3次元培養ヒト皮膚モデルからの RNA精製

株式会社マンダム
製品評価研究所
河野まおり 先生

2013 年、EU では化粧品および化粧品原料の有用性・安全性評価に動物実験を行うことが禁止され、日本でも化粧品業界などを中心に動物実験が廃止される方向にすすみ、動物実験代替法の開発が進められてきました。マンダムは、動物愛護および 3R（Replacement：動物を用いない方法への置換、Reduction：動物の使用数の削減、Refinement：動物に与える苦痛の軽減）の観点を踏まえ、2005 年にいち早く動物実験代替法開発のための社内体制の強化を図り、動物実験代替法の開発に取り組んでまいりました。現在、製品等の安全性確認は基本的にヒトを用いた試験（パッチテスト、スティンギングテスト等）および動物実験代替法（皮膚一次刺激性や眼刺激性について 3 次元培養皮膚モデルや 3 次元培養角膜モデルを用いた試験法）を活用しています。本稿では 3 次元培養皮膚モデルよりマイクロアレイ発現解析に使用する RNA を精製する際の自動化についてご報告いたします。

Maxwell® RSC Instrument

ここを 解決！

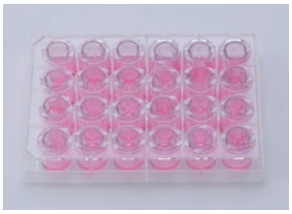
✓ 精製度向上
マイクロアレイを行う際、A260/A280=1.8 以上、A260/230=1.8 以上が求められているが従来のカラム吸着法では、特に A260/A230 の値が 1.0 ととても低く解析にかけられない。

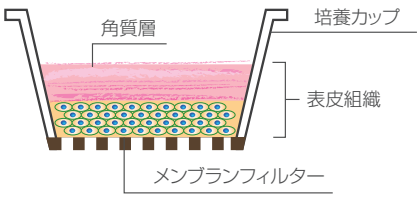
✓ スループット向上
24 穴プレート 2 プレート分でアッセイすることが多く、一度に 50 検体ほど精製する必要があるが、従来法では丸一日精製作業で費やされてしまう。

✓ ブレがほとんどない
作業者によってブレが生じることがあり、安定した結果が得られない。

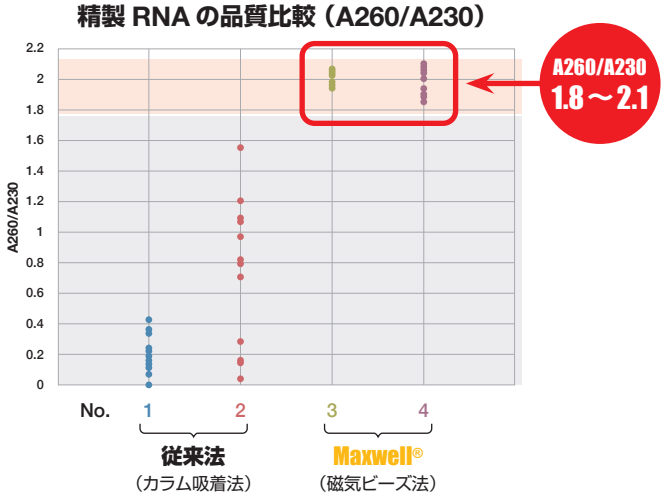
LabCyte EPI-MODEL ヒト正常表皮細胞を重層培養したヒト 3 次元培養表皮モデル

主として実験動物による皮膚刺激性試験の代替材料として開発された LabCyte EPI-MODEL（株式会社ジャパン・ティッシュエンジニアリング社）で培養した細胞より RNA を精製した。





精製 RNA の品質比較（A260/A230）



従来法であるカラム吸着法と Maxwell® による自動精製により回収した RNA の品質評価

マイクロアレイを行う際には A260/A230=1.8～2.1 の基準値があり、従来のカラム吸着法では、A260/A230 の値が基準値よりも低く解析にかけられない状態であった。Maxwell® 自動精製法では A260/A230 値が飛躍的に向上するとともにバラつきも著しく低減された。

ラボプロトコル　超簡単！たったこれだけ！

使用キット　**Maxwell® RSC simplyRNA Tissue Kit**（カタログ番号 AS1340）

① サンプリング
- ヒト皮膚モデル 1 well から皮膚モデルをサンプリング

② サンプル前処理
- 氷冷した 1-thioglycerol/Homogenization Buffer を 200 µl 加え、2～3 分間ボルテックス
- Lysis Buffer 200 µl を加え、1 分間ボルテックス

③ RNA 精製
- 全量 400 µl を Maxwell® カートリッジのウェル 1 に加え、機器にセットする

核酸自動精製装置 Maxwell® RSC

Maxwell® RSC
Instrument
（カタログ番号 AS4500）
2,900,000円（税抜）

Maxwell® RSC 48
Instrument
（カタログ番号 AS8500）
7,000,000円（税抜）

- **ビーズ方式の自動核酸精製システム**
- 専用の試薬カートリッジを用い、NGS グレードの核酸を DNA なら約 30 分、RNA なら約 60 分（DNase 処理含む）で自動抽出 / 自動精製
- **1 検体から最大 16 検体または 48 検体までの同時精製**が可能
- スタートマテリアルの前処理もセットアップも至って簡便
- 遠心器も分注器も搭載せず、**クリーンベンチに入るコンパクトサイズ**

機器がない！　でも大丈夫！
無償貸出サービスのお申込みはこちらから

初心者でも扱いやすい機器 ＋ 高難度なニーズに応える試薬 = 高度な核酸精製

トラブルを低減する堅牢で簡便な精製システム

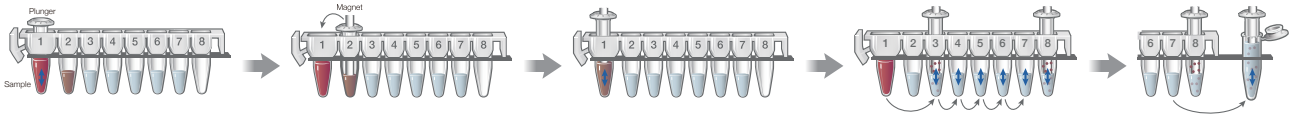
Maxwell® RSC は、核酸を捕捉した磁性体ビーズを溶液中でマグネットロッドに吸着・解離させることで、洗浄や溶出を実施します（下図）。構造がシンプルなため、コンタミリスクを伴うピペッティング法や、特に粘性サンプルによる目詰まりが発生するカラム法と比べ、トラブルに妨げられることなく高品質な核酸が回収できます。機器の操作、メンテナンスも簡単なため、初心者の方でもラクに使いこなせます。

自動核酸精製を成功に導く試薬

Maxwell® RSC の専用試薬キットはサンプルごとに最適なものが選択できるよう、現在 28 種類用意されています。1 つで多種サンプルに対応する試薬は便利な半面、十分な結果が得られず最適化作業に時間を取られてしまうことがしばしばあります。
プロメガは研究者のニーズに応え、自動化のメリットを最大化するため試薬の選択肢を拡充し、さらにスペシャリストが試薬選択や困難な精製のサポートを実施しています。

磁性体ビーズによる精製ステップ

プレパックのカートリッジ試薬



サンプルの混和　ビーズの捕捉　核酸の結合　ビーズの洗浄　核酸の溶出

※ 1 サンプルを 1 カートリッジで処理

自動核酸精製装置 Maxwell® RSC による
様々な核酸抽出事例を公開しています。

日本語 Web site : www.promega.co.jp

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

プロメガ株式会社

本　　社　〒103-0001
東京都中央区日本橋小伝馬町1-5 PMO日本橋江戸通
Tel. 03-3669-7981

大阪事務所　〒541-0051
大阪市中央区備後町4-1-3 御堂筋三井ビルディング
Tel. 06-6202-4581

※製品の仕様、価格については 2024 年 11 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

PK2411-01B