

技術資料 (Technical Data Sheet)

FastGene™ mini-elute columnの基礎性能データ

- **目的** : FastGene™ RNA Premium kitのmini-elute columnがRNAどの程度の量まで濃縮できるか評価した。
- **評価製品** : FastGene™ RNA Premium kitのmini-elute column

背景

FastGene™ RNA Premium kitのgDNA除去ステップは、他社RNA精製キットと異なり、溶液中で行う反応です。これにより、ゲノムDNA除去効率は向上・安定しました。(Technical data sheet 2017 <02>)

溶液中で酵素反応を行ったサンプルは、mini-elute columnを使用して精製しますが、弊社では、本精製時に溶液の液量を減らすことができれば、mini-elute columnを「濃縮カラム」としても使用できると考えました。

そこで、抽出したRNAサンプルをmini-elute columnを使用して精製・濃縮することにより、回収率・濃縮効率の性能評価を行いました。

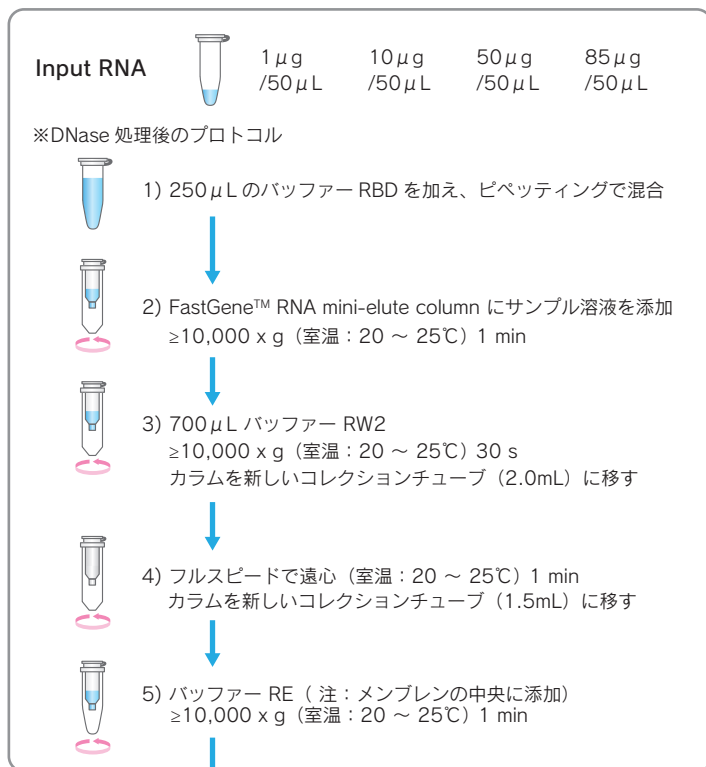
実験条件

RNAインプット量 : 1 μ g, 10 μ g, 50 μ g, 85 μ g (n=3)
 RNAインプットボリューム : 50 μ L で統一
 溶出量 : 10 μ L (FastGene™ 最小量)
 20 μ L
 50 μ L (FastGene™ 標準量)
 吸光度測定 : Implen NanoPhotometer P330

[評価ポイント]

- 溶出容量
- 溶出濃度
- 回収率

Workflow



| | | | |
|----------------|------------|------------|------------|
| Elution volume | 10 μ L | 20 μ L | 50 μ L |
| | | | |

FastGene™ Premium Kit

- 培養細胞および組織等からのトータル RNA 精製キット
- DNase I 酵素、プレフィルター、微量溶出容量カラム全てが入った新しいコンセプトのキット
- DNA 感受性が極めて高いダウンストリームアプリケーションにおすすめ
- 最適化した DNase I 処理ステップと FastGene™ mini-elute column のテクノロジーを併用する事で、高純度で高品質な RNA 精製を保証



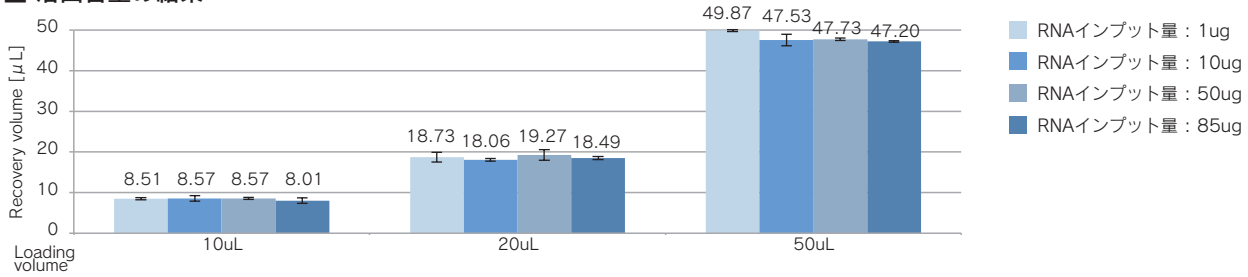
FastGene™ mini-elute column の推奨溶出量と溶出可能範囲

| | スタンダード | ラージインプット |
|--------|---------------|---------------|
| 推奨溶出量 | 20 μ L | 50 μ L |
| 溶出可能範囲 | 10-50 μ L | 20-50 μ L |

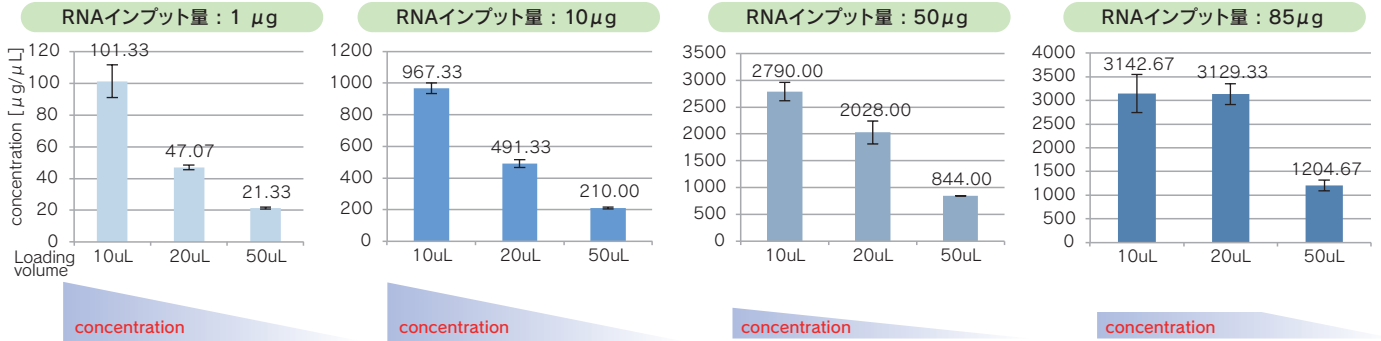


結果

■ 溶出容量の結果



■ 溶出濃度の結果

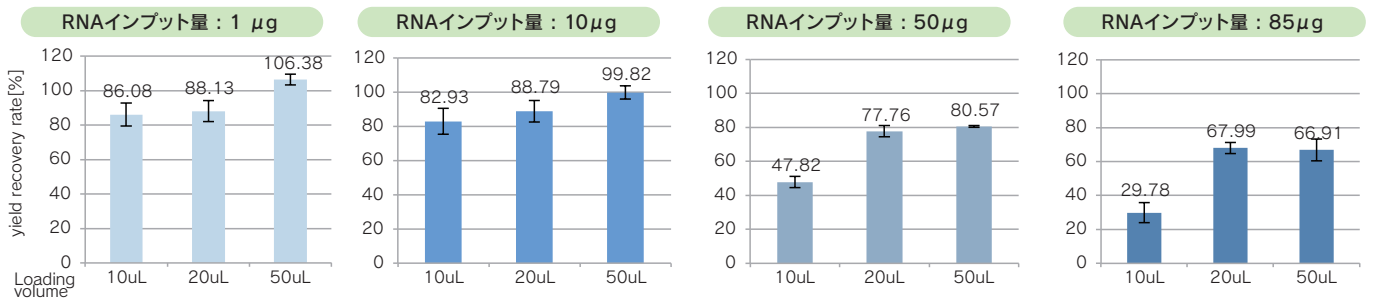


FastGene™ mini elute column :

最大濃縮濃度は、約3.1μg/μLだった。この理由は、RNAの限界濃縮濃度とカラムのキャパシティによるものと考えられる。

■ 回収率の結果

$$\text{回収率 [\%]} = \frac{\text{溶出 RNA量 [ng]}}{\text{インプット RNA量 [ng]}} \times 100$$



FastGene™ mini elute column :

20μL溶出時の回収は、50μL溶出と同様の比率だった。したがって、20μL溶出はスタンダードプロトコルで使用できた。(10~50μLが溶出可能範囲) ラージインプットの際には、50μLを使用する。(20~50μLが溶出可能範囲)

[Conclusion]

| | RNAインプット量: 1 μg | | | RNAインプット量: 10 μg | | | RNAインプット量: 50 μg | | | RNAインプット量: 85 μg | | |
|--------------|-----------------|-------|--------|------------------|--------|--------|------------------|---------|--------|------------------|---------|---------|
| | 10 μL | 20 μL | 50 μL | 10 μL | 20 μL | 50 μL | 10 μL | 20 μL | 50 μL | 10 μL | 20 μL | 50 μL |
| 溶出濃度 [ng/μL] | 101.33 | 47.07 | 21.33 | 967.33 | 491.33 | 210.00 | 2790.00 | 2028.00 | 844.00 | 3142.67 | 3129.33 | 1204.67 |
| 溶出容量 [μL] | 8.51 | 18.73 | 49.87 | 8.57 | 18.06 | 47.53 | 8.57 | 19.27 | 47.73 | 8.01 | 18.49 | 47.20 |
| 溶出量 [μg] | 0.86 | 0.88 | 1.06 | 8.29 | 8.88 | 9.98 | 23.91 | 38.88 | 40.29 | 25.31 | 57.80 | 56.87 |
| 回収率 [%] | 86.08 | 88.13 | 106.38 | 82.93 | 88.79 | 99.82 | 47.82 | 77.76 | 80.57 | 29.78 | 67.99 | 66.91 |

20μL溶出は、50μL溶出同様の傾向を示した。しかしながら、50μg以上のRNAの回収率は悪かった。より多くのRNAを溶出する際には、より多くの溶出量で溶出することが求められる。

● まとめ

20μL溶出は、50μL溶出と同様の傾向を示した。

しかしながら、RNAインプット50μg以上の場合、RNAの回収率は悪かった。

以上の結果により、より多くのRNAを溶出する際には、より多くの溶出量で溶出することが推奨されることがわかった。