

Technical Data

FastGene™ RNA Basic / Premium kit の評価試験

評価製品

FastGene™ RNA Basic kit (DNase 処理なし)
FastGene™ RNA Premium kit (DNase 処理あり)

目的

FastGene™ RNA Basic kit・FastGene™ RNA Premium kit と他社 RNA 抽出キットを用いて抽出した RNA の収量・品質 (RIN 値)・純度を評価し、性能を比較する

背景

RNA とは、リボ核酸のことであり、核酸塩基は、アデニン(A)、グアニン(G)、シトシン(C)、ウラシル(U)の4種で構成されています。RNA は DNA と比較すると構造的に不安定であるため、取扱には注意が必要であることが知られています。

一般的に RNA の抽出には、フェノール法やシリカメンブレン等のキットを使用する方法が知られています。

弊社では、オリジナルブランド FastGene™ よりシリカメンブレンを使用した RNA 精製キットの開発を進めてきました。その開発に当たり、「自分たちで納得できない製品は販売することはできない!」という想いの元、評価ポイント・実験スキーム・結果の解析にこだわって試験を行いました。本技術資料では、これら評価試験の最終段階で、得られた結果を「収量・品質 (RIN 値)・純度」の点で評価した事例をご紹介します。

実験条件

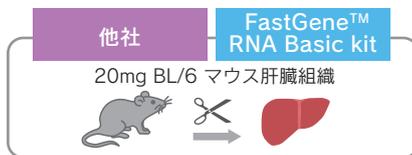
サンプル : 20mg BL/6 マウス肝臓組織 (1キットにつき n=3)

[評価ポイント]

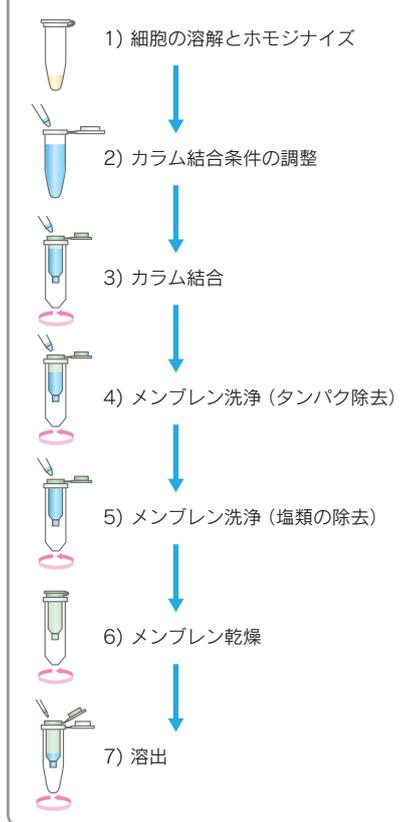
1. 収量 : 吸光度測定 (Implen)
2. 品質 (RIN) : Agilent 社 Bioanalyzer (RIN 値)
3. 純度 : リアルタイム PCR

実験手順とキットの特長

DNase 処理なし



DNase 処理なし



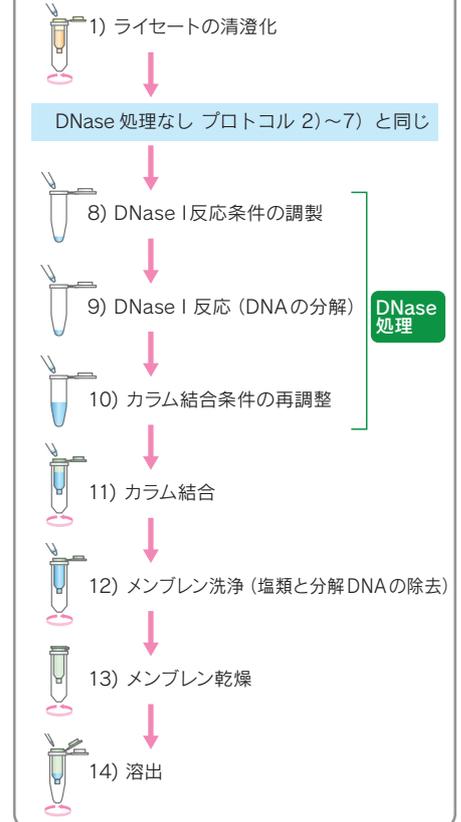
DNase 処理あり



カラム上での DNase I 処理



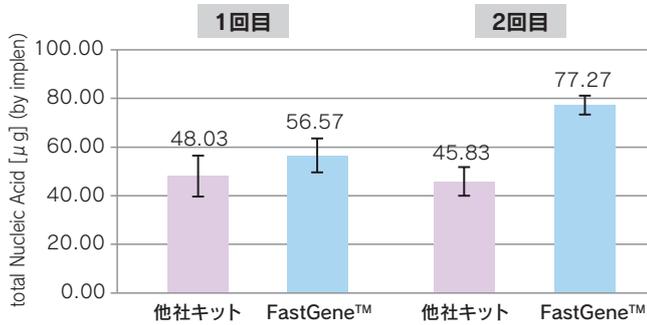
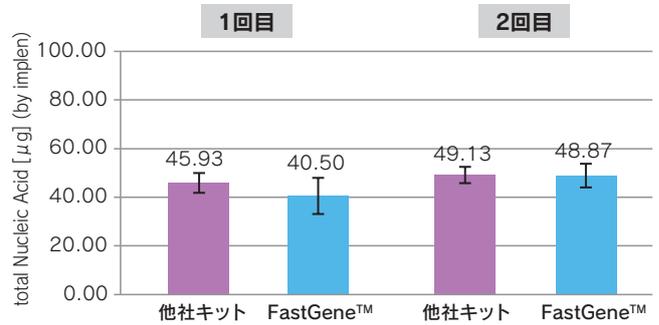
溶液中での DNase I 処理



DNase 処理

結果

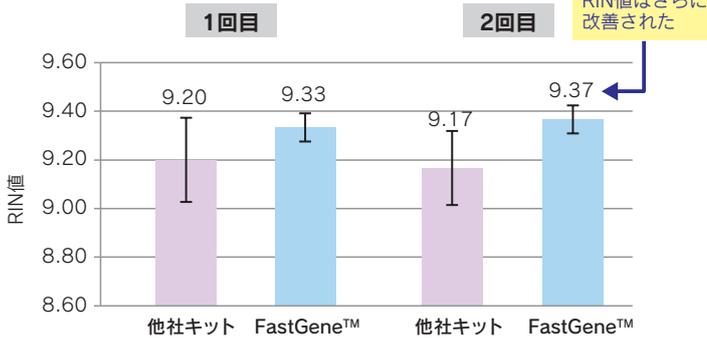
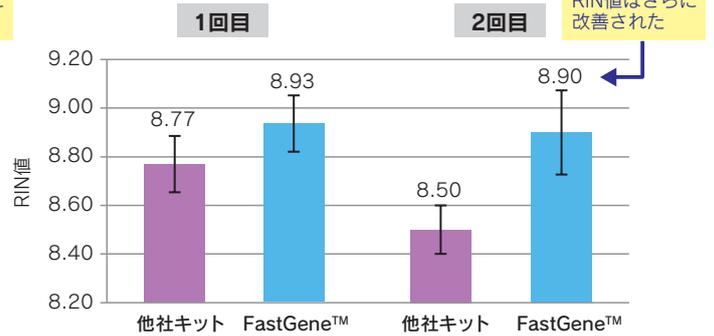
1. 収量

FastGene™ Basic kit (DNase処理なし)

FastGene™ Premium kit (DNase処理あり)


他社キット：1回目も2回目も同じ傾向を示した。
FastGene™：1回目と2回目は、若干結果が異なった。
これは、初発サンプルの違いによるものだと考えられる。

他社キット & FastGene™：
1回目も2回目も同じ傾向を示した。

2. 品質

FastGene™ Basic kit (DNase処理なし)

FastGene™ Premium kit (DNase処理あり)


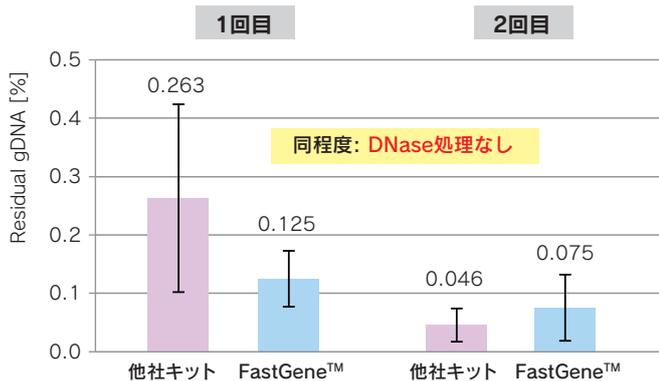
他社 & FastGene™：
1回目と2回目は同様の傾向を示した。

他社 & FastGene™：
1回目と2回目は同様の傾向を示した。DNase処理したサンプルは、DNase処理しないサンプルと比較して、RIN値が下がる傾向があったが、これは、DNase処理によるものだと考えられる。

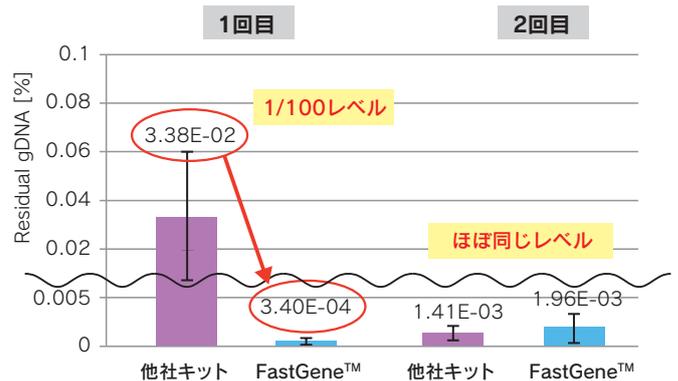
3. 純度

リアルタイムPCRによる残留ゲノムDNA量の確認

$$\text{残留ゲノムDNA[\%]} = \frac{\text{qPCRによる残留ゲノムDNA量[ng]}}{\text{qRT-PCRによるRNA収量[ng]}}$$

FastGene™ Basic kit (DNase処理なし)


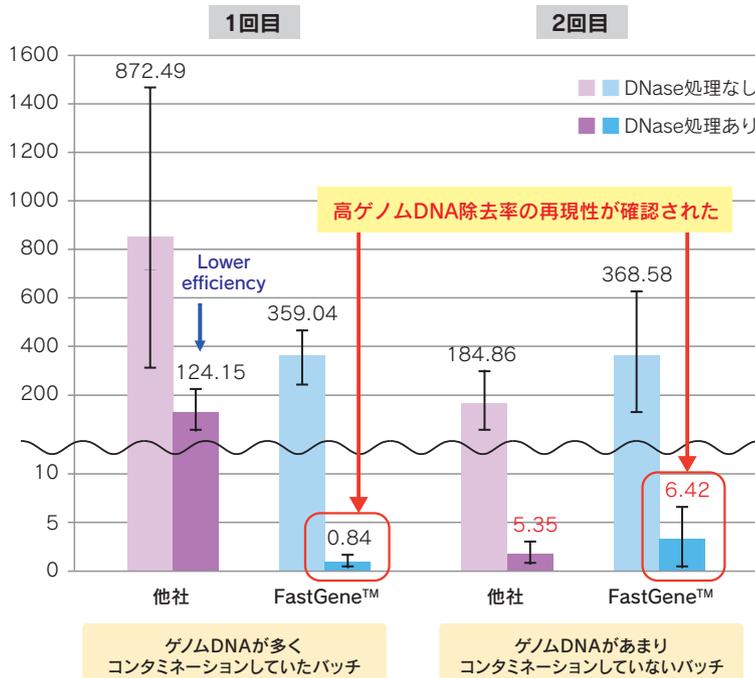
ゲノムDNAの残留率は、バッチ間で異なっていた。

FastGene™ Premium kit (DNase処理あり)


1回目と2回目の結果は異なっていた。

■ 残留ゲノムDNA量のコピー数

FastGene™ Premium kit (DNase処理あり)



他社キット：ゲノムDNAの除去効率、一定ではなかった。
FastGene™：ゲノムDNAの除去率は再現性が高く、高効率であった。

まとめ

FastGene™ RNA Basic / Premium kit は、収量・品質(RIN)・純度において、他社キットと同等、または同等以上の性能が得られました。

FastGene™ Basic kit (DNase処理なし)

- 収量 同等
- 品質 (RIN) 同等以上
- 純度 (gDNA残留率) 同等

FastGene™ Premium kit (DNase処理あり)

- 収量 同等
- 品質 (RIN) 同等以上
- 純度 (gDNA残留率) 同等以上

キットに付属のカラム

① FastGene™ RNA binding column (グリーン)



RNA結合/精製フィルター

② FastGene™ RNA filter column (イエロー)



細胞残渣・高分子除去用フィルター

③ FastGene™ RNA minielute column (ホワイト)



RNA濃縮用低溶出フィルター

※②と③はPremium kitのみに入っています。