

Technical Data

# FastGene™ mini-elute columnと 他社クリーンアップキット mini-elute columnの性能評価

評価製品

FastGene™ RNA Premium kitのmini-elute column

目的

FastGene™ RNA Premium kitのmini-elute columnがRNAをどの程度の量まで濃縮できるか評価した。  
また、他社RNA mini-elute columnと比較することにより、性能の比較評価を行った。

## 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、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・濃縮効率を評価し、他社mini-elute columnとの性能比較を行いました。

## 実験条件

RNAインプット量 : 1μg, 10μg (n=3)

RNAインプットボリューム : 50μL で統一

溶出量 : 10μL (他社 最小量)

14μL (他社 標準量)

20μL

50μL (FastGene™ 標準量)

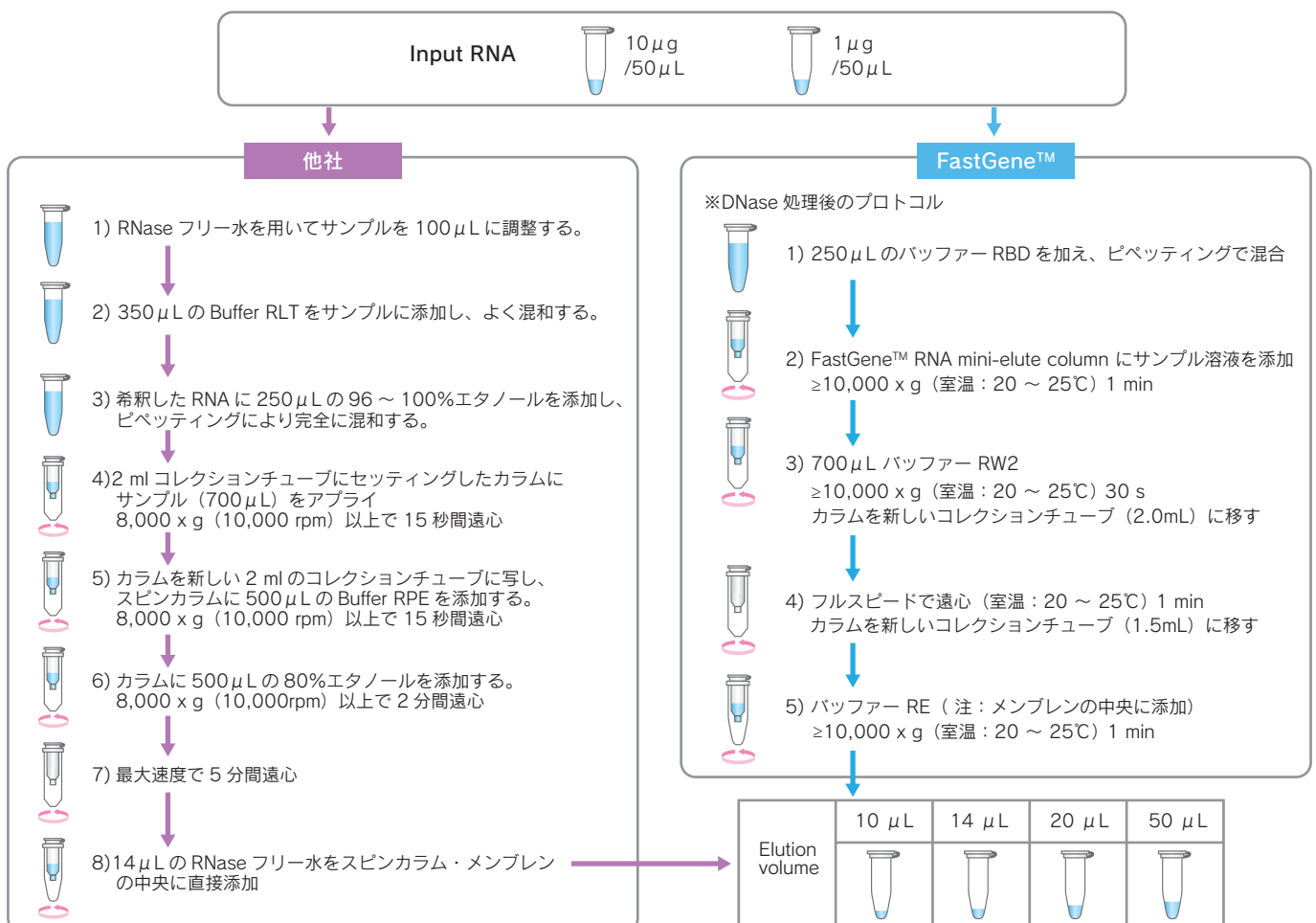
比較キット : 他社 微量溶出クリーンアップキット

吸光度測定 : Implen NanoPhotometer P330

[評価ポイント]

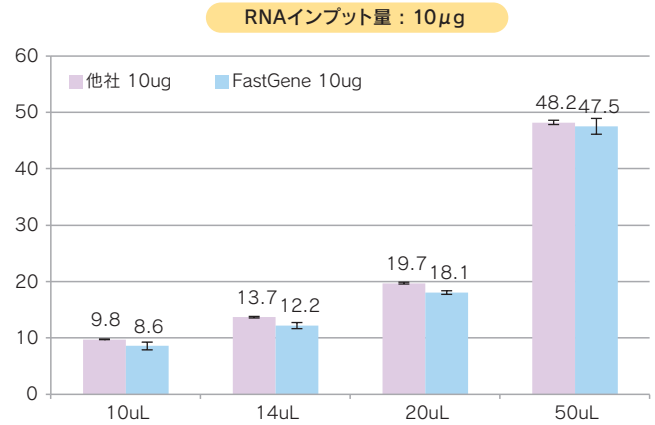
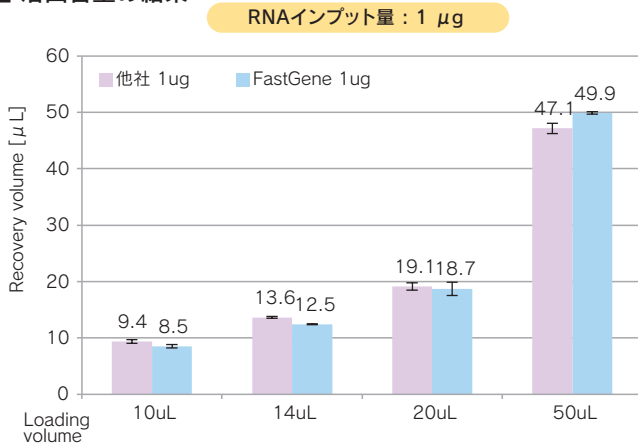
- 溶出容量
- 溶出濃度
- 回収率

## Workflow



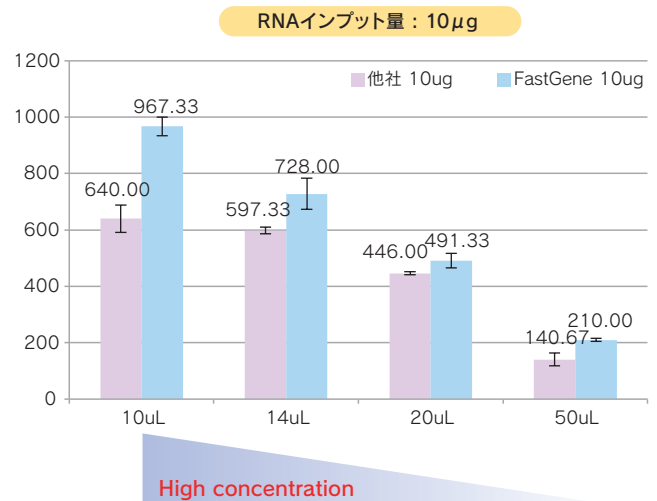
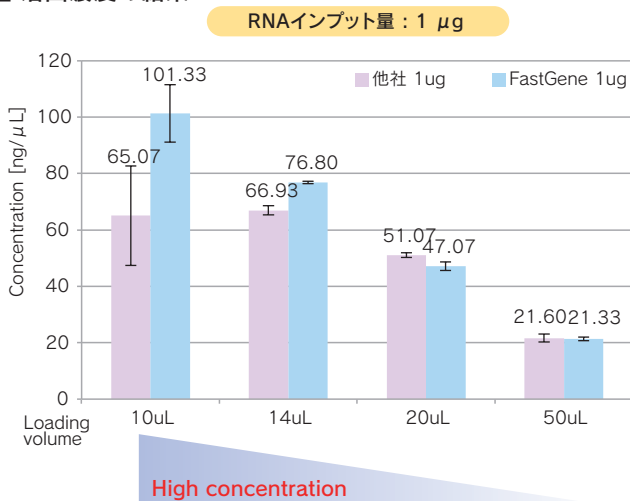
## 結果

### ■ 溶出容量の結果



回収容量は、概ね同様の傾向を示した。

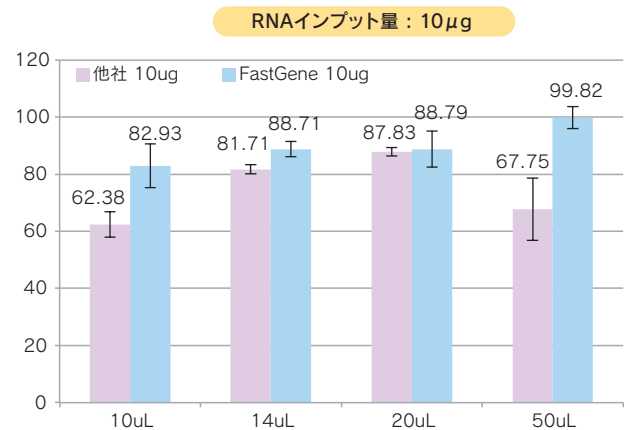
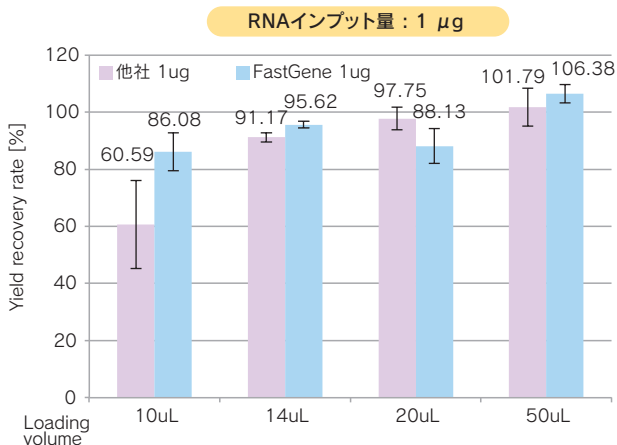
### ■ 溶出濃度の結果



FastGene™ mini elute columnは、溶出量に比例した濃縮ができたのに対して、他社製品は10 μL では14 μLと同程度にしか濃縮ができなかった。

### ■ 回収率の結果

$$\text{回収率 [\%]} = \frac{\text{elute RNA量 [ng]}}{\text{Input RNA量 [ng]}} \times 100$$



FastGene™ mini elute column は全て同様の回収率を示した。他社は、溶出容量が少なくなると、回収率も下がった。

**[Conclusion]**

 RNAインプット量 : 1  $\mu\text{g}$ 

溶出容量 [ $\mu\text{L}$ ]				
	10 $\mu\text{L}$	14 $\mu\text{L}$	20 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$
他社	9.35	13.62	19.14	47.13
FastGene™	8.51	12.45	18.73	49.87

溶出濃度 [ $\text{ng}/\mu\text{L}$ ]				
	10 $\mu\text{L}$	14 $\mu\text{L}$	20 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$
他社	65.07	66.93	51.07	21.60
FastGene™	101.33	76.80	47.07	21.33

溶出量 [ $\mu\text{g}$ ]				
	10 $\mu\text{L}$	14 $\mu\text{L}$	20 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$
他社	0.61	0.91	0.98	1.02
FastGene™	0.86	0.96	0.88	1.06

回収率 [%]				
	10 $\mu\text{L}$	14 $\mu\text{L}$	20 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$
他社	60.59	91.17	97.75	101.79
FastGene™	86.08	95.62	88.13	106.38

 RNAインプット量 : 10  $\mu\text{g}$ 

溶出容量 [ $\mu\text{L}$ ]				
	10 $\mu\text{L}$	14 $\mu\text{L}$	20 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$
他社	9.75	13.68	19.69	48.20
FastGene™	8.57	12.21	18.06	47.53

溶出濃度 [ $\text{ng}/\mu\text{L}$ ]				
	10 $\mu\text{L}$	14 $\mu\text{L}$	20 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$
他社	640.00	597.33	446.00	140.67
FastGene™	967.33	728.00	491.33	210.00

溶出量 [ $\mu\text{g}$ ]				
	10 $\mu\text{L}$	14 $\mu\text{L}$	20 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$
他社	6.24	8.17	8.78	6.78
FastGene™	8.29	8.87	8.88	9.98

回収率 [%]				
	10 $\mu\text{L}$	14 $\mu\text{L}$	20 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$
他社	62.38	81.71	87.83	67.75
FastGene™	82.93	88.71	88.79	99.82

**まとめ**

 FastGene™ mini-elute columnは、RNAを10-50  $\mu\text{L}$ の溶出量で濃縮できた。

 ファストジーン プレミアム  
**FastGene™ RNA Premium Kit**


培養細胞および組織等からのトータルRNAの精製とゲノムDNA除去

**特長**

- 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ぬ
- 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ことで、高純度で高品質なRNA 精製を保証

**仕様**

	スタンダード	ラージインプット
推奨サンプル量		
培養細胞	<5 $\times 10^6$	<1 $\times 10^7$
組織*	<10 mg	<20 mg
溶出量	20 $\mu\text{L}$ (10~50 $\mu\text{L}$ )	50 $\mu\text{L}$ (20~50 $\mu\text{L}$ )
所要時間 (6 prepsあたり)	約60分間	約60分間
フォーマット	シリカメンブレン法	

※組織によって最適な前処理をお選び下さい、サンプルや部位によって得られる収量は異なります。

一般的な収量

- 培養細胞 (1 $\times 10^6$  HeLa 細胞) の場合 : 10-20  $\mu\text{g}$
- 組織 (20mg マウス肝臓組織) の場合 : 50-100  $\mu\text{g}$

**Cat. No.**
**入数**

FG-81006	FastGene™ RNA Premium Kit トライアルキット	6回用
FG-81050	FastGene™ RNA Premium Kit	50回用
FG-81250	FastGene™ RNA Premium Kit	250回用

**キット内容**

	6回用	50回用	250回用
溶解バッファー (RL)	4 mL	25 mL	125 mL
洗浄バッファー 1 (RW1)	4 mL	35 mL	170 mL
洗浄バッファー 2 (RW2)	2 mL	20 mL	2 $\times$ 50 mL
RNA 再結合バッファー (RBD)	1 mL	8 mL	36 mL
溶出バッファー (RE : RNase free water)	1.5 mL	30 mL	200 mL
DNase I 懸濁溶液 (DNase I reconstitution solution)	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL
10 $\times$ DNase I 反応バッファー (10 $\times$ DNase I reaction buffer)	50 $\mu\text{L}$	500 $\mu\text{L}$	2 $\times$ 1 mL
DNase I (凍結乾燥)	110 Kunitz units	110 Kunitz units	560 Kunitz units
FastGene™ RNA filter column	6 本	50 本	250 本
FastGene™ RNA binding column	6 本	50 本	250 本
FastGene™ RNA mini-elute column	6 本	50 本	250 本
5 mL コレクションチューブ	12 本	100 本	500 本
2 mL コレクションチューブ	18 本	150 本	750 本

**保存条件**

- FastGene™ RNA mini-elute columnのみ到着後4 $^{\circ}\text{C}$
- 他構成品は全て室温 (15~25 $^{\circ}\text{C}$ )