

PAXgene[®] Tissue

The better the source, the more to explore.

同一組織から
2種類の解析



PAXgene Tissue System
Explore more at www.PreAnalytiX.com

 **PreAnalytiX[®]**
A QIAGEN / BD Company

目次

- 03 PAXgene Tissue System
- 04 PAXgene Tissue System の概要
- 06 ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色)
- 07 免疫組織化学
- 08 RNA 精製
- 10 miRNA 精製
- 12 DNA 精製
- 14 PAXgene Tissue による実験操作手順

PAXgene Tissue System は本小冊子に記載の全キットが含まれます。
本キットは研究用です。診断には使用できません。

PAXgene Tissue System

従来の組織固定法は、限られた分子解析にしか使用できませんでした。PreAnalytiX がお届けする新しいシステムは、生体分子の安定化と組織形態の保存を同時に実現します。

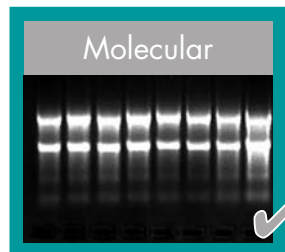
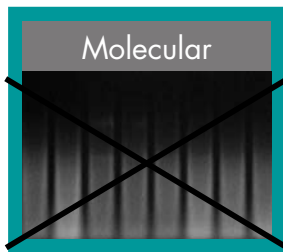
- 組織形態および核酸を良好に保存
- RNA、miRNA、DNA の安定化・保存および精製を実現
- ホルマリンを使用しない固定法

PAXgene Tissue System発売前

ホルマリン固定



生体分子の安定化



ホルマリン固定により生体分子は安定化されない：ホルマリンは生体分子間のクロスリンクを形成し、核酸の分解や化学修飾を引き起こす。

生体分子の安定化により組織形態は保持されない：組織内の核酸を保護する安定化法（例；RNAlater[®] RNA Stabilization Reagent）は、組織形態を保存しない。

PAXgene Tissue System

同一組織を用いた実験



PAXgene Tissue System は生体分子を安定化し、かつ組織形態を保持する：PAXgene Tissue System はクロスリンクを形成することがなく、同一組織で組織解析および高品質なRNA、miRNA、DNA の精製が可能である。

PAXgene Tissue System の概要

- PAXgene Tissue Container : ヒト組織サンプルの採取、固定、安定化、保存、輸送用
- PAXgene Tissue Kits : トータル RNA、miRNA、DNA の精製用



PAXgene Tissue System の利点 :

- 組織採取、固定および標本作成工程の標準化
- HE 染色による組織構造に関する情報は従来の方法に匹敵
- 免疫組織化学法にも対応可能
- クロスリンクがなくインタクトな RNA を保存し良好な分子解析結果を提供
- ホルマリン固定に比べて高分子 DNA が得られ、最高のパフォーマンスを実現
- マルチプレックス/ロングレンジ PCR を含む高感度なアプリケーションに最適な高品質 DNA
- 同一サンプルから RNA、miRNA、DNA の精製

2 種類の chamber（試薬充填済み）を持つ Container は、組織の固定用と安定化用です。

Chamber 1 : PAXgene Tissue Fix

- 迅速に組織に浸透し、組織を固定
- 2 ~ 4 時間 (2 ~ 8℃で最長 18 時間まで) 固定する。
固定後、組織を chamber 2 に移す

Chamber 2 : PAXgene Tissue Stabilizer

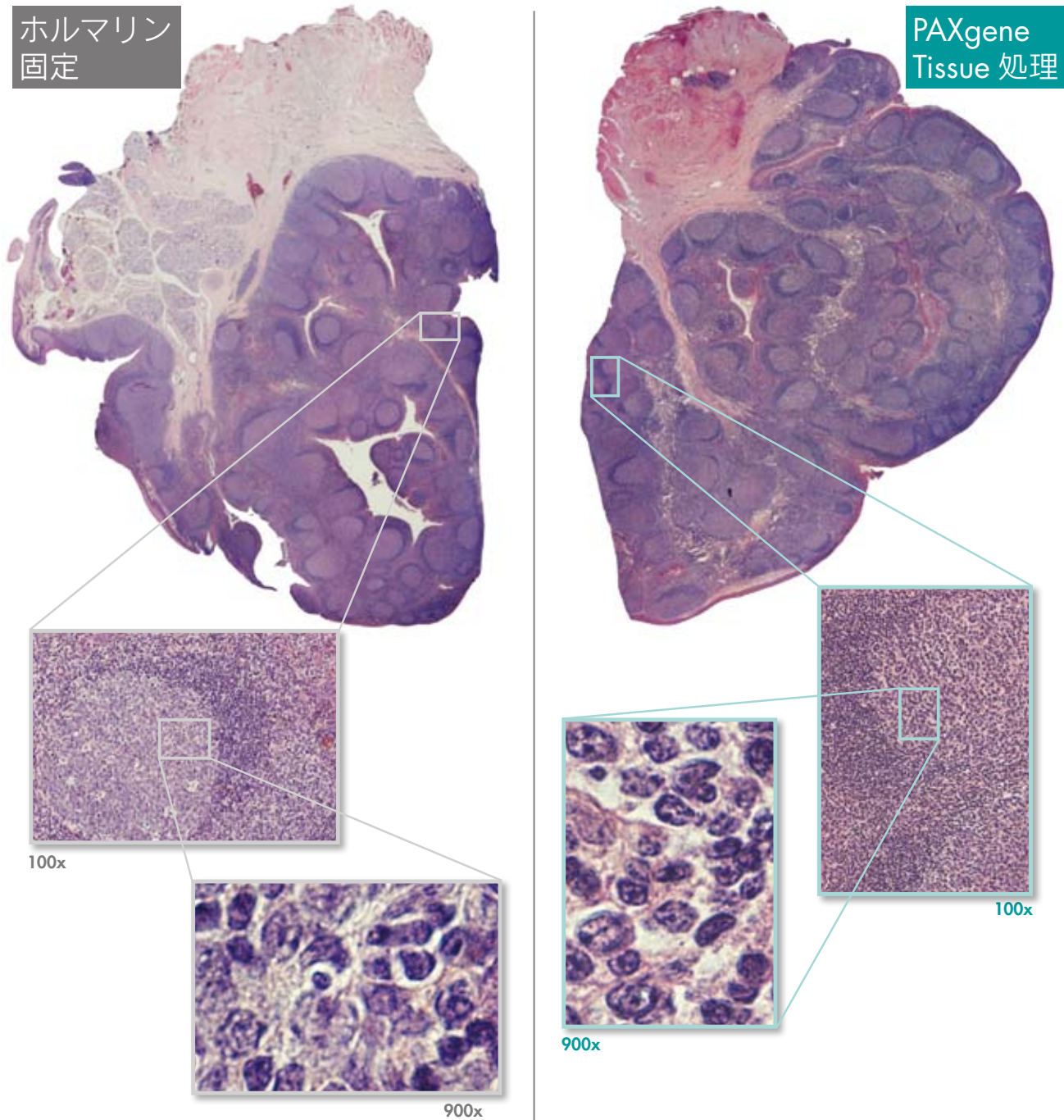
- 生体分子および組織形態の安定化
- 組織を Container 内で保存および輸送可能 :
 - 室温で最高 7 日間
 - 2 ~ 8℃で最高 4 週間
 - -20℃で凍結した状態で数ヶ月
 - -80℃で凍結した状態で数年

安定化した組織は、組織研究用にパラフィン包埋できます。パラフィン包埋する前でも後でも、PAXgene Tissue Kit を用いて安定化した組織から核酸を分離できます。



PAXgene Tissue System で処理した組織の HE 染色

- インタクトな組織形態
- 染色パターンはホルマリン固定組織に匹敵
- 保存されているクロマチン構造



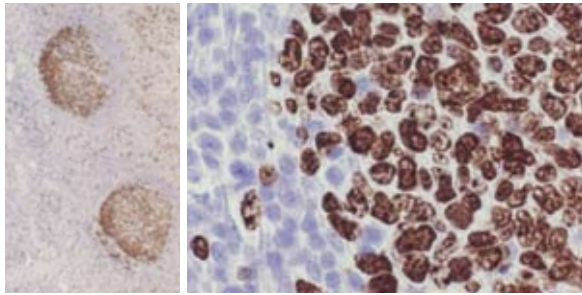
PAXgene Tissue System で処理した組織の HE 染色はホルマリン固定組織に匹敵する結果を実現：

ヒトコ蓋扁桃の横断切片を半分に分けた。一方の組織片は PAXgene Tissue Container で固定し、もう一方の組織は中性緩衝ホルマリン溶液で固定した。固定した組織をパラフィン包埋後、薄切した切片をヘマトキシリン・エオジン染色を行なった。

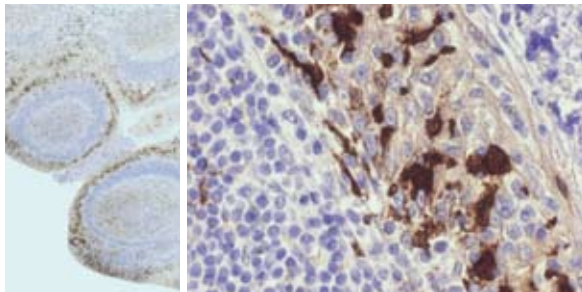
PAXgene Tissue System で処理した組織の免疫組織化学

- 染色強度はホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織に匹敵
- 4 サンプル中 3 サンプルで抗原賦活化ステップを削除

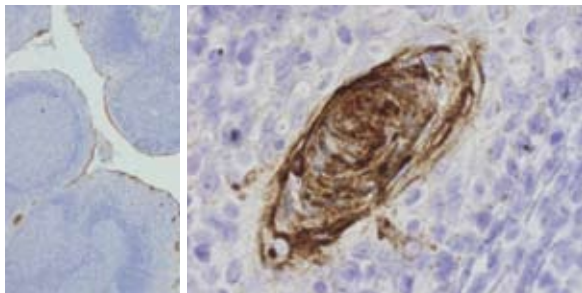
ホルマリン固定



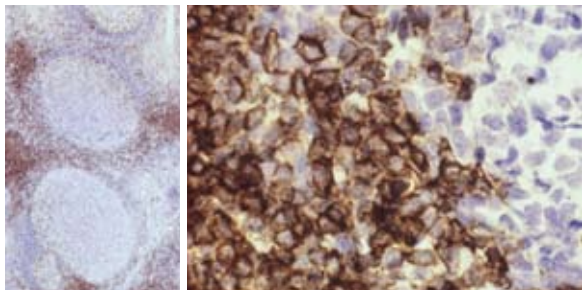
Ki-67



S100



CEA

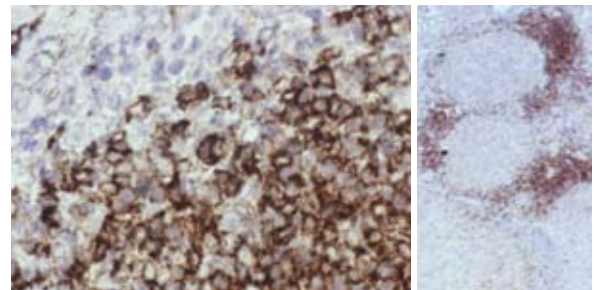
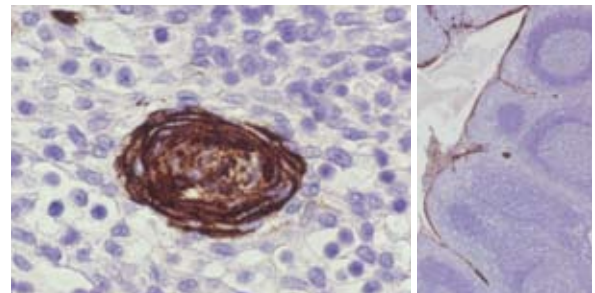
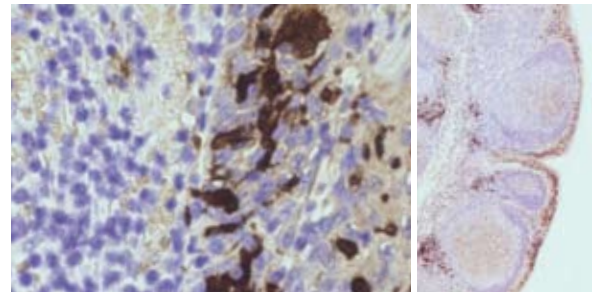
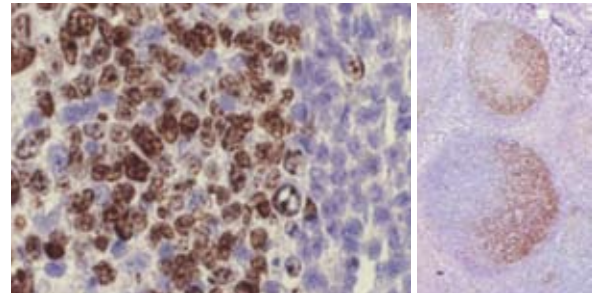


CD5

100x

400x

PAXgene Tissue 処理



400x

100x

PAXgene Tissue System で処理した組織の免疫組織化学結果はホルマリン固定組織に匹敵：

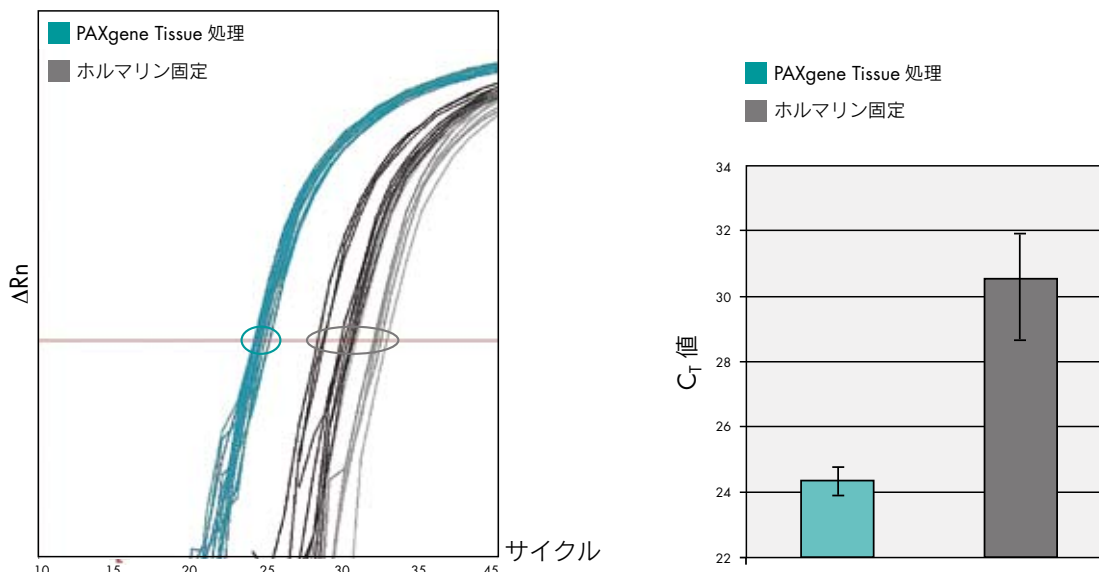
ヒト口蓋扁桃組織を PAXgene Tissue Container、あるいは中性緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン包埋した。表記の抗原に対する一次抗体をビオチン化二次抗体と反応させ、次にアビジン・ペルオキシダーゼコンプレックスと反応させた（LSAB 法）。切片をヘマトキシリンで染色した。ホルマリン固定組織では全ての抗体で抗原賦活化が必要であったが、PAXgene Tissue System で処理した組織では、抗原賦活化は CD5 の場合にのみ必要であった。

PAXgene Tissue System を用いた RNA 精製

- インタクトな RNA の分離精製
- 酵素阻害物質などを含まない高品質 RNA
- 再現性の高い収量
- 最高 1 kb までの RNA 増幅
- 信頼できる定量 RT-PCR 結果を実現



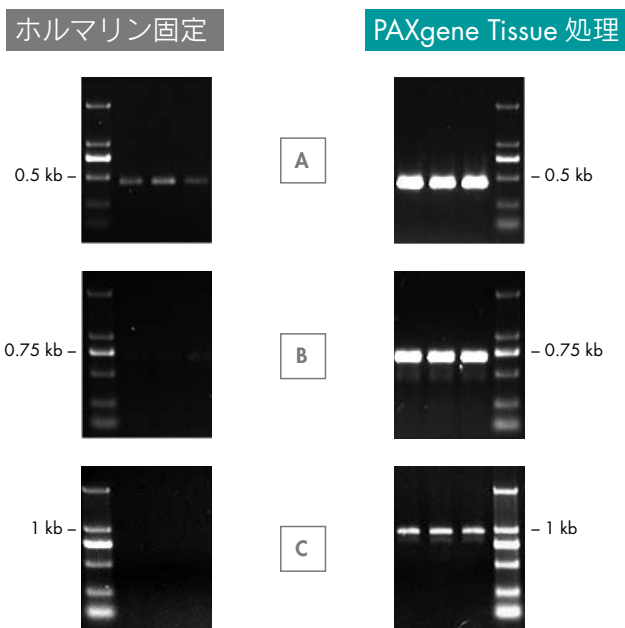
ホルマリン固定に比較して PAXgene Tissue System で調製した RNA はリアルタイム RT-PCR 結果を顕著に改善



ヒト口蓋扁桃組織からの精製 RNA を用いた β-アクチンのリアルタイム RT-PCR 結果：

6人のドナーから採取した各ヒト口蓋扁桃組織あたり3回 RNA を精製し、それぞれで増幅反応を行なった。組織は PAXgene Tissue System の試薬、あるいは中性緩衝ホルマリン (NBF) で処理した。PAXgene Tissue System で処理したパラフィン包埋組織切片から PAXgene Tissue RNA Kit、あるいは NBF 処理した FFPE 組織からは FFPE 組織用の市販 RNA キットを用いてトータル RNA を精製した。

PAXgene Tissue System での RT-PCR 結果ではホルマリン固定より高い効率、信頼性、再現性を実現



1 ステップ RT-PCR でヒト・シングルコピー遺伝子から様々な長さのアンプリコンを増幅：

中性緩衝ホルマリンあるいは PAXgene Tissue System で処理したヒト口蓋扁桃組織からトータル RNA を精製した。

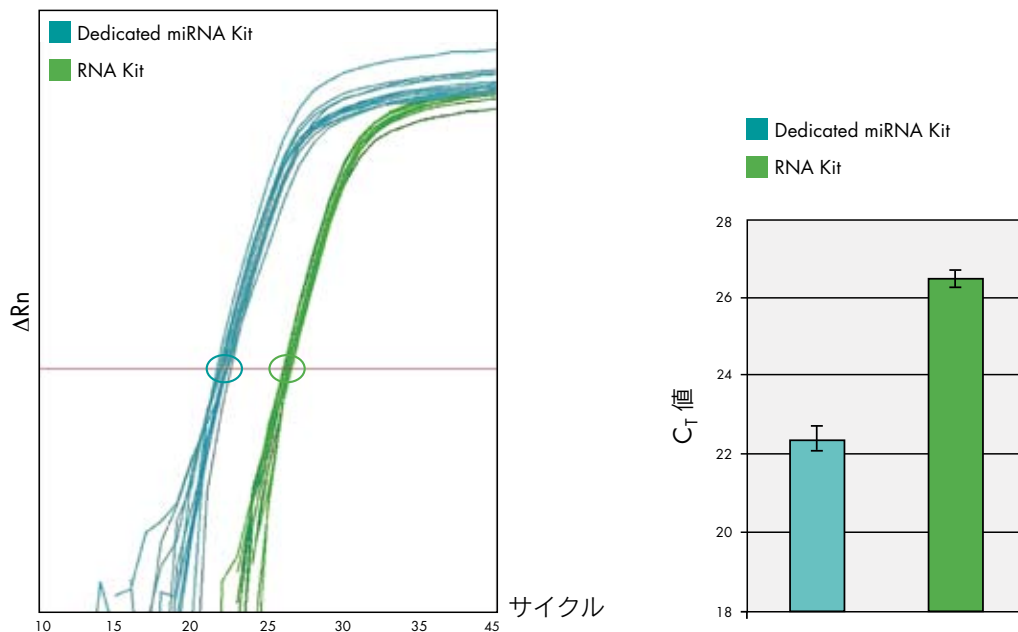
- A : TAFII の 439 bp
- B : alpha catenin の 690 bp
- C : hnRNPA2 の 960 bp

PAXgene Tissue System を用いた miRNA 精製

- 全ての RNA を一緒に精製するための至適化済みプロトコール
- 効果的に small RNAs (≥ 18 ヌクレオチド) を濃縮
- 酵素阻害物質などを含まない高品質 RNA
- 再現性の高い収量
- 信頼できる miRNA 定量



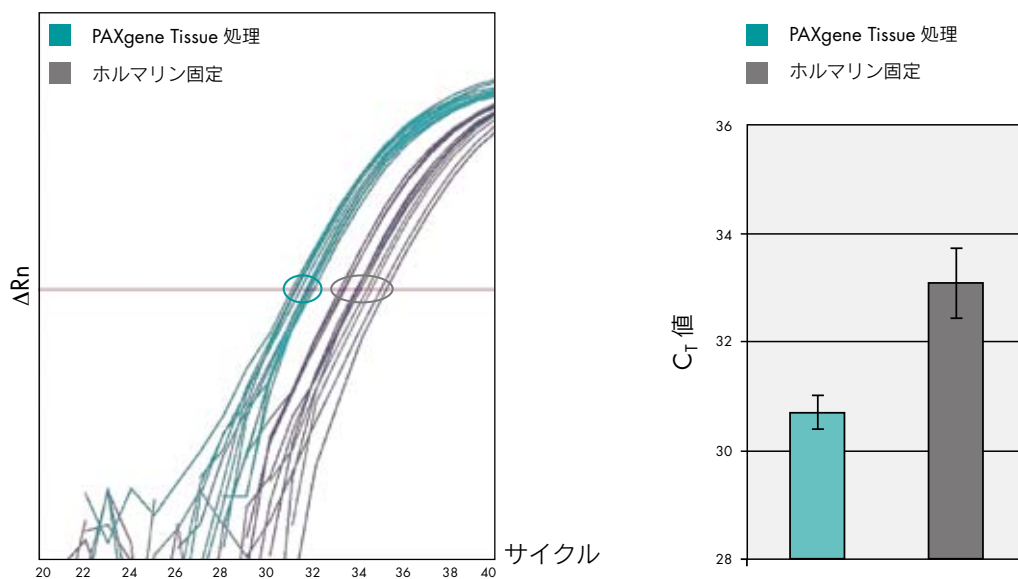
専用の PAXgene Tissue miRNA Kit により small RNA の同時精製が飛躍的に改善



miR-10a のリアルタイム RT-PCR 結果。より低い C_T 値は miRNA の高収量精製を実証：

PAXgene Tissue で固定し、パラフィン包埋した組織から miRNA 精製に適化されていない RNA 精製キットおよび専用キットを用いて small RNA を同時精製した。QIAGEN® miScript PCR System を用いて miRNA を解析した。

PAXgene Tissue System で精製した miRNA はホルマリン固定に比較してリアルタイム RT-PCR 結果を顕著に改善



miR-103 のリアルタイム RT-PCR 結果。FFPE 組織に比較してより低い C_T 値を実現：

PAXgene Tissue で処理したパラフィン包埋組織切片から small RNA 同時精製に特化した PAXgene Tissue miRNA Kit、あるいは NBF 処理した FFPE 組織から FFPE 用の市販 miRNA Kit を用いて精製した 5 ng のトータル RNA をテンプレートとし、増幅反応を行なった。

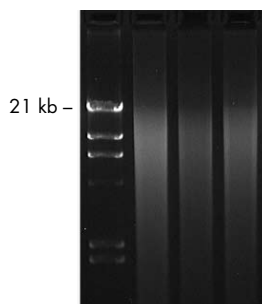
PAXgene Tissue System を用いた DNA 精製

- 分解のない高分子 DNA を精製
- マルチプレックス PCR で均一な増幅
- ロングレンジ PCR で最高のパフォーマンスを実現

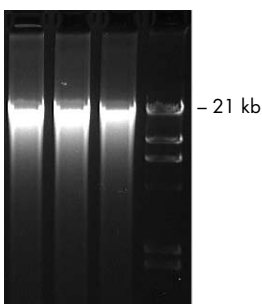


PAXgene Tissue System で精製したインタクトなゲノム DNA はホルマリン固定に比較して PCR で抜群の性能を発揮

ホルマリン固定

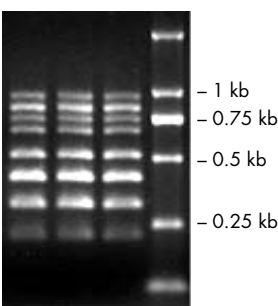
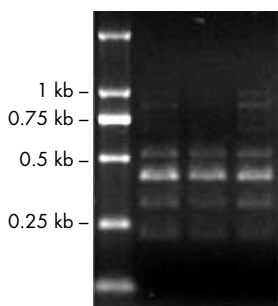


PAXgene Tissue 処理



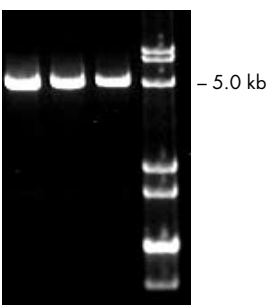
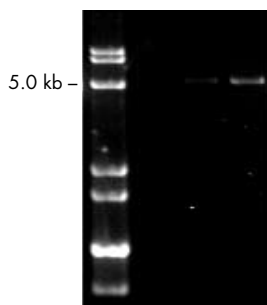
ゲノムDNA

- PAXgene Tissueでは21 kb以上のゲノムDNA
- FFPEではゲノムDNAが分解



マルチプレックスPCR

- PAXgene Tissueでは均一な8個の増幅
- FFPEでは一部の増幅のみ



ロングレンジPCR

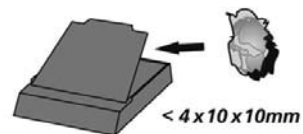
- PAXgene Tissueでは5 kb以上を増幅
- FFPEでは増幅されない

ゲノム DNA の PCR、マルチプレックスおよびロングレンジ PCR の増幅産物をアガロースゲル電気泳動で解析：

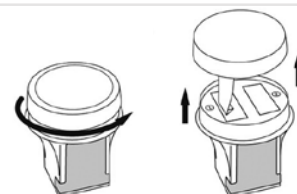
ヒト口蓋扁桃組織を PAXgene Tissue System の試薬、あるいは中性緩衝ホルマリン（NBF）で処理した。PAXgene Tissue System 処理したパラフィン包埋組織切片から PAXgene Tissue RNA Kit、あるいは NBF 処理した FFPE 組織からは FFPE 組織用の市販 DNA キットを用いてトータル DNA を精製した。

PAXgene Tissue による実験操作手順

切り出した組織サンプルを標準的な組織カセットに入れる
(組織カセットは各自ご準備ください)。



キャップを緩めてから持ち上げ、ラック付きのキャップを
PAXgene Tissue Container から取り出す。



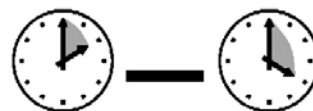
ラックを上向きにしキャップを置き、組織カセットを
ラックに挟む。



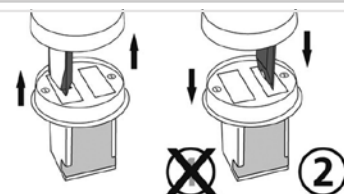
PAXgene Tissue Fix の入った chamber 1 に組織カセットを
セットしたラックを沈めキャップを閉める。



2 ~ 4 時間 * (最長 18 時間) 組織を固定する。



固定後、組織カセットをセットしたラックを chamber 1 から
取り出し、PAXgene Tissue Stabilizer の入った chamber 2 に移す。



キャップを閉める。組織形態および核酸が変化することなく、
この状態で container を保存あるいは輸送できる。



処理した組織を包埋後、組織ブロックは即薄切できる。
組織切片は病理組織検査あるいは RNA、miRNA、DNA 精製に
使用できる。



* 2~4時間で最適な結果が得られる。長時間固定化するとRNA品質に影響を与えることがある。

オーダーインフォメーション

製品の詳細情報および価格は QIAGEN ウェブサイトをご覧ください。

www.qiagen.co.jp

製品名	内容	Cat. no.	価格 (¥)
PAXgene Tissue Containers — ヒト組織の採取、固定および核酸の安定化			
PAXgene Tissue Containers (10)	For collection, fixation, and stabilization of 10 samples: 10 Prefilled Reagent Containers, containing PAXgene Tissue Fix and PAXgene Tissue Stabilizer	765112	17,500
PAXgene Tissue RNA Kit — PAXgene Tissue Containerで固定と安定化を行なった組織からのトータルRNA精製			
PAXgene Tissue RNA Kit (50)	For 50 RNA preps: PAXgene RNA MinElute® Spin Columns, PAXgene Shredder Spin Columns, Processing Tubes, Microcentrifuge Tubes, Carrier RNA, RNase-Free DNase, and RNase-Free Buffers; to be used in conjunction with PAXgene Tissue Containers	765134	59,500
PAXgene Tissue miRNA Kit — PAXgene Tissue Container で固定と安定化を行なった組織からのトータル microRNA 精製			
PAXgene Tissue miRNA Kit (50)	For 50 RNA preps: PAXgene RNA MinElute Spin Columns, PAXgene Shredder Spin Columns, Processing Tubes, Microcentrifuge Tubes, Carrier RNA, RNase-Free DNase, and RNase-Free Buffers; to be used in conjunction with PAXgene Tissue Containers	766134	70,000
PAXgene Tissue DNA Kit — PAXgene Tissue Containers で固定と安定化を行なった組織からの DNA 精製			
PAXgene Tissue DNA Kit (50)	For 50 DNA preps: PAXgene DNA Mini Spin Columns, Processing Tubes, Microcentrifuge Tubes, Carrier RNA, and Buffers; to be used in conjunction with PAXgene Tissue Containers	767134	31,500

最新のライセンス情報および製品ごとの否認声明に関しては、各製品の英語版 Handbook あるいは User Manual をご覧ください。QIAGEN キットの Handbook および User Manual は www.qiagen.co.jp から入手可能です。

Trademarks:

PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH); QIAGEN®, MinElute® (QIAGEN Group).

RNAlater® is a trademark of AMBION, Inc., Austin, Texas and is covered by various U.S. and foreign patents.

本文に記載の会社名および商品名は、各社の商標または登録商標です。

2301594 05/2009 © 2009 PreAnalytiX, all rights reserved.

www.preanalytix.com

PAXgene Tissue System の詳細は :
www.preanalytix.com

日本でのお問い合わせ先 :

株式会社 キアゲン ■ 〒 104-0054 ■ 東京都中央区勝どき 3-13-1 ■ Forefront Tower II
Tel:03-6890-7300 ■ Fax:03-5547-0818 ■ E-mail:techservice-jp@qiagen.com

