

Maxwell[®] RSC DNA FFPE Kit – PKK, Custom

(カタログ番号 AX2500) 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
- 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. 500 μ l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20 μ g/ μ l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、1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。

※ デモ用キットについては、すでに常温保存可能な溶液タイプのProteinase K Solutionを同封しています。そのままご利用いただけますので、デモ用キットでは、この調製の手順は不要です。

1日目の工程

サンプルの前処理のプロトコール

1. FFPEサンプル(5 μ 厚、1~10枚)を、1.5ml遠心チューブに入れる。
2. 遠心により、サンプルをチューブの底に集める。20 μ lのProteinase K Solutionと180 μ l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. キャップを閉め、70℃で1分間インキュベーションする。
4. パラフィンが溶けていることを確認の上、ボルテックスで攪拌した後、遠心により溶液を1.5ml遠心チューブの底に落とす。
5. 再度、70℃のヒートブロックにセットし、一晩のインキュベーションを行う。
1時間のインキュベーションでも良好な結果が得られる場合もありますが、サンプルのタイプや状態に大きく依存します。

2日目の工程

1. ヒートブロックから取り出し、450 μ lのLysis Bufferを加え、短時間のボルテックスにより攪拌する。
ヒートブロックから取り出した後、室温に放置しておく、パラフィンの量しだいで、再凝固することがあります。
2. 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

3. 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。

4. 同数のElution Tubeをセットし、50 μ lのElution Buffer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。

5. カートリッジのウエル8に、プランジャーを置く。
6. 全量(約600 μ l)のライゼートをカートリッジのウエル1に添加する。

ウエル1は最も大きなウエルです。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。



7. Maxwell RSC Instrumentを起動し、Startから『FFPE DNA-PKK, Custom/AX2500』を選択する。
8. 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。