

# Promega Info

神戸市立医療センター中央市民病院  
臨床検査技術部 細胞遺伝子検査室  
白石祐美先生、丸岡隼人先生



## さまざまな遺伝子検査・感染症検査に有用なMaxwell® RSC Instrument

当院細胞遺伝子検査室では、造血器腫瘍の病型診断および治療効果の判定に際して、PCR法を用いた種々の遺伝子検査を実施しています。検査項目数は2020年8月現在で約40種に及び、更に血液内科からの需要に応じて、最新の新規検査項目の導入に向けた検討も日々行っています。

このような状況下で核酸抽出作業を効率化する重要性が高まり、2016年より **遺伝子検査のワークフローに自動核酸精製装置 Maxwell® を組み入れました**。Maxwell® 導入以前はスピнкаラム法による用手抽出であったので、検体数が多い時には、その煩雑さから抽出作業に多くの時間を費やしていました。また、操作ステップが多いので、検体の取り違いなどの危険性も高くなっていました。Maxwell® 導入以後は、検体をセットしてから抽出完了までの時間にPCRの準備などを行うことができるため、作業効率が格段に高まりました。また、複数回の遠心作業を行う中で、検体を取り違えてしまったり、試薬を入れ忘れてしまうといったようなリスクも低減され、安心して検査をすすめることができるようになりました。

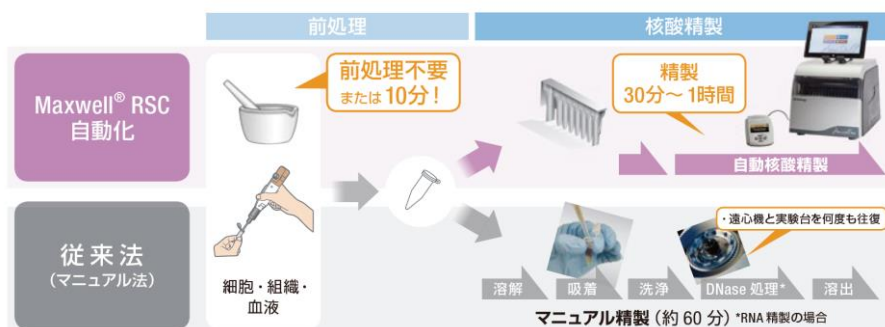
**新型コロナウイルス検査においてもMaxwell® は絶大な威力を発揮**しています。新型コロナウイルス検査におけるウイルスRNA抽出では、コンタミネーションや検体取り違いに関して厳格な操作が要求されますが、抽出の自動化により、それらのリスクを最小限に抑えることができます。新型コロナウイルス検査に提出される検体は、日々増加の一途をたどっており、今やMaxwell® は我々の業務になくてはならない存在となっています。

## Maxwell® RSC Instrumentで核酸精製を行っている検査項目

	検査項目	検体種	使用キット名
遺伝子検査 (造血器腫瘍)	<b>造血器腫瘍遺伝子検査 (RNA)</b> (WT1 mRNA定量、BCR-ABL1 mRNA定量検査、NPM1 mRNA定量検査など)	末梢血・骨髄血 体腔液 (腹水・胸水など)	Maxwell® RSC simplyRNA Blood Kit [カタログ番号 AS1380]
	<b>造血器腫瘍遺伝子検査 (DNA)</b> (JAK2V617F、CALR、MPL、MYD88L265P遺伝子変異など)	末梢血・骨髄液 体液 (腹水・胸水など) 固形組織 (生検検体)	Maxwell® RSC Whole Blood DNA Kit [カタログ番号 AS1520]
	<b>免疫関連遺伝子再構成検査</b> (免疫グロブリン遺伝子再構成、T細胞抗原レセプター遺伝子再構成など)	FFPE	Maxwell® RSC DNA FFPE Kit - PKK, Custom [カタログ番号 AX2500]
	<b>移植関連キメラ解析</b>		
感染症検査	<b>新型コロナウイルスPCR検査</b>	鼻腔/咽頭スワブ拭い液 喀痰	Maxwell® RSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit [カタログ番号 AS1330]

## “Maxwell® RSCの自動精製”と“スピнкаラムでの用手法”の比較

煩雑な用手検査は貴重な時間を浪費し、手技による検査結果のバラツキやエラーの発生にもつながります。



	Maxwell® RSC	スピнкаラム
抽出作業	自動	用手
作業時間	短	長
検体取り違いリスク	小	大
試薬入れ忘れリスク	小	大

## 血液/骨髄液からのRNA抽出プロトコール例

使用キット : Maxwell® RSC simplyRNA Blood Kit

- サンプリング**  
EDTA採血管に血液または骨髄液を採取する。
- 細胞数の算定**  
自動血球計数装置もしくはBurker-Turk計算盤を用いて、末梢血の白血球数または骨髄液の全有核細胞数を算定する。
- 赤血球の溶血**  
15 mLまたは50 mLの遠沈管に1 mL~10 mLのサンプルを分取し、サンプル量に対して十分量のCell Lysis Solution (溶血バッファー) を加える。室温にて10分間のインキュベーションを行う。遠心 (540g、室温、5分) した後、細胞ペレットを残し、上清を除去する。
- 細胞ペレットの調製**  
細胞ペレットに2~3 mLのPBSを加え、よく懸濁し、自動血球計数装置で細胞数を算定する。算定した細胞数に基づき、細胞数が  $1.0 \times 10^7$  個以下になるように 2.0 mL チューブに移す。遠心 (6,000 rpm、室温、1分) した後、細胞ペレットを吸わないよう上清を完全に除去する。
- 細胞の溶解**  
細胞ペレットに1-Thioglycerol/Homogenization Solutionを200  $\mu$ L加え、ペレットがなくなるまでボルテックスをする。Lysis Buffer 200  $\mu$ L及びProteinase Kを25  $\mu$ L加え、30秒間ボルテックスする。室温にて10分間のインキュベーションを行う。
- RNA抽出**  
カートリッジ、プランジャー、DNase I Solution、Elution Tube (抽出液 : 50  $\mu$ LのNuclease-Free Water) を準備し、細胞溶解液全量をカートリッジに加え、Maxwell® RSC Instrumentでの全自動RNA抽出を実施する。
- 品質チェック**  
NanoDrop (Thermo Fisher Scientific)で濃度および純度を測定した後、RT-PCRに使用する。

## 固形組織(生検検体)からのDNA抽出プロトコール例

使用キット : Maxwell® RSC Whole Blood DNA Kit

- サンプリング**  
生理食塩水入シャーレもしくは培養液中に組織を採取する。
- 検体の分割**  
鉗子で検体組織を押さえながら、ディスポーザブルナイフで適度な大きさに分割する。適量のPBSを加えた50 mLの遠沈管内で、組織片を鉗子で破碎する。
- 不純物の除去**  
新しい50 mLの遠沈管にセルストレーナーをセットし、不純物を除去する。自動血球係数装置を用いて、有核細胞数を算定する。
- 組織懸濁液の調製**  
算定した細胞数に基づき、細胞数が  $1.0 \times 10^7$  個以下になるように 2.0 mL チューブに移す。遠心 (6,000 rpm、室温、1分) した後、細胞ペレットを吸わないよう上清を完全に除去する。200  $\mu$ LのPBSを加え、十分にボルテックスして検体を均一にする。
- DNA抽出**  
カートリッジ、プランジャー、Elution Tube (抽出液 : 50  $\mu$ LのElution Buffer)を準備し、調整した組織懸濁液全量をカートリッジに加え、Maxwell® RSC Instrumentでの全自動DNA抽出を実施する。
- 品質チェック**  
NanoDrop (Thermo Fisher Scientific)で濃度および純度を測定した後、PCRに使用する。



Maxwell® RSC Instrument  
(カタログ番号 AS4500)



処理数 : 1~16検体  
溶出液量 : 標準 50 $\mu$ L  
サイズ : 幅33cmX奥行34cmX高さ30cm  
重量 : 約11kg

製品名	カタログ番号	サイズ	定価 (¥)
Maxwell® RSC Instrument	AS4500	1式	2,800,000
Maxwell® RSC simplyRNA Blood Kit	AS1380	48回分	43,000
Maxwell® RSC Whole Blood DNA Kit	AS1520	48回分	43,000
Maxwell® RSC DNA FFPE Kit - PKK, Custom Kit	AX2500	48回分	41,000
Maxwell® RSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit	AS1330	48回分	48,000