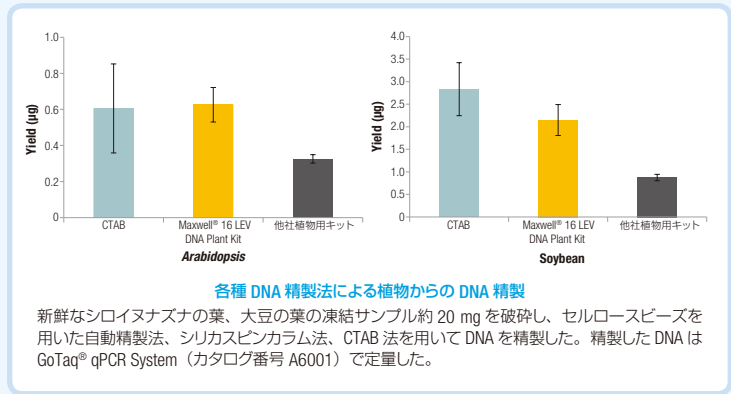


核酸を結合するマトリックスの中で、おそらくシリカは最もよく知られたものでしょう。シリカによる核酸分離は、カオトロピック塩の存在下でシリカと核酸が結合する性質を利用した技術です。従来の有機溶媒を用いた手法より手軽さや安全性の面で優れているため、市販される多くの核酸精製システムにはシリカビーズやメンブレンが広く利用されるようになりました。プロメガ製品であれば Wizard® シリーズ、一部の Maxwell® RSC カートリッジ試薬がこれに該当します。

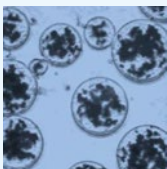
一方、Maxwell® RSC カートリッジ試薬に含まれる磁性体ビーズの過半数はシリカではなくセルロースビーズです。セルロースと核酸は塩やアルコール存在下で結合することが知られていますが、意外にもその詳細な結合メカニズムはシリカほど正確にわかっていないようです。この多孔質のセルロース磁性体ビーズは比表面積が高く、核酸結合容量が大きいので、少量のビーズで十分な収量を得ることができます。ビーズが少量のため、ビーズの洗浄がしっかりと行えるので、不純物を高効率に除去することができます。

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)

