



A Maximum Instrument at a Minimum Size

Maxwell™ 16 Instrumentの紹介：簡単に再現性に優れた柔軟なDNA精製ツール

By Dan Kephart, Ph.D., Steve Krueger, B.S.ChE, Terri Grunst, M.B.A., and Hemanth Sheno, Ph.D., Promega Corporation

アブストラクト

Maxwell™ 16 Purification Systemは、コンパクトな機器、試薬充填済みカートリッジおよび最適化された自動化法を組み合わせることにより、パフォーマンスおよび柔軟性を最大限に発揮するとともに、DNA精製に要する手動操作時間が最低減に抑えられています。機器は1回の実行（約30分間）で最大16サンプルを処理できるようデザインされています。精製されたDNAは、前処理、遠心、DNAペレットの沈殿または再水和を必要とすることなく、後の分析にそのまま使用できます。本稿では、Maxwell™ 16 Systemの開発の経緯について説明するとともに、ゲノムDNA精製への使用例を示します。

機器デザインによる生産性の向上

Maxwell™ 16 Instrumentは、実験台の占有面積が少ないコンパクト設計（寸法31.4×37.4×29.5cm）です（図1、パネルA）。最適化された方法が機器にプリインストールされていますので、梱包を解きプラグを差し込めば、直ちにDNA精製を行うことができます。

Maxwell™ 16 Instrumentの機能は、あらかじめ試薬が充填された状態で供給される試薬カートリッジのウェル内で行われる、MagneSil® Paramagnetic Particles (PMPs) の連続的な捕捉と放出に基づきます（図1）。本機器は強力な磁石と独自のブランジャー設計を用いて、標的材料（すなわちゲノムDNA）を溶解・捕捉する一方、不純物を洗浄除去します。処理中、PMPを選択的に捕捉・移動できるため、複雑な液体分注や、詰まりまたはコンタミネーションを発生するおそれがある試薬ピンを必要としません。試薬カートリッジおよびブランジャーは使い捨てであり、新たな試薬を汚染されていない状態で確実に分注できることは、性能および動作の再現性を最大限に高めることにもつながります。

一般に、Maxwell™ 16 Instrumentは1～16サンプルを約30分で処理できます。独自のブランジャー設計を採用することにより、ほとんどの種類のサンプル（動植物組織を含む）を、前処理（プロテイナーゼKなどの酵素処理、機械的粉碎、白血球分画、遠心など）なしに精製できます。例えば、通常のDNA精製を行う場合、長さ1.2cmまでのマウス尻尾あるいは組織25～50mgであればカートリッジへそのままセットすることができます。他のサンプル調製法で求められる粉碎処理あるいはプロテイナーゼK消化など日常的な作業を省略できるため、時間を節約することができます。サンプルを加えた試薬カートリッジをMaxwell™ 16 Instrumentにセットした後、画面上の簡単なプロンプトに従って、最適化された適切な方法を選択することができます。Maxwell™ 16 Instrumentの動作が完了すれば、精製DNAはそのまま以後の解析に使用できます。

Maxwell™ 16 Instrumentは、小型かつ操作がきわめて簡単なシステムです。本製品独自の試薬カートリッジは、幅広い種類のサンプルからのゲノムDNA精製を円滑化します。

イントロダクション

ゲノムDNA (gDNA) 精製は近年、分子生物学研究室ではルーチンに行われています。精製DNAは、遺伝子タイピング、マッピングあるいは遺伝子構造解析に汎用されています。現在、サンプルの種類、サイズおよび処理量に応じて、多くの種類のgDNA精製法が使用されています。ハイスループットユーザーは、生産性を向上させるため、自動化をますます進めつつあります。一方、ロースループットないしミドルスループットユーザーは、多大な設備投資、訓練および維持管理を必要としない自動化製品を必要としています。このようなニーズを満たす製品がほとんど存在しないのが現状で、DNA精製にハイスループットユーザーより25～30%も多く時間を要する場合があります。また、大規模な研究所であっても、特定の作業、特定領域の研究室、あるいは中央研究室から地理的に離れた場所で専用に使用でき、ワークフローの要件に対応する低コストの「ベンチトップ」装置が必要とされています。

DNAを高収量および高純度で得られつつも、手動操作時間および労力を低減するという目的を達成するため、プロメガは使用が簡単なMaxwell™ 16 Systemを開発しました。Maxwell™ 16 Instrumentと試薬充填済みカートリッジを含むキットで構成される本システムは、ローないしミドルスループットユーザー向けに開発されました。Maxwell™ 16 Instrumentは、小型で操作がきわめて簡単なシステムです。本製品独自の試薬カートリッジは、幅広い種類のサンプルからのDNA精製を円滑化します。今後、Maxwell™ 16 Systemではお客様のニーズの変化に迅速に対応し、幅広い精製用途に対応する試薬キットをご提供する予定です。

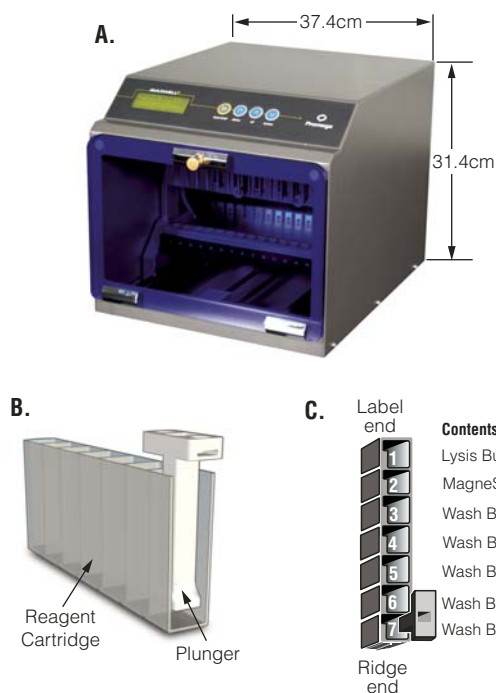


図1. Maxwell™ 16 Instrumentと最適化された試薬充填済みのディスプレイカートリッジ

パネルA. Maxwell™ 16 Instrument。パネルB. Maxwell™ 16試薬カートリッジ（プランジャーが見えるよう断面図を示す）。独自のカートリッジデザインにより、前処理を必要とせず、幅広い種類の液体および固体サンプルを直接処理することが可能。パネルC. Maxwell™ 16カートリッジの上面図。

以後の用途にそのまま使用できる精製DNA

血液はgDNAを比較的簡単に精製できるため、gDNAの材料として高頻度に使用されます。Maxwell™ 16 Blood DNA Purification Kit（カタログ番号 AS1010）に同梱のMaxwell™ 16試薬カートリッジは、幅広い容量の新鮮あるいは保存ヒト血液のほか、動物血液サンプルの処理用に最適化されています。最高400μlまでの全血を処理でき（図2）、白血球（WBC）数に応じて、約8~16μgのgDNAを精製できます。gDNAはきわめて高純度で、その後の用途（PCRなど）で安定したパフォーマンスを示します（図2）。血液の処理容量は、DNA回収率の直線性および優れたPCR成績を維持したまま、10μlまで低減することができます。DNAはクエン酸、EDTAあるいはヘパリン添加チューブで採取した血液からも同様の収量および純度で精製されており、その後の用途における性能に差は認められていません。Maxwell™ 16 Instrumentにより精製されたDNAの質の高さは、高純度DNAを必要とするマルチプレックスPCRによる分析で実証されています。

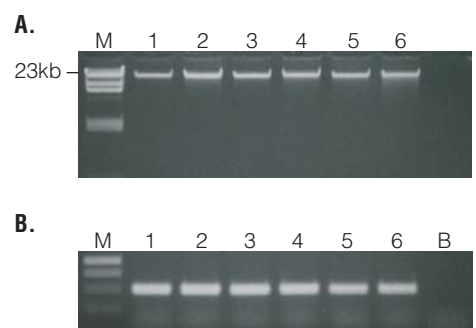


図2. ヒト全血由来DNAの精製および分析

供血者6例の血液サンプル400μlからDNAを精製した。パネルA. 各サンプルの一部（5μl）を、アガロースゲル電気泳動により分離した。レーンM、Lambda DNA/Hind III Markers（カタログ番号 G1711）。パネルB. 等量（1μl）の各サンプルを、ヒト血液凝固第II因子遺伝子に特異的なプライマーペアを用いて増幅した。レーンM、1kb DNA Ladder（カタログ番号 G5711）；レーンB、鋳型を抜いたPCR コントロール。サンプルのA260/280は平均1.72であった。サンプルの総溶出量は約210μl。

他のDNA精製システムを用いた場合には、保存条件が精製に悪影響を及ぼすことが少なくありませんが、Maxwell™ 16 Blood DNA Purification Kitを用いて全血からDNAを直接精製すれば、このような悪影響を最小限に抑えることができます。DNA精製前の前処理には通常、WBCの回収が必要ですが、これにより、手動操作時間が長くなるだけでなく、保存条件が悪い場合や複数回の凍結融解により細胞が損傷している場合には、サンプルからのDNA収量が著しく低下する可能性があります。Maxwell™ 16 Systemは、4℃、-20℃または室温で保存されていた血液からDNAを精製することができます。幅広いサイズのDNAを効率的に捕捉し、状態の不全なサンプルからも最大限の収量を引き出します。

さまざまな種類のサンプルに対応する試薬充填済みカートリッジ

Maxwell™ 16 Systemは、試薬充填済みカートリッジを同梱する3種類のキットを用いて、幅広い種類のサンプル（ヒトおよび動物の全血、白血球バフィーコート、動植物組織、真核および原核細胞のほか、ショウジョウバエなどの生物の全身など）からgDNAを精製できます。動物の血液および各種組織の処理にMaxwell™ 16 Instrumentを使用すれば、ホモジネーションなどの前処理は必要ありません。全組織サンプル（最大50mg）は、Maxwell™ 16 Tissue DNA Purification Kitに同梱のMaxwell™ 16試薬カートリッジに直接セットすることができます（図3）。前処理工程を省くことができるため、サンプル採取からデータ分析まで2日を要せず、1日で完了することができることから、生産性が著しく向上します。各種組織から精製されたDNAは、その後の用途で優れたパフォーマンスを発揮します（図3）。

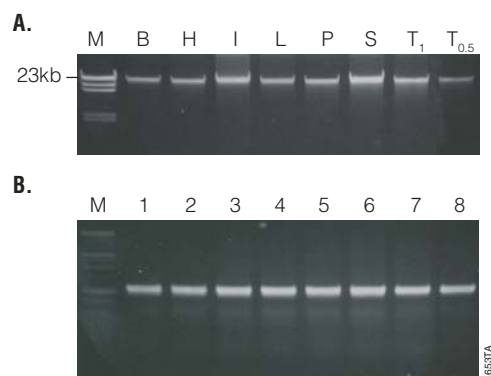


図3. 全組織からのDNA精製および分析

パネルA. DNAは、Maxwell™ 16 Tissue DNA Purification Kit (カタログ番号 AS1030) に同梱のMaxwell™ 16試薬カートリッジに、切除した組織を直接セットすることにより精製した。使用した組織は、脳 (B)、心臓 (H)、腸 (I)、肝臓 (L)、脾臓 (P)、脾臓 (S) 各50mgと、マウス尻尾 (T_1 は尻尾の1cm断片、 $T_{0.5}$ は0.5cm断片)。各サンプルの一部 (5 μ l) を、アガロースゲル電気泳動により分析した。レーンM、Lambda DNA/*Hind* III Markers (カタログ番号 G1711)。**パネルB.** 各サンプルの一部 (1 μ l) を、IL-1 β 遺伝子の一部分に特異的なプライマーペアを用いて増幅し、ゲル電気泳動により分析した。レーンM、1kb DNA Ladder (カタログ番号 G5711)。

細胞由来のDNAは、Maxwell™ 16 Cell DNA Purification Kit (カタログ番号 AS1020) に同梱されている試薬カートリッジを用いて直接精製できます。精製フォーマットは他のMaxwell™ 16試薬カートリッジと同様であり、培養した浮遊細胞あるいは付着細胞からgDNAを精製することができます。細胞を回収し処理すること (最大処理量400 μ l) も、Lysis Bufferをプレートに直接添加し、回収した細胞ライセートを処理することもできます (図4)。各種原核生物についても検討しています。多くのグラム陰性菌は前処理なしに処理できます。一方、グラム陽性菌はgDNAの回収率を最適化するため、簡単な前処理を必要とする場合があります (図4)。

Maxwell™ 16 Systemの汎用性を明らかにするため、その他の種類のサンプル (ヒト肺、植物の葉およびショウジョウバエの全身など) を用いて、その性能を検討しました (図5、パネルA)。精製DNAはアガロースゲル電気泳動により簡単に視覚化されます。他の種類のサンプル (ヒト毛髪 [根端部]、口腔スワブなど) も、Maxwell™ 16 Instrumentと、Maxwell™ 16 Tissue DNA Purification Kitに同梱の試薬カートリッジを用いて処理できます (図5、パネルB)。このような種類のサンプルから精製されたgDNAは、その後の増幅ベースの用途で優れた性能を示します。gDNA精製カートリッジのパフォーマンスが実証され、RNAならびに法医学サンプルからのgDNA精製用の試薬キットが将来的に利用できる可能性も加わり、Maxwell™ 16 Instrumentのシンプルな操作性とコンパクトなボディーがより一層生かされます。

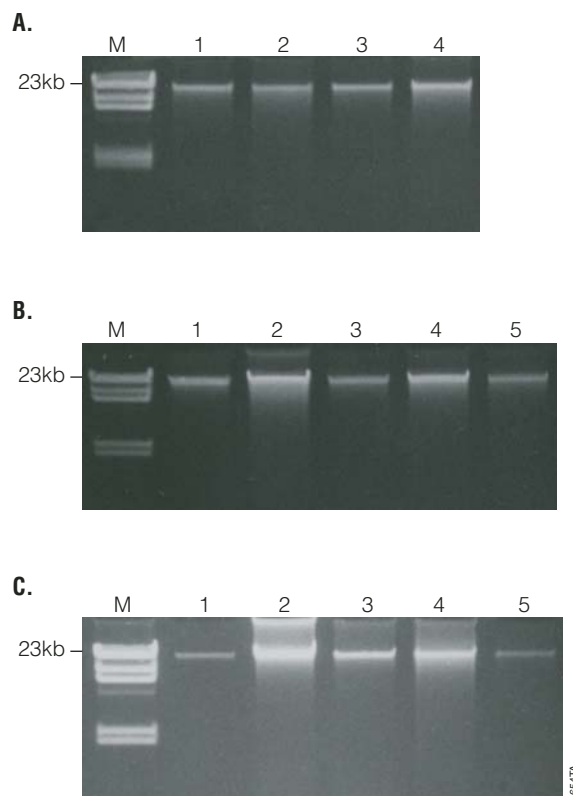


図4. 真核および原核細胞由来gDNAの精製および分析

パネルA. DNAは、Maxwell™ 16 Cell DNA Purification Kit (カタログ番号 AS1020) に同梱の試薬カートリッジに、組織培養細胞を直接セットすることにより精製した。使用した細胞株 (1 $\times 10^6$ 個/精製) は、HeLa (レーン1)、CHO (レーン2)、HEK 293 (レーン3) および3T3 (レーン4) であった。各サンプルの一部 (5 μ l) を、アガロースゲル電気泳動により分析した。レーンM、Lambda DNA/*Hind* III Markers (カタログ番号 G1711)。**パネルB.** グラム陰性菌のDNAは、Maxwell™ 16 Cell DNA Purification Kit に同梱の試薬カートリッジに、一晚培養した培養液400 μ lをセットすることにより精製した。使用した菌株は、*E. coli* (レーン1)、*P. aeruginosa* (レーン2)、*P. vulgaris* (レーン3)、*S. typhimurium* (レーン4) および *Y. enterocolitica* (レーン5) であった。各サンプルの一部 (15 μ l) を、アガロースゲル電気泳動により分離した。レーンM、Lambda DNA/*Hind* III Markers (カタログ番号 G1711)。**パネルC.** グラム陽性菌のDNAは、試薬カートリッジ (Maxwell™ 16 Cell DNA Purification Kit) に、酵素処理した培養液400 μ lをセットすることにより精製した。使用した菌株は、*S. aureus* (レーン1)、*A. luteus* (レーン2)、*B. subtilis* (レーン3)、*B. cereus* (レーン4) および *E. faecalis* (レーン5) であった。各サンプルの一部 (10 μ l) を、アガロースゲル電気泳動により分析した。レーンM、Lambda DNA/*Hind* III Markers (カタログ番号 G1711)。

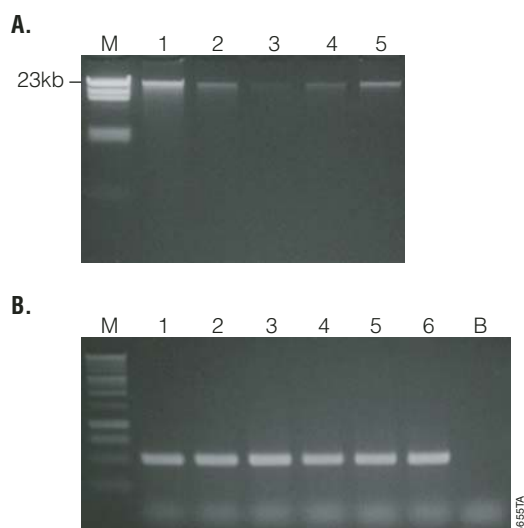


図5. Maxwell™ 16 Instrumentによる様々なサンプルからの精製

パネルA. ヒト肺（レーン1）、トマト葉（レーン2）、あるいはショウジョウバエ1、3または5匹の全身（レーン3～5）からDNAを精製した。肺およびショウジョウバエサンプルは、Maxwell™ 16 Tissue DNA Purification Kit（カタログ番号 AS1030）に同梱の試薬カートリッジに直接セットした。植物組織は試薬カートリッジにセットする前に、カミソリで細かく刻んだ。各サンプルの一部（15μl）を、アガロースゲル電気泳動により分析した。レーンM、Lambda DNA/*Hind* III Markers（カタログ番号 G1711）。**パネルB.** 口腔スワブ（綿）（レーン1～3）、あるいはヒト毛髪1、3および5本の根端部（レーン4～6）から、DNAを精製した。各サンプルの一部（1μl）を、血液凝固第II因子遺伝子の一部分に特異的なプライマーを用いて増幅し、増幅産物をアガロースゲルにより分析した。レーンM、1kb DNA Ladder（カタログ番号 G5711）。

結論

Maxwell™ 16 Systemは、生体分子のローないしミドルスルーブット精製の労力を低減できるとともに、簡単に使用できるよう設計されています。本システムは、訓練およびメンテナンスをほとんど必要としないコンパクトかつ簡単な機器と、充填済み試薬カートリッジを組み合わせることで、時間を節約し、生産性を向上させます。我々は、Maxwell™ 16 Systemにより、全血（10～400μl）、動植物組織、ならびに培養真核および原核細胞からgDNAを精製することができます。我々は、広範なサンプルタイプ（全組織、生物全身、口腔スワブ）を処理できる柔軟性とこれらのサンプルから安定した精製が行える高いパフォーマンスについて実証しました。

プロトコル

- ◆ Maxwell™ 16 Instrument Operating Manual #TM274, Promega Corporation.
www.promega.com/tbs/tm274/tm274.html
- ◆ Maxwell™ 16 Blood DNA Purification Kit Protocol #9PIAS101, Promega Corporation.
www.promega.com/tbs/9pias101/9pias101.html
- ◆ Maxwell™ 16 Cell DNA Purification Kit Protocol #9PIAS102, Promega Corporation.
www.promega.com/tbs/9pias102/9pias102.html
- ◆ Maxwell™ 16 Tissue DNA Purification Kit Protocol #9PIAS103, Promega Corporation.
www.promega.com/tbs/9pias103/9pias103.html

製品案内

製品名	サイズ	カタログ番号	価格(¥)
Maxwell™ 16 Instrument	1 each	AS1000	2,000,000
Maxwell™ 16 Blood DNA Purification Kit	48 preps	AS1010	24,000
Maxwell™ 16 Cell DNA Purification Kit	48 preps	AS1020	24,000
Maxwell™ 16 Tissue DNA Purification Kit	48 preps	AS1030	24,000

関連製品

製品名	サイズ	カタログ番号	価格(¥)
1kb DNA Ladder	500μl	G5711	18,000
Lambda DNA/ <i>Hind</i> III Markers	100μg	G1711	7,000