

Maxwell[®] RSC Xcelerate DNA FFPE Kit (カタログ番号 AS1510) 簡易マニュアル

ご用意いただくもの

- 1.5mlまたは2mlサンプルチューブ
- 80℃設定のヒートブロック
- 56℃設定のヒートブロック
- 微量高速遠心機 (10,000 xgが可能なもの)
- ピペットマン(P-20、P-200、P-1000)

FFPE切片の準備

1. FFPE切片をサンプルチューブに移す。
 - スライドガラスに貼り付けている切片を利用する場合には、スライドガラスから清浄なカミソリでそぎ落としてください。FFPE切片は、タッピングや遠心によりサンプルチューブの底に落としてください。
 - 組織切片は、2.0mm³ まで (例：10μm厚で、1cm×2cmのサイズ)を使うことができます。
※ 組織占有率やパラフィン量に応じて変動するため、適宜調整が必要です。
2. 最大スピードで15秒の遠心を行い、FFPE切片をチューブの底に落とす。

FFPE切片の前処理

1. 300μlのミネラルオイルを加え、10秒間のボルテックスで十分に攪拌する。
2. 80℃で2分間のインキュベーションする。その後、室温に戻す。この間に、手順4で使用する master mixを調製する。
3. Lysis Buffer、Proteinase K、Blue Dyeを下表のように調製し、master mixを作製する。

| 試薬 | 1サンプル | サンプル数 | 合計 |
|--------------|--------|-------|------------------|
| Lysis Buffer | 224 μl | n + 2 | 224 x (n + 2) μl |
| Proteinase K | 25 μl | n + 2 | 25 x (n + 2) μl |
| Blue Dye | 1 μl | n + 2 | 1 x (n + 2) μl |

4. 室温に戻したサンプルに、250μlのmaster mixを加え、5秒間のボルテックスで十分に攪拌する。
5. 層の分離のため、10,000×g、20秒間の遠心を行う。

- 水層(青色の下層部分)にペレットが確認できる場合、ペレットを懸濁するために、水層をピペットでおだやかに撹拌してください。
- 6. サンプルチューブを56℃のヒーティングブロックに移し、15分間のインキュベーションを行う。
- 7. ヒーティングブロックから取り出し、すぐに手順8に進む
- 8. 25µlのXcelerate Buffer (XB1)を水層(青色)に加え、ピペティングで撹拌する。
 - ※ 正確に25µlの液量のXcelerate Buffer (XB1)を加えてください。不正確な液量の添加は、収量に影響します。
- 9. サンプルチューブを80℃のヒーティングブロックに移し、30分間のインキュベーションを行う。
 - ※ 正確に30分間のインキュベーションを行ってください。不正確な時間のインキュベーションは収量に影響します。
- 10. サンプルをヒーティングブロックから取り出し、室温で5分間放置し、十分に冷ます。
- 11. 水層(緑色)の部分に、10µlのRNase A Solutionを加える。
- 12. 室温(15~30℃)で5分間のインキュベーションを行う。
- 13. 最高スピードで5分間の遠心を行う。
 - ※ 遠心の間に、“カートリッジの準備”を進める。
- 14. 水層(緑色)の部分を迅速に、Maxwell RSCのカートリッジのウエル #1に移す。
 - ※ 沈殿や不溶性の組織残渣は、カートリッジに移さないでください。これらの混入は収量に影響します。

カートリッジの準備

1. 検体数分のカートリッジをMaxwell® RSC/CSC Deck Tray に立て、順にそのアルミシールを剥がす。カートリッジの両端がカチツというまで、しっかりとセットする
注意：サンプル数が16より少ない場合には、Maxwell® RSC/CSC Deck Trayの中央部分をお使いください。
2. 同数のElution Tubeをセットし、50µlのNuclease-Free Waterを加える。
 - ※ Elution Tubeを差し込む穴は、固定するため、挿入には少し押さえる必要があります。Elution Tubeは一番下までグッと強く押し込んでください。
Elution Tubeのフタは絶対に閉めないでください。
3. カートリッジのウエル8に、プランジャーを置く。
4. Maxwell RSC Instrumentを起動し、STARTから『Xcelerate DNA FFPE /AS1510』を選択する。
5. Maxwell® RSC/CSC Deck Trayを、Maxwell® RSC本体にセットし、精製操作をスタートする。



精製終了後の操作

1. Maxwell RSC® Instrumentのドアを開け、Elution Tubeのフタを閉める。
2. Maxwell® RSC/CSC Deck Trayを取り出し、Elution Tubeを適切に保管する。
3. Maxwell RSC® Instrumentのドアを閉める。カートリッジとプランジャーを廃棄する。

技術的なお問合せは：

e-mail: prometec@jp.promega.com ・ Tel: 03-3669-7980 ・ Fax: 03-3669-7982

Version 1.0 (2024年9月作成)