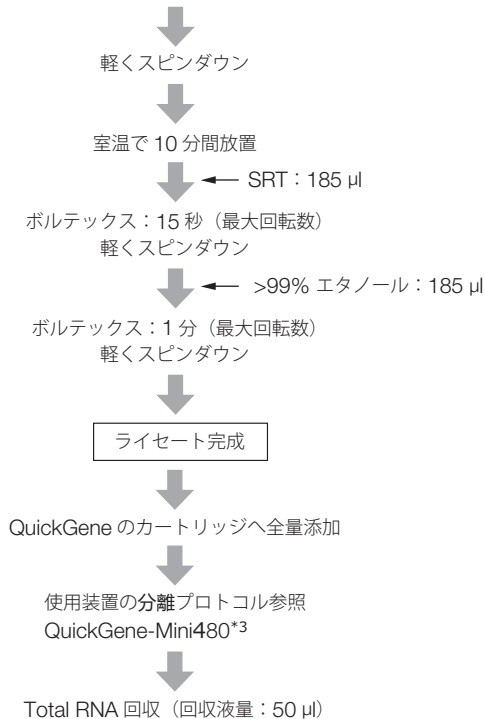


RH-1

# 血清からのC型肝炎ウイルス (Hepatitis C Virus (HCV)) RNA分離

## プロトコル

200  $\mu$ l の LRT (2-ME 添加済み) \*2 に、10  $\mu$ l の 10 mg/ml キャリア RNA\*1 溶液と  
150  $\mu$ l の被験血清を添加してボルテックス：30 秒 (最大回転数)



\*1 キャリア RNA：血清中の RNase によるウイルス RNA 分解防止と微量 RNA の非特異的吸着防止のために入れる。PolyA RNA (Sigma-Aldrich 社) を用いた。会社：Sigma-Aldrich 名称：ポリアデニル酸カリウム塩 Catalog No. : P9403

\*2 1ml の LRT 当たり 10  $\mu$ l の 2-ME を加える。

\*3 本事例は旧機種で取得したデータも含まれます。その他 QuickGene シリーズでもこのプロトコルをご参考頂けます。

## 結果

■ 電気泳動図

データなし

■ Total RNA の収量

データなし

■ タンパク質の混入：A260/280

データなし

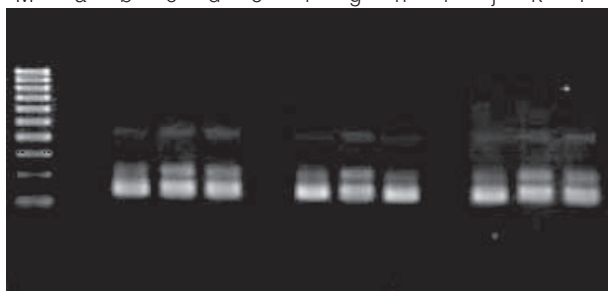
■ カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

## ■ その他

### ● HCV ウイルス RNA の RT-PCR/nested PCR のよる検出

M a b c d e f g h i j k l



M : マーカー (100 bp ladder)

a, e, i : HCV 陰性健常人

b, f, j : HCV 陽性患者 No.1

c, g, k : HCV 陽性患者 No.2

d, h, l : HCV 陽性患者 No.3

a, d : QuickGene

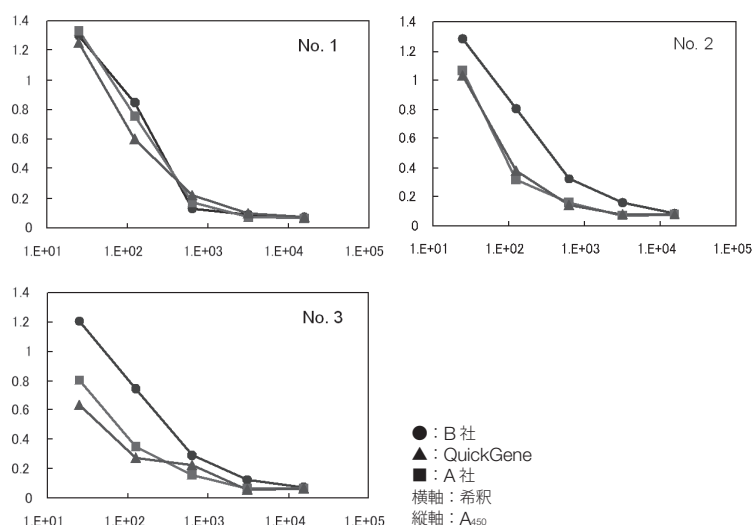
e, h : A社

i, l : B社

QuickGene によって HCV 感染患者血清から調製した RNA を用いて、C 型肝炎 RNA を RT-PCR/nestedPCR 法によって検出することができた。

### ● HCV RNA の検出

QuickGene システム、A 社製品、B 社製品で得られた 3 種の RNA について AMPLICOR の検出システム (ハイブリダイゼーション法) を用いて HCV RNA の検出感度を検討した。



B 社との比較では、3 検体中 2 検体で最大で約 5 分の 1 の反応性の低さが認められた。一方、QuickGene と A 社製品で調製した RNA では、反応性には有意な差を認めなかった。この AMPLICOR との感度の乖離については、QuickGene および A 社では、分解した RNA の小断片は標品中に入っていないことが一因として考えられる。

QuickGene で調製した血清 RNA によって、通常の患者血清中の HCV RNA を十分な感度で検出できることが示された。

QuickGene では、AMPLICOR の RNA 調製プロトコルに含まれているイソプロパノール沈澱と遠心による回収などの煩雑な操作が不要であり、RNA 調製が容易となる。

## ■ 共通プロトコルサンプル

HIV