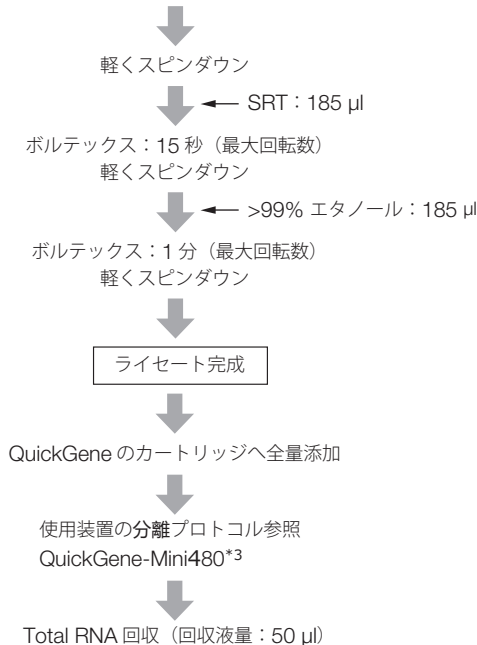


RH-3

# HIV 患者血清および、HIV のウイルス粒子をスパイクしたヒト血清からの RNA 分離と HIV RNA の検出限界

## 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：精製された微量 RNA の非特異的吸着防止と血清中の RNase によるウイルス RNA 分解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 1 ml 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

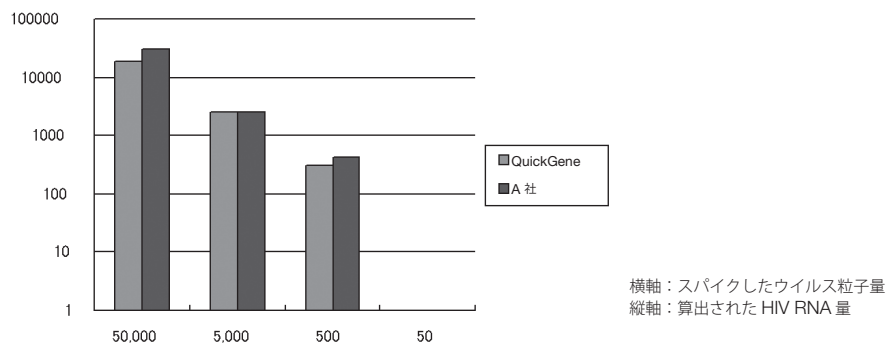
- 電気泳動図  
データなし
- Total RNA の収量  
データなし
- タンパク質の混入：A260/280  
データなし
- カオトロピック塩の混入：A260/230  
データなし

## ■ その他

### ● HIV のウイルス粒子をスパイクしたヒト血清からの HIV RNA の精製と検出限界

HIV のウイルス液をプールした健常ヒト血清に下表の濃度になるように添加した。上記プロトコルに従って QuickGene を用いて調製した RNA と A 社の標準プロトコルで分離した RNA について、AMPLICOR の検出システム (PCR- ハイブリダイゼーション) を用いて HIV RNA を定量的に検出した。

スパイクしたウイルス量 (ウイルス粒子数/ml)	算出値 (コピー/ml)	
	QuickGene	A 社
50,000	18623.6	30827
5,000	2467	2471.2
500	304.9	435.4
50	-6.6	-2.6

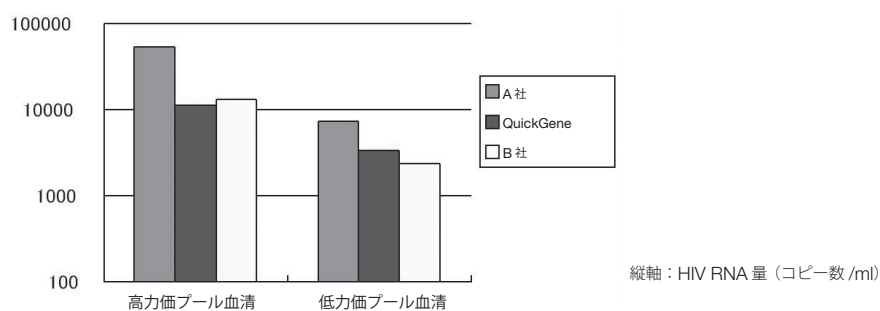


以上の結果から、QuickGene で分離した RNA を用いて、A 社と同等の検出感度で HIV RNA を検出することができた。その感度は数百ウイルス粒子/ml 程度であった。

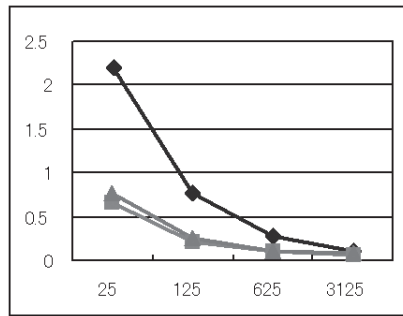
### ● HIV 患者血清からの HIV RNA の精製と検出

HIV 患者のプール血清 (高力価と低力価の 2 検体) から QuickGene、B 社の製品を用いて RNA を調製、AMPLICOR の検出システム (PCR- ハイブリダイゼーション) で HIV RNA を定量的に検出した。

	高力価プール血清	低力価プール血清
A 社	53908.8	7391.2
QuickGene	11178.6	3349.9
B 社	13157.2	2425.7

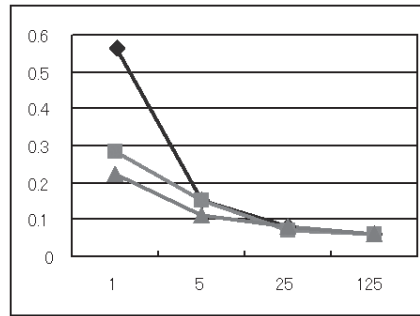


高力価プール血清



◆ : A社 ■ : QuickGene ▲ : B社

低力価プール血清



横軸：PCR産物の希釈度  
縦軸：450 nmの吸光度

以上の結果から、患者血清での HIV RNA 検出に関しては、A社製品で最も強いレスポンスが得られた。QuickGeneとB社製品では同等のレスポンスが得られたが、A社製品の1/2から1/5程度であった。本検出法は、RNAコピー数のオーダーの算出が目的であり、1/2から1/5の乖離は実験間の誤差の範囲とみなしてよい。三者の値は同じオーダーの範囲に入っており、検出感度の点からは同等であると考えてよい。従って、QuickGeneを用いた本プロトコルでHIV患者血清からHIV RNAを定量的かつ高感度に検出できることが示された。

## 共通プロトコルサンプル

HCV