	4 pcs	50 pcs	100 pcs	300 pcs
*添加する 96~100%エタノール量				
Wash Buffer 1	0.72 ml × 2	18 ml	36 ml	108 ml
Wash Buffer 2	6 ml	80 ml	80 ml × 2	200 ml × 2

● 基本情報

構成	シリカメンブレン法 (ミニスピナラム)
サンプル	血清、血漿、体液、細胞培養上清: 140 µl
操作時間	<20 分
回収率	80-90 %
フラグメントサイズ	>200 bp
結合量	60 µg RNA/column
溶出量	40-60 µl
操作方法	遠心法 もしくは 吸引法



● 重要事項

1. 本キットの構成品は、Carrier RNA を除き、室温 (15~25℃) で保管してください。
2. Carrier RNA は受け取り次第、-20℃で保管してください。
3. 操作に関連するものは、RNase-free であることを確認してください。
4. 作業中はゴム手袋、白衣を着用してください。
5. 凍結血漿・血清の解凍は 1 回までとし、複数回行わないでください。
6. 血漿・血清サンプルに沈殿がある場合、6,000 × g で 3 分間遠心分離します。上清を新しいバイアルに移し、直ちに処理してください。
7. VNE Buffer は開封時に以下の手順で調製してください。
1 ml の VNE Buffer を Carrier RNA が入ったチューブに加え、ボルテックスで十分に混和します。混合液を容器に戻し、残りの VNE Buffer と混和します。調製後は 4℃で保管してください。
8. Wash Buffer 1 と Wash Buffer 2 は開封時にエタノール (96~100%) を加えてください。
9. Buffer を安全に取り扱うために、操作前に安全情報 (英語版マニュアル) をご確認ください。
10. 遠心分離の回転速度は各ステップの指示に従ってください。
11. 吸引法で行う場合、プレートの先端が適合し、-6inHg に到達可能な機器を使用してください。
12. 同一圧力 (1 atm) での単位と値については、下表をご確認ください。

単位	値
atmosphere (atm)	1.000
millimeter of mercury (mmHg)	760.000
inches of mercury (inHg)	29.290
pascal (Pa)	101,325.000
kilopascal (KPa)	101.325
torr (torr)	760.000
pound per square inch (psi, lbs/in ²)	14.700

● 用意するもの

- 1) 18,000 × g まで到達可能な遠心分離機、1.5 ml または 2.0 ml 用ローター
- 2) 滅菌済みピペット、ピペットチップ、遠心チューブ (1.5 ml または 2.0 ml)
- 3) 100%エタノール
- 4) ボルテックスミキサー
- 5) 遠心チューブ (1.5 ml または 2.0 ml) 用の加温装置 (60℃と 70℃)

吸引法を用いる場合

- 6) プレートの先端が適合し、-6inHg に到達可能なバキュームマニホールド

● **操作** ※操作前に「重要事項」をよくお読みください。

＜遠心法＞

サンプルタイプ

A. 血清、血漿、体液、細胞培養上清などの無細胞体液

1-A1. サンプルの入ったチューブを軽くスピンドウンし、内壁に付着した液滴を降下させます。

メモ) 沈殿物が見られる場合は、 $7,000 \times g$ で 3 分間遠心分離してください。

1-A2. $140 \mu\text{l}$ の上清を遠心チューブ(非付属品)に移します。

B. 輸送用スワブの培地

1-B1. サンプルの入ったチューブをボルテックスして軽くスピンドウンし、内壁に付着した液滴を降下させます。

1-B2. $140 \mu\text{l}$ の培地を遠心チューブ(非付属品)に移します。

サンプルの溶解

2. $560 \mu\text{l}$ の VNE Buffer(Carrier RNA 添加)を加えます。ボルテックスで十分に混和し、室温で 10 分間インキュベートします。

結合条件の最適化

3. $560 \mu\text{l}$ のエタノール(96~100%)を加え、パルスボルテックスで十分に混和します。

ウイルス DNA/RNA の結合

4. VNE Column を Collection Tube(付属品)に取り付け、最大 $700 \mu\text{l}$ の混合液を移します。 $8,000 \times g$ で 1 分間遠心分離し、ろ液を捨てます。VNE Column を Collection Tube に戻します。

5. 残りの混合液を VNE Column に移します。 $8,000 \times g$ で 1 分間遠心分離し、ろ液と Collection Tube を捨てます。VNE Column を新しい Collection Tube(付属品)に取り付けます。

カラムメンブレンの洗浄

6. $500 \mu\text{l}$ の Wash Buffer 1 を加えます。 $8,000 \times g$ で 1 分間遠心し、ろ液を捨てます。VNE Column を Collection Tube に戻します。

・ Wash Buffer 1 にエタノール(96~100%)が加えられていることを確認してください。

7. $650 \mu\text{l}$ の Wash Buffer 2 を加えます。 $8,000 \times g$ で 1 分間遠心し、ろ液を捨てます。VNE Column を Collection Tube に戻します。

・ Wash Buffer 2 にエタノール(96~100%)が加えられていることを確認してください。

8. ステップ 7 を繰り返します。

メンブレンの乾燥

9. 最大速度($\sim 18,000 \times g$)で 1 分間遠心分離し、VNE Column を乾燥させます。ろ液と Collection Tube を捨てます。

重要! この操作により、残留液がその後の酵素処理を阻害することを防ぎます。

ウイルス RNA の溶出

10. VNE Column を Elution Tube (付属品) に取り付けます。30~60 μ l の RNase-Free Water をメンブレンの中央に加え、1 分間静置します。
重要！ 効率よく溶出させるため、RNase-Free Water をメンブレンの中央に滴下し、完全に吸着したことを確認してください。
11. 最大速度 (~18,000 $\times$ g) で 1 分間遠心分離し、ウイルス DNA/RNA を溶出します。ウイルス DNA/RNA は -70°C で保存します。

<吸引法>

サンプルタイプ

- A) 血清、血漿、体液、細胞培養上清などの無細胞体液
 - 1-A1. サンプルの入ったチューブを軽くスピンドウンして、内壁に付着した液滴を降下させます。
メモ) 沈殿物が見られる場合は、7,000 $\times$ g で 3 分間遠心分離します。
 - 1-A2. 140 μ l の上清を遠心チューブ (非付属品) に移します。
- B) 輸送用スワブの培地
 - 1-B1. サンプルの入ったチューブをボルテックスして軽くスピンドウンし、内壁に付着した液滴を降下させます。
 - 1-B2. 140 μ l の培地をチューブ (非付属品) に移します。

サンプルの溶解

2. 560 μ l の VNE Buffer (Carrier RNA 添加) を加えます。ボルテックスで十分に混和し、室温で 10 分間インキュベートします。

結合条件の最適化

3. 560 μ l のエタノール (96~100%) を加え、パルスボルテックスで十分に混和します。

ウイルス DNA/RNA の結合

4. VNE Column の先端をバキュームマニホールドのアダプターに取り付けます。Collection Tube は捨てずにステップ 9 で使用します。最大 700 μ l の混合液を移し、カラムが空になるまで -6 inHg で吸引します。マニホールドの真空を開放します。
5. 残りの混合液を移し、カラムが空になるまで -6 inHg で吸引します。マニホールドの真空を開放します。

カラムメンブレンの洗浄

6. 500 μ l の Wash Buffer 1 (エタノール添加) を加えます。カラムが空になるまで -6 inHg で吸引します。マニホールドの真空を開放します。
 - ・ Wash Buffer 1 にエタノール (96~100%) が加えられていることを確認してください。
7. 650 μ l の Wash Buffer 2 (エタノール添加) を加えます。カラムが空になるまで -6 inHg で吸引します。マニ

ホールドの真空を開放します。

- ・ Wash Buffer 2 にエタノール (96~100%) が加えられていることを確認してください。

8. ステップ 7 を繰り返します。

メンブレンの乾燥

9. VNE Column を取り外し、Collection Tube に取り付けます。最大速度 (~18,000 × g) で 1 分間遠心分離し、VNE Column を乾燥させます。ろ液と Collection Tube を捨てます。

重要！ この操作により、残留液がその後の酵素処理を阻害することを防ぎます。

ウイルス RNA の溶出

12. VNE Column を Elution Tube (付属品) に取り付けます。30~60 μl の RNase-Free Water をメンブレンの中央に加え、1 分間静置します。

重要！ 効率よく溶出させるため、RNase-Free Water をメンブレンの中央に滴下し、完全に吸着したことを確認してください。

13. 最大速度 (~18,000 × g) で 1 分間遠心分離し、ウイルス DNA/RNA を溶出します。ウイルス DNA/RNA は -70°C で保存します。

●トラブルシューティング

低収量	
Carrier RNA を VNE Buffer に添加していない、または添加後の VNE Buffer が適切に保管されてない	1 ml の VNE Buffer を Carrier RNA が入ったチューブに加え、ボルテックスで十分に混和します。混合液を容器に戻し、残りの VNE Buffer と混和します。調製後は 4°C で保管してください。
サンプルの保存状態が悪い、または繰り返し解凍している	長期保存の場合は、-80°C で保存してください。凍結したサンプルの解凍は 1 回までとします。
RNA の分解	採取したサンプルはすぐに安定化してください。
VNE Buffer との混合が不十分	混合液をボルテックスで混和してください。
タンパク質の溶解が不十分	VNE Buffer の添加後、室温で 10 分間インキュベートしてください。
RNA の結合条件が最適化されていない	ライセート (ステップ 3) にエタノールが加えられていない、またはエタノールの濃度が正しくない。
RNA の溶出が正しく行われていない	RNase-Free Water を VNE Column のメンブレンの中央に滴下し、完全に吸収したことを確認してください。
Wash Buffer 1 と Wash Buffer 2 の調製に誤りがある	Wash Buffer 1 と Wash Buffer 2 に正しい量のエタノール (96~100%) が加えられていることを確認してください。
溶出した RNA がうまく機能しない	
残留エタノールによるコンタミネーション	洗浄ステップ後、VNE Column を ~18,000 × g で 3 分間遠心分離してください。(ステップ 9)