

# かわら版

Promega

KAWARABAN

## 核酸精製、どうしてる？

特集 Maxwell® RSC 使いの達人に教わる  
困難サンプルの鉄板ラボ内プロトコル



プロトコル  
1 クローズアップ解説  
～ FFPE 作製から  
NGS グレードの DNA 抽出まで～  
2-3 ページ



プロトコル  
2 不均一な野外植物、  
多検体からの安定した  
核酸抽出のポイント  
4 ページ



プロトコル  
3 じつは難しい  
イチゴの葉からの  
RNA 抽出  
5 ページ

素材のはなし ～シリカとセルロースの蘊蓄話～ 7 ページ  
定量上手は実験上手! 核酸定量女子トーク 7 ページ  
新しい解析受託サービスがやって来る 8 ページ

野外植物

イチゴ

FFPE

# Maxwell® RSC 使いの達人に教わる 困難サンプルの 鉄板ラボ内プロトコール

プロトコール

1

## クローズアップ解説 ～FFPE 作製から NGS グレードの DNA 抽出まで～



慶應義塾大学医学部 腫瘍センター  
ゲノム医療ユニット

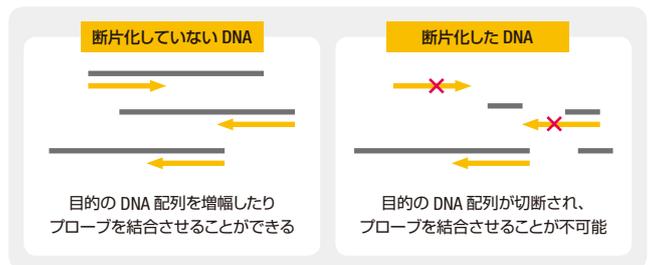
西原 広史 先生

慶應義塾大学病院は 2018 年に“がんゲノム医療中核拠点病院”として厚労省の認定を受けました。自費診療による受託臨床検査として 160 遺伝子の異常を調べる「PleSSision 検査」、院内で腫瘍切除を行う 20 歳以上を対象とした臨床研究「PleSSision-Rapid 検査」を行っています。さらに 2019 年から、ヒトのほぼすべての遺伝子に該当する約 2 万遺伝子を解析する「PleSSision-Exome 検査」を導入しました。高い精度でがん遺伝子異常を捉え、治療に関連する情報を効果的に提供することが期待できます。現在では、ひと月約 160 検体のがんゲノム解析を行っており、約 40 のがんゲノム医療連携病院とともにがん患者様に有用なゲノム情報をフィードバックしています。

### ＼ここが肝心！／

NGS は患者の核酸塩基配列を 1 塩基ずつ読み取り、遺伝子の変異を見つけ出します。検査感度が非常に良いため、少量の検体からでも検査は可能です。

しかし、検体の品質が不良の場合は解析困難や正確な解析結果が得られない可能性が高くなるため、ゲノム DNA の品質が重要となります。また FFPE はホルマリン固定による DNA ダメージもあるため、いかに高品質かつ高純度な DNA を抽出するかが肝となります。



### FFPE から次世代シーケンス (NGS) グレードのゲノム DNA を抽出するためのポイント

#### 1 日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」に準じて FFPE 作製を!

現在、がんゲノム医療では病理診断が行われたホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 切片から核酸を抽出し、ゲノム解析を行っています。ホルマリンは DNA を断片化することや、クロスリンクが形成されるため、断片化が激しい DNA や、過剰なクロスリンクを有する DNA は PCR 増幅やゲノム解析が困難となります。

つまり、FFPE を用いての遺伝子関連検査の結果は、ホルマリン固定の条件により大きく左右されるのです。

#### ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程

1. 組織は摘出後 1 時間以内 (遅くとも 3 時間以内) に固定
2. 10% 中性緩衝ホルマリンを使用
3. 6 ~ 48 時間固定
4. 硬組織は EDTA 脱灰

#### 2 高品質かつ高純度な DNA を抽出するために Maxwell® RSC Instrument とその専用試薬である Maxwell® RSC DNA FFPE Kit を採用

基本的に抽出する原理は同一ですが、磁気 (シリカ) ビーズ法はスピニング法でみられる“目詰まり”がなく、高い洗浄力を示すため、純度や濃度の高い DNA を得ることが可能です。

FFPE からの DNA 抽出においては、高純度かつ PCR 阻害を受けない DNA を得るために、脱パラフィン・組織溶解・脱クロスリンク・RNA 除去などの前処理が重要です。

Maxwell® RSC DNA FFPE Kit には、それぞれに最適な試薬がすべて含まれています。さらに、ライセートに含まれる DNA を単離するために、広く使われているスピニング法に対して、Maxwell® では、磁気 (シリカ) ビーズ法を採用しています。

## Maxwell® RSC を使うには理由がある

Maxwell® RSC は 1 ~ 16 個のサンプルから同時に核酸精製できる装置です。多検体処理時の労力削減だけでなく、①結果のバラツキを低減でき、②研究時間を創出し、③ヒューマンエラーを抑制できるという利点のため、多くのラボでサンプルが数個の場合でも利用されています。

### 20 種類以上のアプリケーション

DNA、RNA はもちろんのこと、ccfDNA や miRNA 抽出も可能です。均一な培養細胞から複雑な環境サンプルまで様々なサンプルからの精製実績があり、幅広い研究をカバーできます。さらに、核酸精製が困難なサンプルでお悩みの方には、弊社で精製条件を検討するサービスも提供しています (6 ページ参照)。



Maxwell® RSC (カタログ番号 AS4500)

### 目詰まり問題が存在しない精製システム

プレバックのカートリッジ式専用試薬を用い、サンプル中の核酸を磁性体ビーズに結合させ、プランジャーで磁性体ビーズを移動させて精製します。粘性サンプルや夾雑物を含む精製困難なサンプルでも、詰まることなくスムーズに精製できます。



## ラボプロトコール

### 1 HE 染色作製

- FFPE 作製
- 薄切 **A**
- 染色

### 2 マッピング

- 【病理医】
- トリミング範囲を決定 **B**
- 腫瘍細胞含有率を算出

### 3 トリミング

- 10 μm 厚でノンコートガラスに未染標本を 5 枚作製
- マッピングに合わせて腫瘍部を削り取り 1.5 mL チューブに採取 **C**
- トリミングが不要の場合は 10 μm 厚のロールを直接チューブに採取

### 4 DNA 抽出：前処理

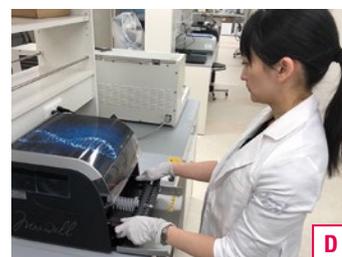
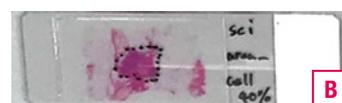
- Maxwell® RSC FFPE kit (カタログ番号 A1450) を使用
- FFPE 検体の入った 1.5 mL チューブにミネラルオイルを 400 μL 添加
- 80℃のヒートブロックで 2 分⇒パラフィン溶解
- 1 分加熱後、Proteinase K master mix 溶液 (青) を 250 μL 加え混和⇒ 12000 x g 30 秒遠心
- 56℃で 30 分間組織溶解後、80℃で 4 時間インキュベート
- 室温に戻し RNase10 μL 加え 5 分放置 ⇒ 12000 x g 5 分遠心

### 5 DNA 抽出：精製

- Maxwell® のプレートにカートリッジをセット
- 抽出用チューブに Kit 付属の Elution 水 50 μL を入れる
- カートリッジの第 1 槽目に前処理の水層 (青色液部) を全量移す
- 第 8 槽目にプランジャーを入れて、Maxwell® RSC 本体にセット **D**
- プログラムを選択し、精製スタート⇒約 40 分強で DNA 抽出液完成

### 6 品質チェック

- 濃度 (ng/μL) 測定: Qubit
- DIN 値測定: テープステーション
- この後、Library 作製などに使用



### 磁気 (シリカ) ビーズ法とスピнкаラム法の比較



磁気 (シリカ) ビーズ法  
Maxwell® RSC DNA FFPE Kit



スピнкаラム法

| No. | 概算面積 | Maxwell® RSC Instrument<br>(自動核酸抽出装置) |          |       | 他社 DNA 抽出カラム<br>(用手法) |          |       |
|-----|------|---------------------------------------|----------|-------|-----------------------|----------|-------|
|     |      | DIN                                   | A260/280 | ng/μL | DIN                   | A260/280 | ng/μL |
| 1   | 16   | 4.2                                   | 1.94     | 3.96  | NA                    | 2.18     | 2.34  |
| 2   | 49   | 4.6                                   | 1.48     | 4.68  | 3.2                   | 2.25     | 2.02  |
| 3   | 150  | 1.7                                   | 1.99     | 42.2  | 1.8                   | 1.96     | 36.2  |
| 4   | 360  | 2.1                                   | 2.14     | 13.4  | 1.9                   | 2.00     | 14.9  |
| 5   | 1080 | 2.7                                   | 1.82     | 29.8  | NA                    | 2.01     | NA    |

\* DIN : DNA の断片化を表す指標。断片化が進む程、小さい値を示す。

プロトコール  
2

# 不均一な野外植物、 多検体からの安定した核酸抽出のポイント



龍谷大学 農学部 植物生命科学科  
情報生物学研究室

永野 惇 先生

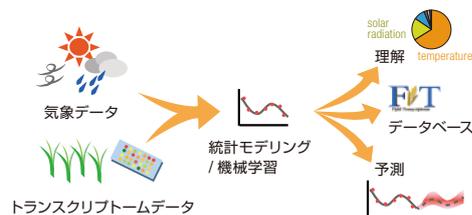
分子生物学の多くの研究は、実験室で育てた生物を材料として行われています。しかしながら、生物は野外環境において生育し、進化してきました。いうまでもなく、野外環境では複数の環境要因が同時に、かつ複雑に変化します。

これは、コントロールされたシンプルな環境である実験室とは大きく異なった環境です。そのため、実験室で取られたデータだけでは野外における実際の生物のふるまいを理解することは困難であり、分子生物学を現実の諸問題解決に十分生かすことができていない原因になっています。そこで我々のグループでは、野外環境下で多数のサンプルからトランスクリプトームデータを取得し、それらのデータと気象データを合わせて統計モデリングを行うことで、この問題に挑んでいます。例えば、水田のイネを用いた研究では、気温などの環境要因へのトランスクリプトームの応答を定量的に明らかにするとともに、栽培期間の任意のタイミングでのトランスクリプトームを気象データから予測することを可能としました (図1、Nagano *et al.*, (2012), *Cell*)。

## ここが難しい!

野外では環境要因が複雑に変動するため、数百から数千ものサンプルを用いて、統計モデリングを行う必要があります。一方で、野外サンプルの多くは、実験室と比べ、極めて不均質です。そのため、均質ではない多検体サンプルから安定して RNA 抽出することが重要な課題でした。

多検体用の 96 ウエルフォーマットの抽出キットもありますが、不均質なサンプルによる前処理工程の煩雑さに加え、マニュアル操作による人為的なミスなどが重なり、安定した RNA 抽出を実現することは至難の業でした。



Nagano *et al.*, (2012) *Cell*

図1. 野外トランスクリプトームデータと気象データのモデル化  
これによって実際の野外環境下における環境応答をトランスクリプトームレベルから理解できる。また、任意の気象条件下のトランスクリプトームの予測が可能となる。

## 野外植物から次世代シーケンス (NGS) グレードの DNA・RNA を抽出するためのポイント

### 1 Maxwell® RSC Instrument の活用

Maxwell® RSC Instrument では、1) 強力な洗浄が行え、かつ、2) 夾雑物の吸着が少ない磁性体セルロースビーズを採用しています。夾雑物の多い特殊な植物からでも純度の高い核酸を得ることができます。

また、自動化されているため、マニュアルで抽出していたころと比べて、失敗が減り、非常に安定した収量が得られるようになりました。プロメガでは、機器の貸し出しプログラム "RentaMAX" を実施しています。試薬購入だけで Maxwell® RSC Instrument を使えるので、一度試してみたいかかでしょうか。

プロメガでは、上記のサービスを実施しているので、あまり分子生物学を得意としない共同研究先にも導入を勧めやすいと感じています。実際、Maxwell® RSC Instrument は、分子生物学実験に慣れていない学生などでも NGS 解析グレードの核酸を安定的に抽出できるので、いくつかの共同研究先でも利用されるようになりました。

### 2 難しいサンプル検討サービスの活用 (前処理方法の最適化)

植物のみならず、真菌、細菌などでは、モデル動植物とは異なり、核酸抽出のために、特徴的な前処理工程が必要な場合があります。

プロメガでは、核酸抽出が困難なサンプルでの前処理工程などを、豊富な経験と論文情報に基づいて、最適な条件を提案および検討してもらえます。

## ラボプロトコール

### 1 植物育成、サンプル採取

- 試験農場にてイネの葉を採取
- 迅速に液体窒素で冷凍し、保管

### 2 サンプル破碎

- 溶かさないように注意しながら 50 mg を分取
- ビーズ破碎

### 3 ライセート作製

- Maxwell® RSC Plant RNA Kit (カタログ番号 AS1500) を使用
- 破碎用チューブに、Homogenization Buffer 200  $\mu$ L 添加
- ボルテックスを用いて、十分に攪拌
- さらに、Lysis Buffer 200  $\mu$ L 添加し、ボルテックスで攪拌

### 4 RNA 抽出

- Maxwell® RSC の Deck Tray にカートリッジをセット
- 抽出用チューブに Nuclease-Free Water 50  $\mu$ L を入れる
- カートリッジの第 1 槽目に作成したライセートを全量移す
- 第 8 槽目にプランジャーを入れて、Maxwell® RSC 本体にセット
- プログラムを選択し、精製スタート  $\rightarrow$  約 50 分強で RNA 抽出液完成

### 5 核酸の品質チェック

- 濃度 (ng/ $\mu$ L) 測定: Qubit
- 品質チェック: BioAnalyzer
- この後、Library 作製などに使用

参考文献

Nagano, A.J., *et al.* (2012) Deciphering and prediction of transcriptome dynamics under fluctuating field conditions. *Cell* 151, 1358-69.

プロトコール  
**3**

# じつは難しい イチゴの葉からの RNA 抽出



岡山県農林水産総合センター  
生物科学研究所 植物活性化 G

鳴坂 真理 先生

作物の病害虫防除は殺菌および殺虫性の化学合成農薬に大きく依存しているが、国民の環境保全意識の高まりから環境低負荷型の病害虫防除技術の開発が求められている。一方で、病害虫の薬剤耐性の発達が深刻化しており、この状況を放置すれば使用できる薬剤の枯渇が懸念されている。

このように病害虫により食料の安定供給が脅かされている中、早急な対策が求められている。そこで、植物が本来備えている病原体に対する抵抗力（植物の免疫力）を人為的に高める技術を開発し、病害の感染を防ぐ革新的な技術の開発をめざしている。特に、国内外で商品価値が高いイチゴについて、抵抗性誘導剤の開発による重要病害のイチゴ炭疽病の防除は急務であるが、イチゴの誘導抵抗性（免疫）に関する情報および知見は十分ではない。そこで、イチゴのゲノム情報を利用し、イチゴの抵抗性誘導機構を遺伝子発現レベルで解析するため、イチゴから高品質の RNA を調製する簡易抽出法を紹介する。本法により、得られた RNA からマイクロアレイ、リアルタイム PCR および RNA-Seq など多岐にわたる遺伝子発現解析が再現よく実施できている。

## ここを解決!

- イチゴの組織は RNA 抽出を阻害し、その後の実験操作でも阻害の原因となる様々な成分を含んでいる。特に、タンニンを含むポリフェノール類や多糖類を多く含むことから、一般的な抽出方法や市販の抽出キットでは、リアルタイム PCR、RNA-Seq およびマイクロアレイ等の実験に使用できる高品質の RNA の抽出は困難である。
- 特別な技術や準備を必要とせず、専門知識を有していない実験補助員などでも簡単に短時間で高品質な RNA を抽出できる方法が望ましい。



コルクボーラー No.3  
4枚を 2 mL チューブへ



## イチゴの葉から、リアルタイム PCR、RNA-Seq、マイクロアレイに適した RNA を抽出するためのポイント

- コルクボーラー No.3 を用いて 3-4 枚の葉片をサンプルとする(右上写真・図)。サンプル量が多すぎると、PCR 阻害の原因となる成分の混入を引き起こす。
- なるべく若い葉からサンプリングする。特に圃場栽培のイチゴでは、直径 5 cm 程度の展開第 1 葉がよい。
- 葉の部位によって遺伝子発現が異なるので、サンプリング位置を変え、各小葉からまんべんなくサンプリングする。
- 抽出前の前処理として、サンプルを液体窒素で凍結させて、乳鉢 / 乳棒またはビーズ破砕機でパウダー状になるまで破砕する。

## ラボプロトコール

### 1 サンプリング

コルクボーラー No.3 を用いて 3~4 枚の葉片をサンプリングし、2 mL チューブに移す。すぐに液体窒素で凍結する。

### 2 サンプル破砕

凍結した状態を保ちつつ、ビーズ破砕機または乳鉢 / 乳棒でパウダー状になるまで破砕

### 3 RNA 抽出: 前処理

- 氷冷した 1-thioglycerol / Homogenization Buffer 600  $\mu$ L を加え、よくボルテックスで攪拌
- 遠心 (15,000 rpm, 4 $^{\circ}$ C, 2 分)
- 上清 400  $\mu$ L を新しいチューブに移し、Lysis Buffer 200  $\mu$ L を加え、1 分間のボルテックスで攪拌

### 4 RNA 抽出: 精製

3 から 400  $\mu$ L を Maxwell® RSC カートリッジ (カタログ番号 AS1340) に加え、核酸自動抽出を実施

### 5 品質チェック

- NanoDrop での測定
- リアルタイム PCR、RNA-seq、マイクロアレイでの解析に使用

## 実施例

第 1 展開葉を 3-4 枚程度をサンプリングすることにより、100 ng/ $\mu$ L 以上の濃度の高品質な RNA を抽出することができました。このレベルの高濃度な RNA を得ることができれば、リアルタイム PCR や RNA-Seq へ適用しやすくなります。

表-1 イチゴ葉ディスク数による total RNA の収量および純度 (第 2 展開葉より調製)

|           | 2 枚              |             | 3 枚              |             | 4 枚              |             |
|-----------|------------------|-------------|------------------|-------------|------------------|-------------|
|           | 濃度 (ng/ $\mu$ L) | 260/280     | 濃度 (ng/ $\mu$ L) | 260/280     | 濃度 (ng/ $\mu$ L) | 260/280     |
|           | 46.2             | 1.86        | 76.6             | 1.93        | 143.9            | 1.94        |
|           | 45.7             | 1.95        | 80.9             | 1.90        | 147.5            | 1.94        |
|           | 46.5             | 1.91        | 81.9             | 1.92        | 163.7            | 1.92        |
| <b>平均</b> | <b>46.1</b>      | <b>1.91</b> | <b>79.8</b>      | <b>1.92</b> | <b>151.7</b>     | <b>1.93</b> |

コルクボーラー No.3 を用いてイチゴ葉 (品種: 女峰) からディスクを作製し、total RNA を Maxwell® RSC 装置で調製した。

表-2 イチゴの葉位の違いによる total RNA の収量および純度 (ディスク 4 枚)

|           | 第 3 展開葉          |             | 第 4 展開葉          |             |
|-----------|------------------|-------------|------------------|-------------|
|           | 濃度 (ng/ $\mu$ L) | 260/280     | 濃度 (ng/ $\mu$ L) | 260/280     |
|           | 141.20           | 1.79        | 812.40           | 1.90        |
|           | 182.60           | 1.79        | 636.30           | 1.94        |
|           | 187.80           | 1.79        | 707.70           | 1.95        |
| <b>平均</b> | <b>170.53</b>    | <b>1.79</b> | <b>718.80</b>    | <b>1.93</b> |

コルクボーラー No.3 を用いてイチゴ葉 (品種: 女峰) からディスクを作製し、total RNA を Maxwell® RSC 装置で調製した。

上記のように調製後の RNA 濃度が十分に高く、さらに高品質であるのみならず、Maxwell® には優れた特長があります。1 点目は、試薬および機器の操作が非常に単純である点です。また、専門知識を有していない実験補助員でも容易に使えることは大きなメリットです。2 点目はほぼメンテナンスが不要なことです。使用間隔が開いた場合、どうしても機器には不具合が起こりがちです。Maxwell® は非常に単純な作りのため、久しぶりに使うときでさえ、メンテナンスを行うことなく、すぐに立ち上げができます。同様の理由から、日常のメンテナンスも拭くだけでとても簡単です。最後に、機器のサイズが非常に小さいことが挙げられます。A4 サイズの紙より少し大きいぐらいですから、どこにでも置けますし、一人でも簡単に移動させることができます。非常に便利な機器なので、ご利用いただく価値のある製品としてお薦めします。

次は皆様のラボで鉄板プロトコルを!

- 1 粘性サンプルや夾雑物を多く含むサンプルなど、手ごわいサンプルからでも核酸精製の実績あり
- 2 多くの実績について、ホームページ上で精製プロトコルを公開中
- 3 機器の無償貸出しサービス「RentaMAX」でMaxwell® RSC を借り、プロトコルをテスト可能



RentaMAX コンサルティング & 貸出プログラム

Maxwell® RSC をお持ちでない方は、無償貸出しサービスをご利用いただけます。詳細は以下をご覧ください。

[www.promega.co.jp/rentamax/](http://www.promega.co.jp/rentamax/)

| 植物 | 果実   | 根                                     | 葉   |
|----|--|---------------------------------------|---|
|    | <b>DNA</b><br>ブドウ                            | <b>DNA</b><br>カカオ                     | <b>DNA</b><br>リンゴ   |
|    | <b>RNA</b><br>マンダリンオレンジ<br>イチゴ<br>トマト        | <b>RNA</b><br>シロイヌナズナ<br>コメ           | <b>RNA</b><br>ブルーベリー<br>レタス<br>チェリー<br>コーヒー<br>イチジク                           |
|    | <b>種子</b><br><b>DNA</b><br>カカオ<br>コーヒー<br>コメ | <b>その他</b><br><b>DNA</b><br>茎頂部<br>藻類 | セージ (ハーブ)<br>ローズマリー (ハーブ)<br>タイム (ハーブ)<br>スギ<br>ヒノキ<br>カラマツ<br>モモ<br>カキ<br>コメ |
|    | <b>花</b><br><b>RNA</b><br>トレンシア              |                                       | シロイヌナズナ<br>小松菜<br>カキ<br>ラズベリー<br>バラ<br>ホウレンソウ<br>イチゴ<br>ジャガイモ<br>トマト<br>イチジク  |

| 動物 | ヒト   | マウスやその他の動物  |
|----|--|---|
|    | <b>DNA</b><br>全血<br>口腔内スワブ<br>パフィーコート<br>培養細胞<br>FFPE<br>唾液 (Oragene)<br>唾液 (GeneFix)<br>唾液 (DNAguard)<br>うがい液 | <b>DNA</b><br>組織全般<br>血液<br>尾 (前処理不要)                         |
|    | <b>ccfDNA</b><br>脳せき髄液<br>血漿 (~1 mL)<br>血漿 (1 ~ 4 mL)<br>尿   | <b>RNA</b><br>皮膚<br>筋肉<br>肝臓<br>肺<br>小腸<br>脾臓<br>TRIzol の水層画分 |
|    | <b>cfRNA</b><br>脳せき髄液<br>血漿<br>尿   |   |
|    | <b>miRNA</b><br>濃縮したエキソソーム   |   |
|    | <b>RNA</b><br>全血<br>培養細胞<br>FFPE<br>毛根細胞<br>組織全般<br>血小板<br>うがい液  |   |

| 細菌 | 均一なサンプル  | 加工食品   | ウイルス   |
|----|--|--|--|
|    | <b>DNA</b><br>枯草菌<br>大腸菌<br>細菌全般                                   | <b>DNA</b><br>バーベキューソース<br>ビスケット<br>チーズ<br>コーンチップス<br>挽いた黒コショウ<br>アイスクリーム<br>ケチャップ<br>マヨネーズ<br>粉ミルク<br>餅<br>フレンチドレッシング | <b>DNA</b><br>血液<br>血漿・血清                          |
|    | <b>メタゲノム・食品</b><br><b>DNA</b><br>ヒト糞便<br>ヒト皮膚表面<br>キムチ漬け汁<br>マウス糞便 |  | <b>RNA</b><br>血漿・血清                                |
|    | <b>RNA</b><br>ヒト糞便   |  | <b>RNA</b><br>血液以外<br>ヒト糞便<br>軟体動物<br>牡蠣の中腸線<br>種子 |

精製プロトコルはこちら

[www.promega.co.jp/maxwell\\_applist](http://www.promega.co.jp/maxwell_applist)



## 難しいサンプルからの核酸精製条件検討サービス

プロメガでは、核酸精製条件の検討をサポートするサービスを実施しています。

現代の分子生物学では、糞便や FFPE などの一昔前には思いもよらなかったサンプルからの核酸抽出が一般的となっています。

土壌や河川湖沼に含まれる環境 DNA、樹木および食品などサンプルの多様性が拡大しています。これらはモデル動物やモデル植物ではないため、精製の諸条件検討が必要です。核酸精製でお困りの方、こういった難しいサンプルからの核酸精製を弊社スペシャリストが、豊富な経験と試薬の特性から、お客様のためのスペシャルプロトコルを提示し、解決へと導きます。

Maxwell® RSC の試薬リストに記載はなくても、プロメガでは多くのアプリケーション事例があり、右表のような成功事例を挙げる事ができます。お困りのサンプルがあれば、是非ご相談ください。

### 核酸精製が難しいサンプル例

|   |   |
|---|---|
| <b>細菌叢解析</b>  | <b>環境 DNA</b>   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- 糞便 (ヒトおよびマウス)</li> <li>- ヒト皮膚表面拭い液</li> <li>- 腔内拭い液</li> <li>- 口腔内スワブ</li> <li>- うがい液</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 土壌細菌</li> <li>- 根に付着する細菌</li> <li>- 河川湖沼の細菌やウイルス</li> <li>- 活性汚泥の細菌</li> </ul> |
| <b>植物</b>   | <b>品質管理の用途</b>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- 樹木由来 (樹皮・葉など)</li> <li>- 生薬類</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 食品</li> <li>- 食品に含まれる細菌</li> <li>- マイコプラズマ否定試験</li> </ul>                      |

### サービスの流れ



お問い合わせ・お申込みはこちら

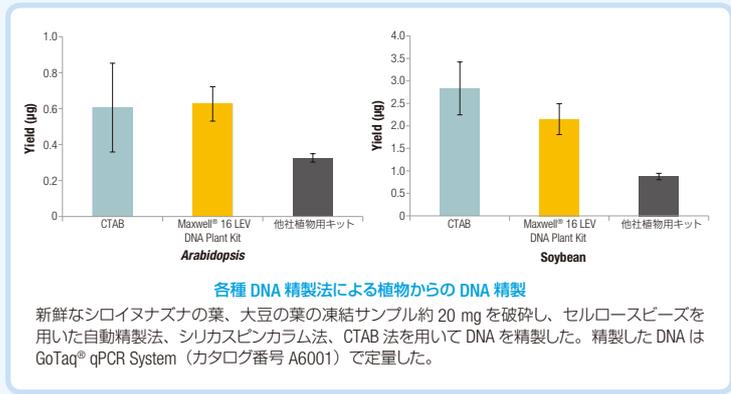
[www.promega.co.jp/terakoya/](http://www.promega.co.jp/terakoya/)



核酸を結合するマトリックスの中で、おそらくシリカは最もよく知られたものでしょう。シリカによる核酸分離は、カオトロピック塩の存在下でシリカと核酸が結合する性質を利用した技術です。従来の有機溶媒を用いた手法より手軽さや安全性の面で優れているため、市販される多くの核酸精製システムにはシリカビーズやメンブレンが広く利用されるようになりました。プロメガ製品であれば Wizard® シリーズ、一部の Maxwell® RSC カートリッジ試薬がこれに該当します。

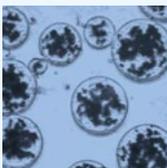
一方、Maxwell® RSC カートリッジ試薬に含まれる磁性体ビーズの過半数はシリカではなくセルロースビーズです。セルロースと核酸は塩やアルコール存在下で結合することが知られていますが、意外にもその詳細な結合メカニズムはシリカほど正確にわかっていないようです。この多孔質のセルロース磁性体ビーズは比表面積が高く、核酸結合容量が大きいので、少量のビーズで十分な収量を得ることができます。ビーズが少量のため、ビーズの洗浄がしっかりと行えるので、不純物を高効率に除去することができます。

実例として、植物サンプルの場合ではシリカベースの精製法と比べ、約2倍の高い収量、CTAB法に比べ同等の収量が安定して得られています(図および1, 2)。また、セルロース磁性体ビーズを使用した自動精製法では、シリカのメンブレンを用いた方法に比べ得られた血漿DNAからのがん特異的変異の検出率が改善されたという報告もあります(3)。



それではシリカをやめてすべてセルロースにすればよいのでは、と思われるかもしれませんが、シリカの優位点は、カオトロピック塩の溶液がサンプルを溶解するため、基本的にサンプル溶解の前処理は必要ですが、一部のキットでは、サンプルを直接 Maxwell® のカートリッジに加えることができる、つまりサンプル溶解の前処理を省くことができます。セルロースでは溶解、Proteinase K 処理といった前処理が必要なプロトコルが基本になります。

このように、プロメガは、シリカやセルロースを使い分けて、サンプルごとに最適な試薬を設計しています。さらに、それらの精製試薬ごとに、Maxwell® RSC Instrument でも最適なメソッドを自社で開発しています。Maxwell® RSC の機器と試薬が優れた収量と純度を実現できる秘密のひとつをご紹介します。



セルロースビーズ近影

参考文献

1. Moeller, J.R., et al. (2014) Paramagnetic Cellulose DNA Isolation Improves DNA Yield and Quality Among Diverse Plant Taxa. *Appl Plant Sci.*, 2(10): 1400048
2. Grooms, K. Review: Improved DNA Yield and Quality from Diverse Plant Taxa. Promega Corporation Web site. <http://www.promega.jp/resources/pubhub/maxwell-plant-dna-kit-improves-yield-and-quality/> Updated March 2015; tpub 162.
3. Nakashima, C., et al. (2018) Automated DNA extraction using cellulose magnetic beads can improve EGFR point mutation detection with liquid biopsy by efficiently recovering short and long DNA fragments. *Oncotarget.* 9(38): 25181–25192.

## ♪ 定量上手は実験上手! ♪

# 核酸定量女子トーフ



核酸実験では、核酸を精製することが目的ではなく、精製した核酸を用いて解析をすることが目的よね。精製方法の検討も重要だけど(Maxwell® 活用して!)、解析の成功には精製した核酸の「量」と「品質」を正しく評価することがとっても重要な! なんで? って、それじゃあそれぞれの大切さをあなたに説明差し上げるわ。

**1 量** 精製した核酸がそもそも目的のアプリケーションに十分な量があるかどうか知る必要があるのは当たり前よね。でも精製した核酸の濃度を誤って見積もってしまったら、後の実験の成功やデータの正確性に影響する恐れがあるわ。だから精製した核酸濃度はできるだけ正確に測定したほうがいいのよ。吸光度測定は簡単に濃度測定できるからみんな使ってると思うけど、感度が不十分だったり不純物が含まれていたら正確に濃度測定できないの。濃度測定では蛍光測定法を使うのがおすすめ! プロメガにも QuantiFluor® という蛍光濃度測定試薬があるわ。qPCR 実験のガイドラインをまとめた MIQE でも RNA 結合蛍光色素の使用が推奨されているわ。え、MIQE ってなに? MIQE を知らないし論文文化の時にマズイ時代が迫っているのよ! ゾクッとしたそこのあなた、今すぐプロメガの MIQE セミナー(無償)を依頼して、MIQE のこと正しく知る?

**2 品質** 純度と分解度をちゃんと知ることが重要な。純度は吸光度測定で A260/A280 と A260/A230 から見積もることができるわよね。もしこれらの比が適正範囲内から外れちゃったら、不純物が含まれている可能性が高いし、正確な濃度がわからなくなると PCR もかかりにくくなっちゃう恐れあり、注意が必要よ! 核酸も恋愛もピュアに限るわよね。じゃあ純度が悪かったらどうしたらいいの? そんな時は ReliaPrep™ RNA/DNA Clean-Up and Concentration System (カタログ番号 RNA : Z1071, DNA : A2891) がお助けよ! 7 µL 溶出できるって何気にすこくない!? でもね、吸光度測定での純度チェックだけじゃ不十分な時もある。分解度の評価を忘れちゃダメよ。

特に RNA は分解を受けやすいし、分解の程度が異なるサンプルで qPCR 解析すると、本来と異なる結論が導かれることもあるから注意が必要! だから精製した RNA の分解度を適切な方法で確認することが肝要よ! RNA と比べて DNA は比較的安定だけど、分解度をきちんと評価しないと正確な解析ができない恐れもあるわ。特に FFPE サンプルには注意して! ホルマリン固定したサンプルの DNA は断片化していることが多いし、化学修飾の影響や PCR 阻害物質の混入で PCR がかかりにくくなることもある。だから分解度だけでなく PCR にかかるかどうかを事前に確認することも大切! プロメガには ProNex® DNA QC Assay という優れた製品があって、qPCR 装置だけで分解度を評価できるだけでなく「PCR 増幅可能な DNA 濃度」も評価できるから、アプリケーションを確実に成功に導ける可能性が高くなるわ。

精製した核酸の状態を正しく把握することは、その後の解析の成功に極めて重要よ! さらに言えば、NGS とか高価なアッセイをお考えのあなた、精製した核酸の状態を正しく見なかったが故に NGS にかかれなかったり、不正確なデータを取ってしまったら、時間と労力とコストの無駄よ! 品質確認って地味よね、でもすごく大切だってことわかってくれたらうれしいな。地味な作業でも大切に思って実験してる人は研究上手よ、まちがいないわだからね、量と品質、適切な方法できちんと評価しよ?

### MIQE セミナー絶賛開催中!

学術部による無償の訪問セミナーです。ラボメンバー全員で MIQE を学びませんか? お問い合わせはプロメガ学術部まで。

E-mail : [prometec@jp.promega.com](mailto:prometec@jp.promega.com)



# 新しい、解析受託サービスがやって来る

ヤア!  
ヤア!  
ヤア!

NEW

前処理・分離分析・解析の一連の工程を独自の専門技術で構築

## 国内初！高網羅的脂質メタボローム解析受託サービス

- 先進的な研究ノウハウを技術展開した医科学向けの次世代メタボローム解析受託サービス
- 遊離脂肪酸の高深度なフォーカシング解析や包括的な親水性代謝物の相対定量解析にも対応
- コンサルティングを含めた充実したフォローアップ体制

www.promega.co.jp/  
metabolome\_jutaku/



| 解析メニュー  | 対象代謝物   | 作業内容   |
|---|---|--|
| <b>脂質代謝物解析</b>                                    |   |  |
| 高深度なノンバイアス（ノンターゲット）スクリーニングによる高網羅的な脂質代謝物の同定・相対定量解析 | 遊離脂肪酸（中鎖～極長鎖型）、リソリン脂質類、リン脂質類、スフィンゴイド類（S1Pを含む）、セラミド類、糖セラミド類（ガングリオシドなど）、グリセロ脂質類（中性脂質など）、グリセロ糖脂質類（MGDG など）、ステロールエステル類（コレステロールエステルなど）、脂肪酸代謝物（アシルカルニチン・CoA など）、リポアミン類（アナンダミドなど）等 | コンサルティング<br>+<br>代謝物抽出<br>+<br>分離分析<br>(メニューにより手法が異なります)<br>+<br>解析レポート（統計解析を含む） |
| フォーカシング（ターゲット）解析：<br>遊離脂肪酸の相対定量解析                 | 飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸  |  |
| <b>親水性代謝物解析</b>                                   |   |  |
| “ワイド”フォーカシング解析：<br>包括的な親水性代謝物の相対定量解析              | アミノ酸および誘導体、有機酸（解糖系-TCA 回路関連物質、短鎖ヒドロキシ脂肪酸等）、核酸、糖、糖リン酸、水溶性ビタミン、補酵素など  |  |

●本サービスはヒト、マウス、微生物（腸内細菌を含む）サンプルを対象としたサービスです。

Coming Soon!!

【今冬開始予定】10X Genomics 社 Chromium system

## 1細胞 RNA-Seq、1細胞 BCR/TCR 解析受託

10X Genomics 社の Chromium system を用いたライブラリー調製から NGS 解析まで承ります。1細胞 RNA-Seq を実施する際、場合によってはサンプル調製後に直ぐにライブラリー調製を行うことが重要になることがあるため、お客様の研究室に試薬と Chromium Controller を持参してライブラリー調製を実施するメニューも企画しております。

Chromium system



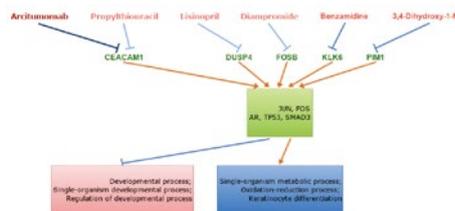
Coming Soon!!

GeneXplain 社の新全自動解析システム「Genome Enhancer」を使用

## オミックスデータ解析サービス

オミックスデータ（トランスクリプトーム、プロテオームなど）から薬物ターゲットとなる主要制御因子を同定、さらに臨床試験で利用 / 試験中の薬物の中から治療薬候補を選別し、影響を与える可能性のある小分子を予測したものを包括的にレポートする解析サービスです。

臨床研究に基づく複数のデータベースを駆使した完全自動化解析システムであり、その結果を科学論文形式（英文）でご提供します。



委託業務実施機関元  
公益財団法人かずさ DNA 研究所



供給元  
株式会社かずさゲノムテクノロジーズ

www.promega.co.jp/e-Service/

日本語 Web site : www.promega.jp

テクニカルサービス • Tel. 03-3669-7980 / Fax. 03-3669-7982 • E-Mail : prometec@jp.promega.com

## プロメガ株式会社

本社 〒103-0011  
東京都中央区日本橋大伝馬町14-15 マツモトビル  
Tel. 03-3669-7981 / Fax. 03-3669-7982

大阪事務所 〒532-0011  
大阪市淀川区西中島6-8-8 花原第8ビル704号室  
Tel. 06-6390-7051 / Fax. 06-6390-7052

※製品の仕様、価格については2019年10月現在のものであり予告なしに変更することがあります。

販売店