

# ARK-Capture™ C/G-Mag Purification Kit

## 操作マニュアル

Ver. 3

アーク・リソース株式会社

操作マニュアルと併せて、動画マニュアルもご参照ください。  
(YouTube、QRコードからアクセス可能です)



[キット構成] ※試薬使用時にクリーンベンチ等での無菌操作は必要ありません

- ・ C-Magbeads (抗クリプトスポリジウム抗体標識磁性ビーズ) 1mL × 1本
- ・ G-Magbeads (抗ジアルジア抗体標識磁性ビーズ) 1mL × 1本
- ・ Solution A 60mL (30mL × 2本)
- ・ Solution B 10mL × 1本
- ・ Solution C 5mL × 1本
- ・ Solution D 2mL × 1本

[装置・器具・その他準備物]

- ・ 遠心機
- ・ ローテーター (回転ミキサー)
- ・ ボルテックスミキサー
- ・ 磁石スタンド
- ・ 反応チューブ (レイトンチューブ、遠沈管など)
- ・ マイクロチューブ
- ・ マイクロピペット
- ・ パスツールピペット
- ・ マイクロピペット用チップ
- ・ 精製水

[操作フロー]

1. サンプルを  $1,100 \times g$  で 10 分間、遠心します。  
※沈査は 0.5mL 以下となるように分割してください。
2. 遠心中に予め反応チューブに Solution A 及び Solution B を各 1mL 添加し、チューブ内を濡らします。  
※Solution B は白濁していますが性能に影響はありません。転倒混和してから使用してください。
3. 遠心したサンプルの上清をパスツールピペットなどで 2mL 程度残して除去し

- た後、精製水を 1mL 添加して沈査を懸濁し反応チューブへ全量を移します。
4. さらに遠沈管を精製水 2mL で洗浄し反応チューブへ全量を移します。  
この操作を合計 2 回繰り返します。
  5. 反応チューブに精製水を添加して全量を約 10mL とします。  
※レイトンチューブの場合は、くびれ部分までメスアップします。  
※目盛りがないチューブを使用する場合は予め印をつける事をお勧めします。  
※全量は最大 11mL 程度までとしてください。  
※液量が多くなるとオーシスト、シストの回収率が低下します
  6. ボルテックスミキサーで均一に攪拌した C-Magbeads、G-Magbeads を反応チューブに各 100 $\mu$ L 添加し、穏やかに転倒混和します。
  7. 反応チューブを回転ミキサーに取り付け、室温で 60 分間、18-20 回転/分、で反応させます。  
【洗浄液の調製】  
※反応中に洗浄液（精製水で 10 倍希釈した Solution A）を 30mL 調製します。1 テストで約 20mL 使用します。  
※回転ミキサーは、Dynabeads MX Mixer やその他既製品が使用可能です。
  8. 60 分経過（工程 7 による反応）後、反応チューブを回転ミキサーから取り外し、レイトンチューブの場合は平らな面を磁石に向けて装着します。磁石面を下にして、反応チューブを横方向に 2 分間穏やかに振とうします。
  9. 反応チューブを磁石に装着した状態で、デカンテーションで穏やかに上清を捨てます。  
※反応チューブを磁石に装着した状態で静置した場合は磁性を帯びた濁質が磁石に集積するため、上清を除去する直前に必ず穏やかに振とうしてください。  
※パストツールピペットやスポイトなどの使用も可能ですが、濁質の混入が増える可能性があります。  
※アスピレーターは使用しないでください。オーシスト、シスト回収率低下の要因となります。
  10. 反応チューブに洗浄液 4mL を添加し反応チューブを磁石に装着した状態で傾けて穏やかに振とう（洗浄）し、デカンテーションで上清を捨てます。  
この操作を合計 2 回繰り返します。  
※添加時は磁性ビーズに触れないように注意してください。  
※パストツールピペットやスポイトなどの使用も可能ですが、濁質の混入が増える可能性があります。
  11. 反応チューブに洗浄液 4mL を添加、今回は反応チューブを磁石から取り外し、反応チューブを傾けて穏やかに振とうしてビーズを懸濁する。  
※洗浄液添加時、磁性ビーズに触れないように注意してください。  
※パストツールピペットやスポイトなどの使用も可能ですが、濁質の混入が増える可能性があります。

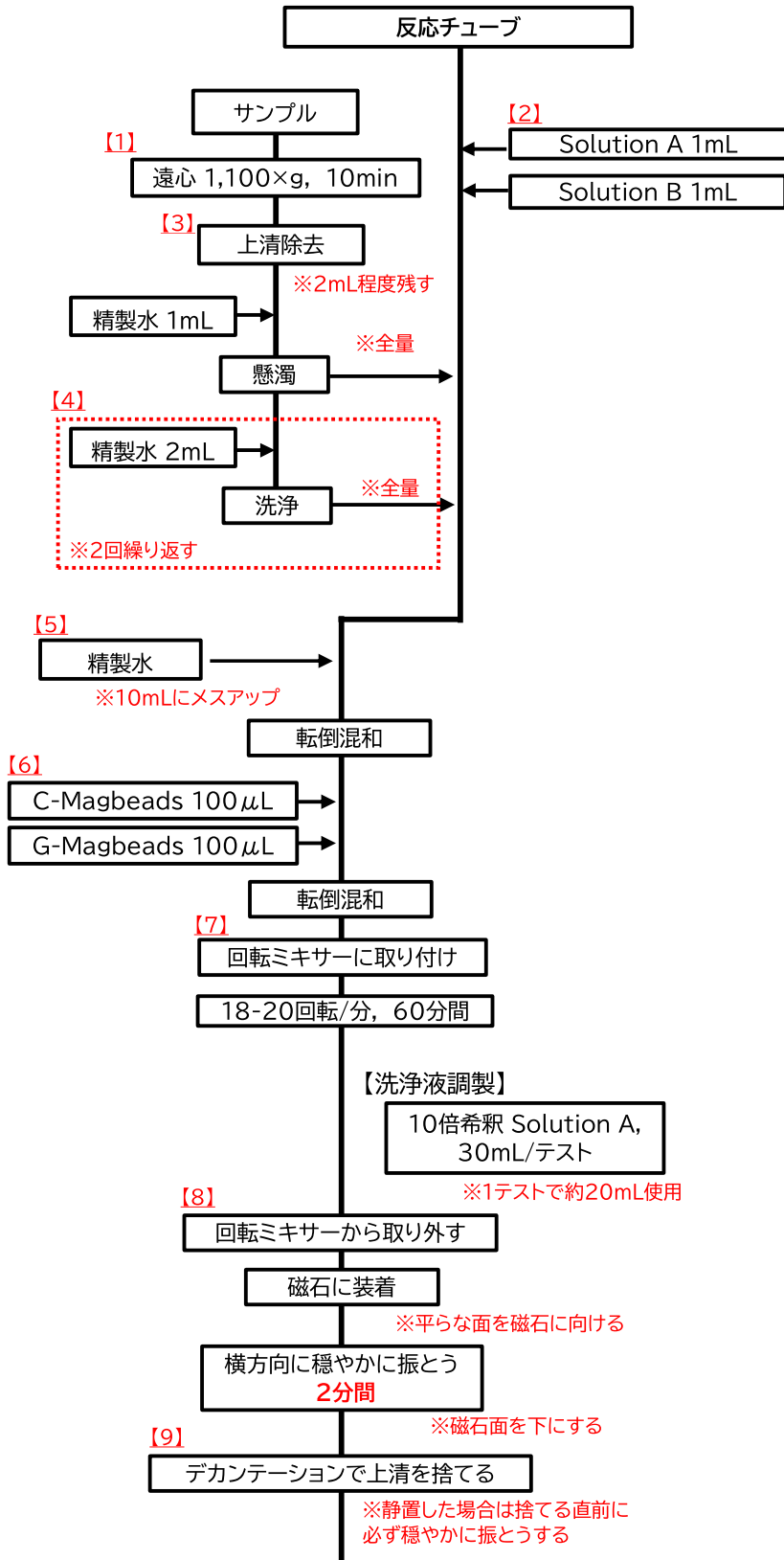
12. レイトンチューブの場合は、反応チューブの平らな面を磁石に向けて装着、磁石面を下にして、反応チューブを 30 秒間程度穏やかに振とうします。ビーズを回収したのちデカンテーションで上清を捨てます。
- ※ビーズが回収できていない場合はさらに時間を延長してください。
- ※パストゥールピペットやスポイトなどの使用も可能ですが、濁質の混入が増える可能性があります。
- ※反応チューブ磁石に装着した状態で静置した場合は磁性を帯びた濁質が磁石に集積するため、上清を除去する直前に必ず穏やかに振とうしてください。
13. 工程 11-12 を合計 2 回繰り返します。
- ※洗浄 2 回でも濁質などが多く残っている場合は再度洗浄してください。
14. 反応チューブを磁石から取り外して、洗浄液 1mL を添加、ビーズを穏やかに懸濁し、全量をマイクロチューブ④へ移します。
- ※パストゥールピペットやスポイトなどを用いて穏やかに懸濁します。
- ※ボルテックスミキサーは使用しないでください。
- ※激しい懸濁はビーズが解離し回収率低下の要因となります。
15. マイクロチューブ④を磁石にセットして 1 分間以上静置します。
16. マイクロチューブ④を磁石にセットした状態で上清を回収します。回収した上清で反応チューブ内をすすぎ、全量をマイクロチューブ④に戻して 1 分間程度静置します。
- この操作を合計 2 回繰り返します。
- ※ボルテックスミキサーは使用せず穏やかに懸濁します。
- ※チューブ壁面にビーズが残った場合はパストゥールピペットを用いて穏やかに洗い流してください。
- ※激しい懸濁はオーシスト、シストの回収率低下の要因となります。
17. マイクロピペットを用いてマイクロチューブ④の上清をすべて除去します。
- ※パストゥールピペットやスポイトなどの使用も可能です。
- ※アスピレーターは使用しないでください。回収率低下の要因となります。
18. マイクロチューブ④を磁石にセットした状態で洗浄液 1mL を添加した後、マイクロチューブ④磁石から取り外し穏やかに転倒混和してビーズを懸濁します。
19. マイクロチューブ④を磁石にセットし、穏やかに 30 秒間程度穏やかに転倒混和し、ビーズを回収します。
- ※ビーズが回収できていない場合はさらに時間を延長してください。
20. 工程 17-19 を合計 3 回繰り返します。
21. マイクロチューブ④を磁石にセットした状態で、マイクロピペットを用いて上清をすべて除去します。
- ※パストゥールピペットやスポイトなどの使用も可能です。
22. マイクロチューブ④に Solution C を 200 $\mu$ L 添加します。ボルテックスな

どを用いて 20 秒間以上激しく攪拌し磁性ビーズとオーシスト、シストを分離させます。

23. マイクロチューブ<sup>®</sup>Aを磁石にセットして1分間以上静置します。
24. マイクロチューブ<sup>®</sup>Aを磁石にセットした状態でマイクロピペットなどを用いて上清を全量、1.5mL マイクロチューブ<sup>®</sup>Bに回収します。
25. 工程 22-24 を合計 2 回繰り返します。
26. マイクロチューブ<sup>®</sup>Bに Solution D を 80 $\mu$ L 添加します。ボルテックスなどを用い攪拌して中和します。
27. マイクロチューブ<sup>®</sup>Bに Solution A を 50 $\mu$ L 添加します。ボルテックスなどを用い攪拌します（最終液量：530 $\mu$ L）。
28. マイクロチューブ<sup>®</sup>B中のオーシスト、シストをカウントします。  
※シストのカウント方法は各施設の手法で実施してください。  
※ウエルスライド法でカウントされる場合はバッファー置換を実施してください。

以上

# ARK Capture™ C/G-Mag Purification Kit 操作フロー



## 【注意点・留意点】

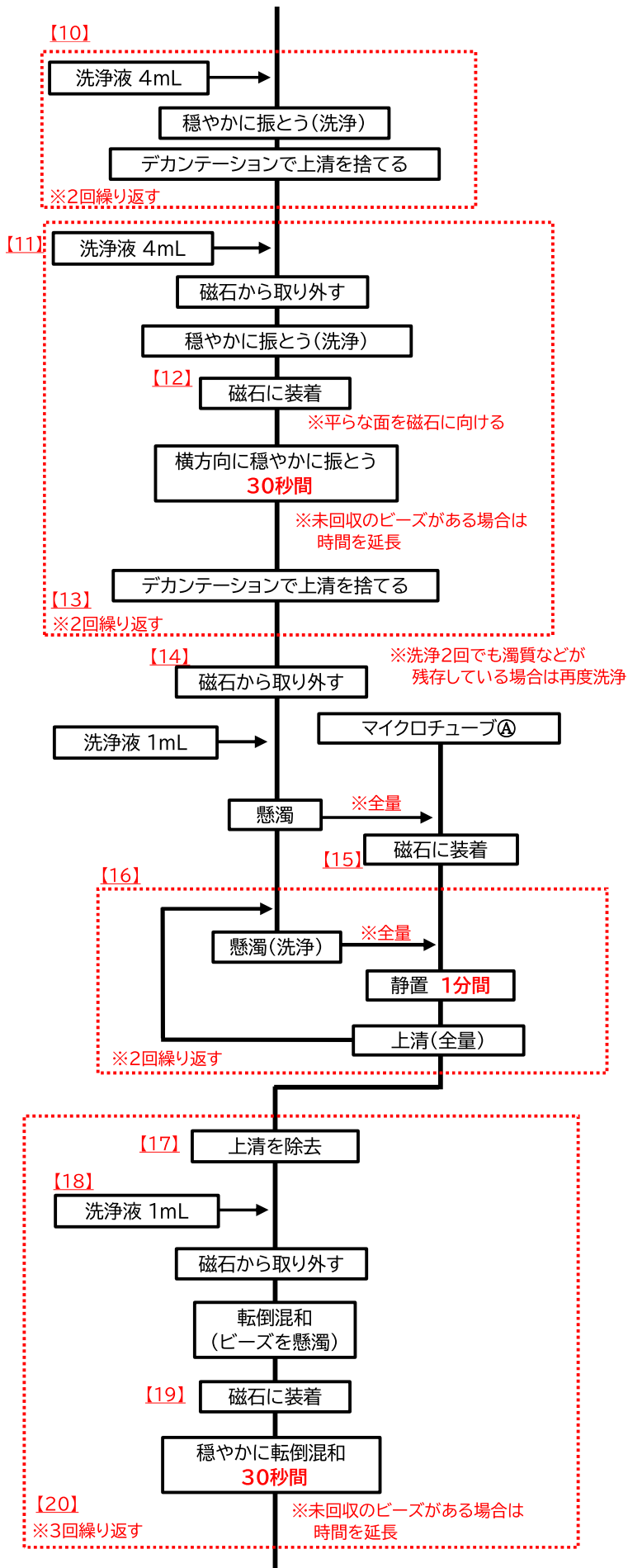
【1】沈査は0.5mL以下となるように分割してください。

【2】Solution Bは白濁していますが性能に影響はありません。転倒混和してから使用してください。

【5】レイTONチューブの場合は、くびれ部分までメスアップします。目盛りがないチューブを使用する場合は予め印をつける事をお勧めします。全量は最大11mL程度までとしてください。液量が多くなるとオーシスト、シストの回収率が低下します。

【7】反応中に洗浄液(精製水で10倍希釈したSolution A)を30mL調製します。1テストで約20mL使用します。回転ミキサーは、Dynabeads MX Mixerやその他既製品が使用可能です。

【9】反応チューブ磁石に装着した状態で静置した場合は磁性を帯びた濁質が磁石に集積するため、上清を除去する直前に必ず穏やかに振とうしてください。パストツールピペットやスポイトなどの使用も可能ですが、濁質の混入が増える可能性があります。アスピレーターは使用しないでください。オーシスト、シスト回収率低下の要因となります。



【10、11】  
添加時は磁性ビーズに触れないように注意してください。  
パストゥールピペットやスポイトなどの使用も可能ですが、濁質の混入が増える可能性があります。

【12】ビーズが回収できていない場合はさらに時間を延長してください。  
パストゥールピペットやスポイトなどの使用も可能ですが、濁質の混入が増える可能性があります。  
反応チューブ磁石に装着した状態で静置した場合は磁性を帯びた濁質が磁石に集積するため、上清を除去する直前に必ず穏やかに振とうしてください。

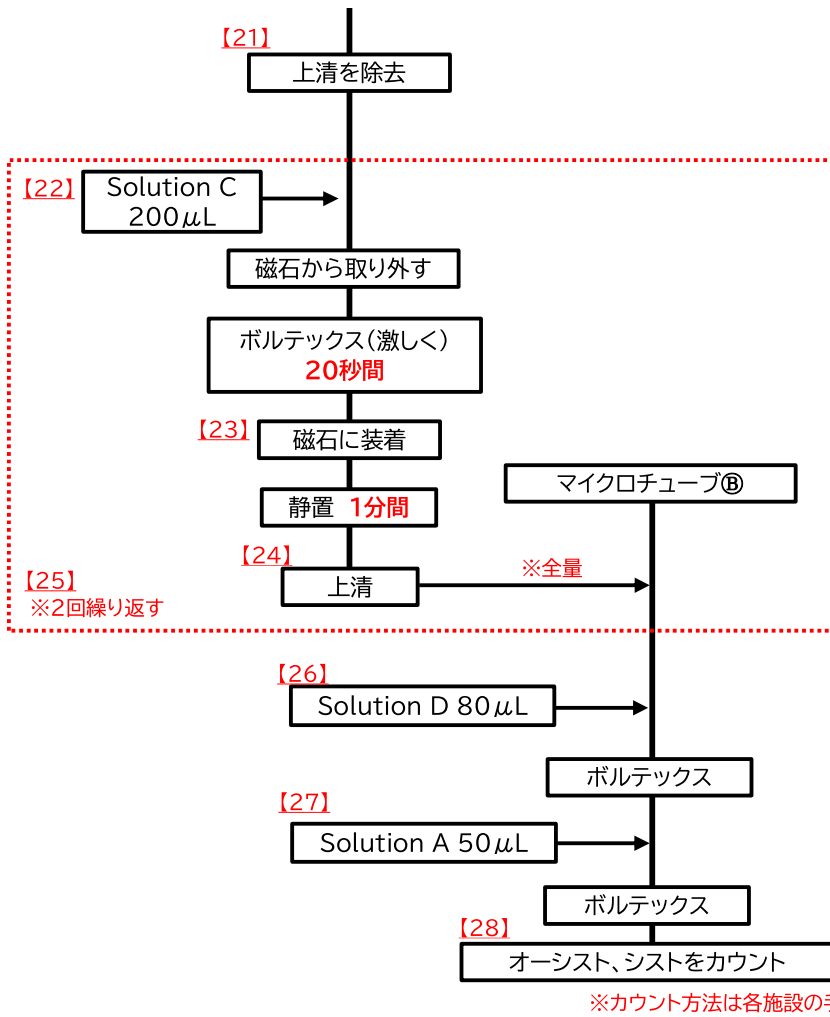
【13】洗淨2回でも濁質などが多く残っている場合は再度洗淨してください。

【14】パストゥールピペットやスポイトなどを用いて穏やかに懸濁します。  
ボルテックスミキサーは使用しないでください。  
激しい懸濁はビーズが解離し回収率低下の要因となります。

【16】ボルテックスミキサーは使用せず穏やかに懸濁します。  
チューブ壁面にビーズが残った場合はパストゥールピペットを用いて穏やかに洗い流してください。  
激しい懸濁はオーシスト、シストの回収率低下の要因となります。

【17】パストゥールピペットやスポイトなどの使用も可能です。  
アスピレーターは使用しないでください。  
回収率低下の要因となります。

【19】ビーズが回収できていない場合はさらに時間を延長してください。



【21】パスツールピペットやスポイトなどの使用も可能です。

【28】カウントは各施設の手法で実施してください。  
ウエルスライド法でカウントする場合はバッファー置換を実施してください。