

Maxwell[®] RSC FFPE Plus DNA Kit

(カタログ番号 AS1720) 簡易マニュアル

ご用意いただくもの

- 1.5ml遠心チューブ
- 70℃設定のヒートブロック
- ボルテックスミキサー
- 微量高速遠心機
- ピペットマン(P-20、P-200、P-1000)とそれらのピペットチップ

試薬の調製、およびカートリッジの用意

Proteinase K Solution (ストック用)の調製

1. 500μlのNuclease-Free Waterを凍結乾燥品のProteinase Kに加える。

溶解したProteinase K溶液は20μg/μlになります。

溶解後は、小分けして-20℃保存していただければ、2年程度は安定して保存できます。

5回の凍結・融解を行っても、顕著な活性低下は認められません。

使用前、Proteinase Kは氷上で融解および保管してください。

サンプルの前処理のプロトコール

1. FFPE切片をサンプルチューブに移す。

- ※ FFPEは、トータルで2mm³まで(5~10μm厚で、20~200mm²のサイズ)を使うことができます。
- ※ 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。
- ※ パラフィンの量が多い場合、手順4および5の時点で再凝固する場合があります。上記のように、パラフィンをそぎ落とす、または、ミネラルオイルで脱パラフィン処理を行うなど、パラフィン量を減らす前処理を加えてください。

2. 遠心により、サンプルをチューブの底に集める。20μlのProteinase K Solutionと180μlのIncubation Bufferを加える。

この時点で、FFPE全体がProteinase K反応液に浸らないこともあり得ます。

3. キャップを開け、70℃で1時間からオーバーナイトでインキュベーションする。
 4. ヒートブロックから取り出し、400μlのLysis Bufferを加え、短時間のボルテックスにより攪拌する。
 5. Maxwell[®] RSC Instrumentでの処理まで、室温にて保管しておく。
- 処理後のサンプルは冷蔵および冷凍で保管せず、室温にて保管してください。

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ッというまで、しっかりとセットする

注意：カートリッジの側部に鋭利な箇所がありますので、取扱いには十分ご注意ください。

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が一番下までグッと強く押し込んでください。

また、Elution Tubeのフタは絶対に閉めないでください。

3. カートリッジのウェル8に、プランジャーを置く。

4. 全量(約600µl)のライゼートをカートリッジのウェル1に添加する。

ウェル1は最も大きなウェルです。カートリッジラベルに一番近く、Elution tubeからは最も遠い位置にあります。



5. Maxwell RSC Instrumentを起動し、STARTから『FFPE Plus DNA/AS1720』を選択する。
6. 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。