

# Maxwell<sup>®</sup> RSC DNA FFPE Kit (カタログ番号 AS1450)

## 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
- (オプション：一晩のインキュベーションを行う場合) 70℃設定のヒートブロック
- ボルテックスミキサー
- ピペットマン(P-20、P-200、P-1000)とそれらのピペットチップ

### 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、0.02~2.0mm<sup>3</sup> (例：10μm厚で、0.2~2cm<sup>2</sup>のサイズ)を使うことができます。
2. 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。
3. 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のmaster mixを調製する。
4. 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

5. 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。
6. 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攪拌してください。
7. サンプルチューブを56℃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。

8. A. サンプルチューブを80℃のヒーティングブロックに移し、4時間のインキュベーションを行う。  
B. (オプション) サンプルチューブを70℃のヒーティングブロックに移し、一晩 (14~18時間)のインキュベーションを行う。  
  
※ 0.1mm<sup>3</sup>以下の微量サンプルを処理する場合、70℃で一晩のインキュベーションは非推奨です。サンプル量が少ないために、一晩のインキュベーションで十分なDNA濃度が得られない場合には、80℃、4時間インキュベーションの標準的な方法を選択してください。
9. 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。
10. 水層(青色)の部分に、10μlのRNase A Solutionを加え、ピペティングで攪拌する。
11. 室温(15~30℃)で5分間のインキュベーションを行う。
12. 最高スピードで5分間の遠心を行う。  
  
\* 遠心の際に、“カートリッジの準備” (1)まで準備しておく。
13. 水層(青色)の部分を迅速に、Maxwell RSCのカートリッジのウエル #1に移す。

## カートリッジの準備

1. 検体数分のカートリッジをMaxwell<sup>®</sup> 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ッというまで、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<sup>®</sup> 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『FFPE DNA/AS1450』を選択する。
5. Maxwell<sup>®</sup> RSC/CSC Deck Trayを、Maxwell<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> Instrumentのドアを開け、Elution Tubeのフタを閉める。
2. Maxwell<sup>®</sup> RSC/CSC Deck Trayを取り出し、Elution Tubeを適切に保管する。
3. Maxwell RSC<sup>®</sup> 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](mailto:prometec@jp.promega.com) · Tel: 03-3669-7980 · Fax: 03-3669-7982