ARK-Capture™ C/G-Mag Purification Kit
操作マニュアル(遺伝子検査向け)

Ver. 3

アーク・リソース株式会社

操作マニュアルと併せて、
動画マニュアルを必ずご確認ください。➡ ➡ ➡ ➡ ➡ ➡

【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 4mL × 1本
・Solution D 1mL × 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）
※Dynabeads MX Mixer やその他既製品が使用可能です。
・ボルテックスミキサー
※ボルテックス・ジェニー2 3インチプラットホームを推奨。
・磁石スタンド(反応チューブ用、マイクロチューブ用)
・遠沈管
・反応チューブ（レイトンチューブ、丸底遠沈管など）
・マイクロチューブ × 2本(Ⓐ, Ⓑ)
・マイクロピペット(200μL, 1000μL)
・マイクロピペット用チップ
・パスツールピペット
・精製水
・廃液入れ

【操作工程】　　【動画時間】

0．動画マニュアルを見る。

1．遠沈管に分注したサンプルを 1,100×ｇで 10 分間、遠心します。　0:23

※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。　0:30

※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。　2:08

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。　5:01

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、転倒混和します。　6:20

※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分散した** C-Magbeads、G-Magbeads を反応チューブに各 100μL 添加し、穏やかに転倒混和します。　6:40

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。　8:17

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、磁石スタンドに装着します。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。　10:00

磁石面を下にして、反応チューブを横方向に 2 分間穏やかに振盪します（図 1）。

※1 往復/約 1 秒の速さで振盪してください。

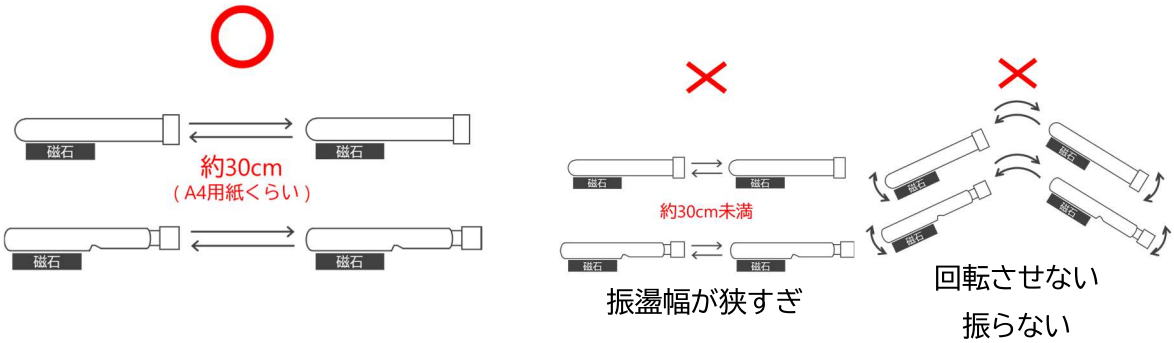


図 1．工程 8 の反応チューブ振盪

9．反応チューブを磁石スタンドに装着した状態で、デカンテーションで穏やかに上清を捨てます。　10:29

※反応チューブを磁石スタンド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盪ください**。

※パス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振とう（洗浄）し、デカンテーションで上清を捨てます。　10:45

この操作を合計 2 回繰り返します。

※添加時はビーズに触れないように注意してください。

※パス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スタンドから取り外し**、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します。　11:45

※洗浄液添加時、ビーズに触れないように注意してください。

※パス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スタンドに向けて装着、磁石面を下にして、反応チューブを傾けて 30 秒間程度穏やかに振盪します(図 2)。　12:43

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。

※反応チューブを磁石スタンド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盪してください**。

※**1 往復/約 1 秒**の速さで振盪してください。

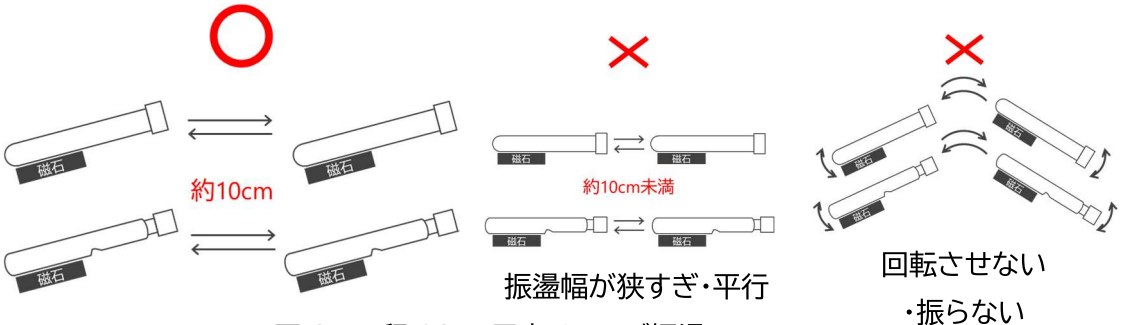


図 2. 工程 12 の反応チューブ振盪

１３．工程 11-12 を合計 2 回繰り返します。 13:30

※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。

※チューブの蓋の方を上にして少し傾けて振盪すると、ビーズが蓋の裏に残りにくいです。

１４．反応チューブを磁石スタンドから取り外して、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Ⓐへ移します。 13:37

※パスツ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。

※激しい懸濁はシスト・オーシストとビーズの複合体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Ⓐを磁石スタンドに装着して 1 分間以上静置します。 15:10

※1 分間経過後**穏やかにピペッティングし、舞い上げる**と、ビーズの回収が向上します(図 3)。

チューブの下の部分にビーズが残った状態　　全てのビーズを回収

図 3. 工程 15 のピペッティング

１６．マイクロチューブⒶを磁石スタンドに装着した状態で上清を反応チューブに戻します。反応チューブ内をすすぎ、全量をマイクロチューブⒶに戻して 1 分間程度静置します。 15:18

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。

※激しい懸濁はシスト・オーシストとビーズの複合体が解離し、回収率低下の要因となります。

※チューブ壁面にビーズが残った場合はパスツールピペットを用いて穏やかに洗い流してください。

１７．マイクロピペットを用いてマイクロチューブⒶの上清をすべて除去します。 16:44

※パスツ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Ⓐを磁石スタンドに装着した状態で洗浄液 1mL を添加した後、マイクロチューブⒶを磁石スタンド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。 17:01

１９．マイクロチューブⒶを磁石スタンドに装着し、30 秒間程度穏やかに転倒混和し、ビーズを回収します。 **17:40**
※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。 **18:03**

２１．マイクロチューブⒶを磁石スタンドに装着した状態で、マイクロピペットを用いて上清をすべて除去します。 **18:10**
※蓋に液体が付着している場合は振り落としてください。
※パスツ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Ⓐに Solution C を 200μL 添加します。磁石スタンドから取り外し、ボルテックスなどを用いて 20 秒間以上**激しく攪拌**しビーズとオーシスト、シストを解離させます。 **18:33**
（動画工程 22）
※ミキサーは、ボルテックス・ジェニー2　3 インチプラットホームをご使用ください。

２３．マイクロチューブⒶを磁石スタンドに装着して 1 分間以上静置します。 **19:14**
※1 分間経過後**穏やかにピペッティングし、舞い上げる**と、カウント時のビーズ持ち込みが減少します（図 4）。 **（動画工程 23）**

図 4. 工程 23 のピペッティング

２４．マイクロチューブⒶを磁石スタンドに装着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Ⓑに回収します。 **19:30（動画工程 24）**

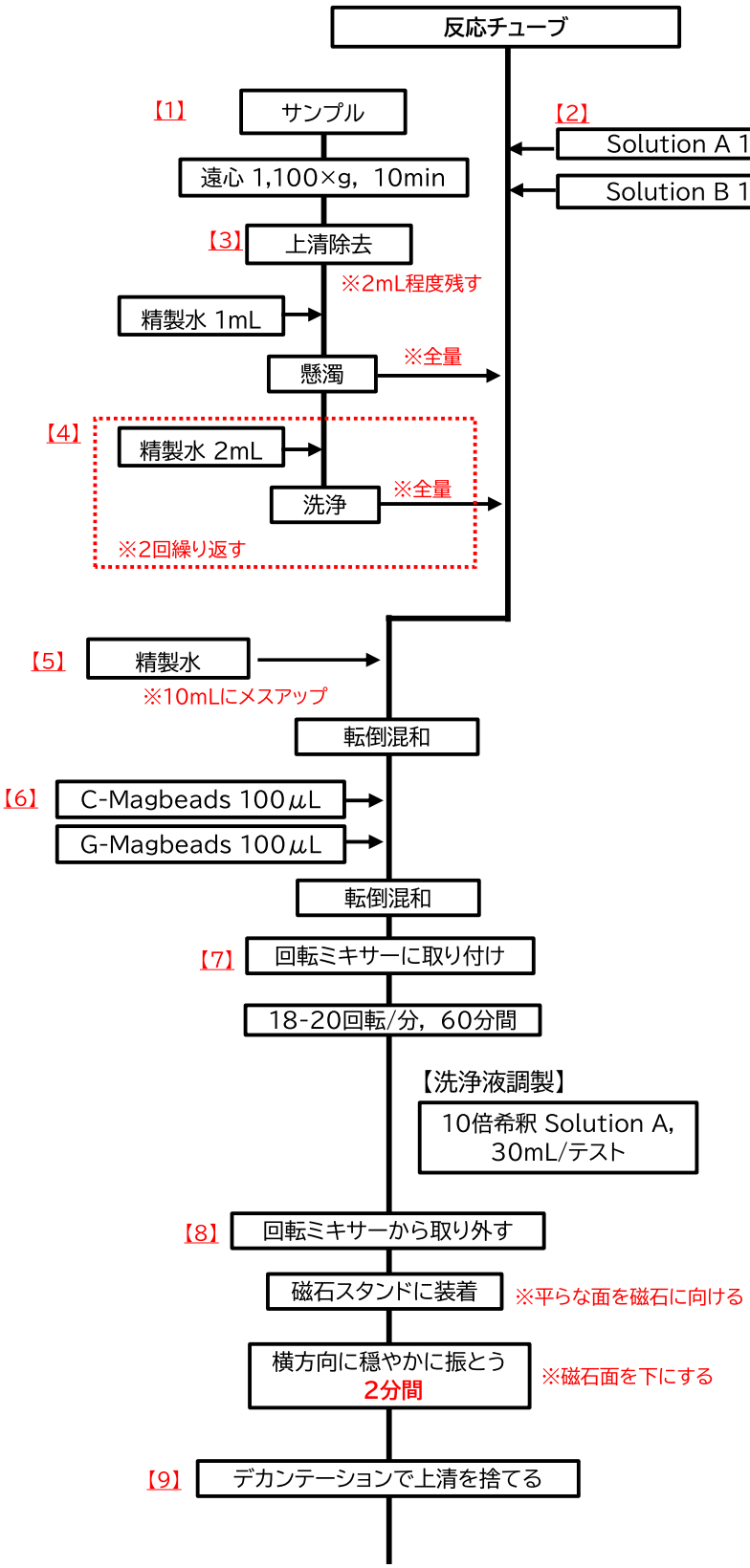
２５．工程 22-24 を合計 2 回繰り返します。 **19:58（動画工程 25）**

２６．マイクロチューブⒷに Solution D を 80μL 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。 **20:05（動画工程 26）**

２７．マイクロチューブⒷに Solution A を 50μL 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：530μL）。 **20:50（動画工程 27）**

２８．遠心分離（1,100×g 以上、5 分以上）した沈査を遺伝子検査に使用します。
※遺伝子検査は各施設の手法で実施してください。

ARK Capture™ C/G-Mag Purification Kit
操作フロー（遺伝子検査向け）



【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。

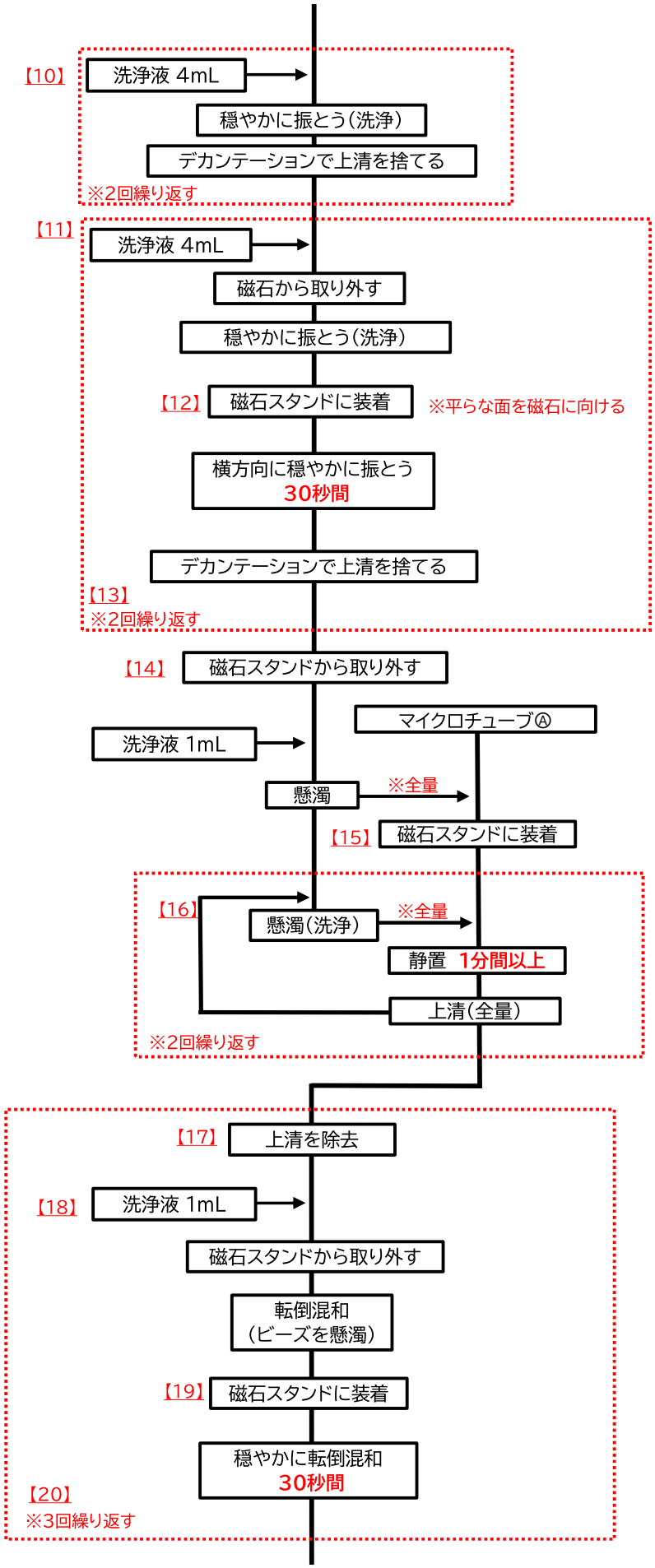
【2】Solution Bは白濁していますが性能に影響はありません。
転倒混和してから使用してください。

【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。

【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。

【8】1往復 / 約1秒の速さで振盪してください。（図1）

【9】反応チューブを磁石スタンド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盪してください。
パス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】添加時はビーズに触れないように注意してください。
パス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】添加時はビーズに触れないように注意してください。
パス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】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。
反応チューブを磁石スタンド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盪してください。
1往復 / 約1秒の速さで振盪してください。
(図2)
パス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。

【13】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。
チューブの蓋の方を上にして少し傾けて振盪すると、ビーズが蓋の裏に残りにくいです。

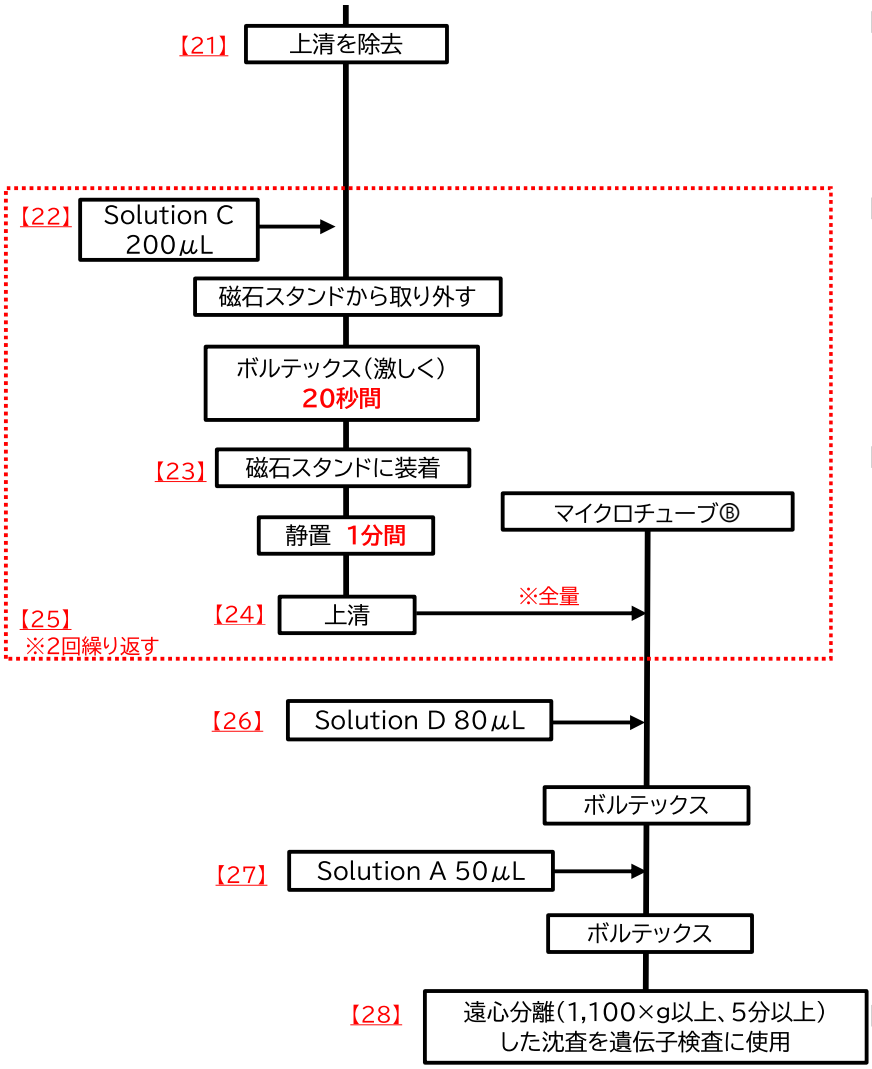
【14】パスツールピペットやスポイトなどを用いて穏やかに懸濁します。
ボルテックスミキサーは使用しないでください。
激しい懸濁はビーズが解離し回収率低下の要因となります。

【15】1分間経過後穏やかにピペッティングし、舞い上げると、ビーズの回収が向上します。
(図3)

【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。
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。
チューブ壁面にビーズが残った場合はパスツールピペットを用いて穏やかに洗い流してください。

【17】パスツ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。
蓋に液体が付着している場合は振り落としてください。

【22】ミキサーは、ボルテックス・ジェニー2
3インチプラットホームをご使用ください。

【23】穏やかにピペッティングし、舞い上げると、カウント時のビーズ持ち込みが減少します。
(図4)

【28】遺伝子検査は各施設の手法で実施してください。

図1. フロー8の反応チューブ振盪

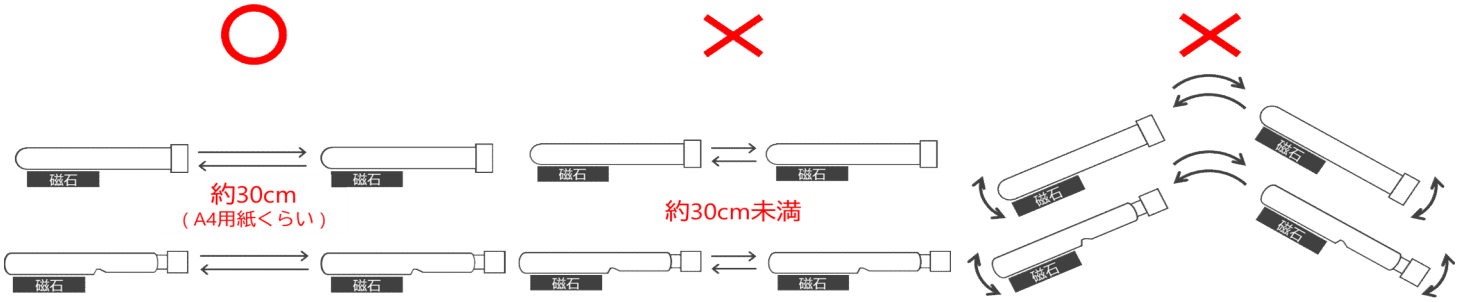


図2. フロー12の反応チューブ振盪

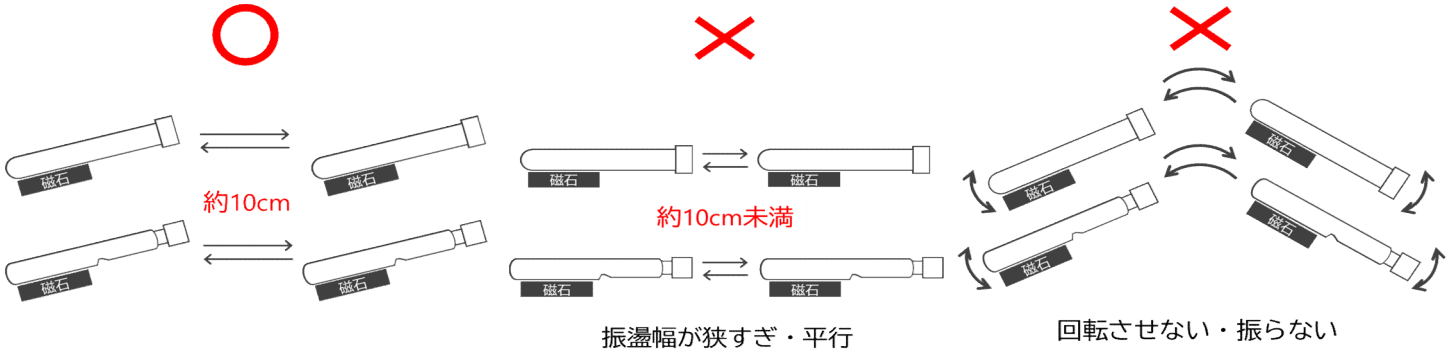


図3. フロー15のピペッティング

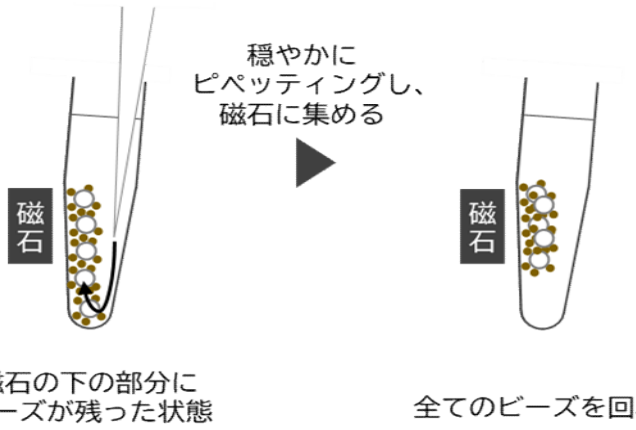
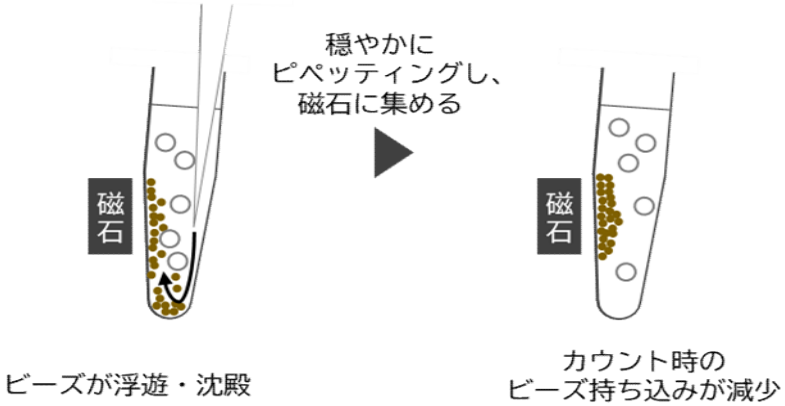



図4. フロー23のピペッティング