



Application

# FastGene™ RNA Premium Kit と FastGene™ miRNA Enhancerを組み合わせることで抽出した miRNAの次世代シーケンサーによる解析

製品名

FastGene™ RNA Premium Kit (Cat.No. FG-81006, FG-81050, FG-81250)  
FastGene™ miRNA Enhancer (Cat.No. FG-RNAE-S, FG-RNAE-25)

メーカー名

FastGene™

下記のデータは、社会医療法人大雄会医科学研究所 菊池 有純 様のご厚意により掲載させて頂きました。

## 背景

microRNA (miRNA) は、18から25塩基程度の非常に小さな1本鎖RNA分子で、遺伝子発現の調整に影響を与えることが知られています。とくに近年では次世代シーケンサーを利用したmiRNAの発現量の比較やターゲット遺伝子の予測などの解析が進んでおり、癌などの疾患とも密接に関わっているため、各種疾患や生命現象のバイオマーカーとして注目されています。

FastGene™ miRNA Enhancerは、市販のカラム法を用いたRNA抽出キットと組み合わせることによって、miRNAの効果的な回収が可能となります。

本実験ではFastGene™ RNA Premium KitとFastGene™ miRNA Enhancerを組み合わせることで抽出したmiRNA (DNase I処理あり) と、既存のmiRNA抽出用Kitを用いて抽出したmiRNAをそれぞれ次世代シーケンサーにて解析し、解析結果を比較しました。

得られたmiRNAが次世代シーケンサーでも問題なく解析が可能であった事例としてご参照ください。

## 評価方法

細胞株 (K562) :  $1 \times 10^6$  cells

FastGene™ RNA Premium Kit + FastGene™ miRNA Enhancer で抽出 (n=2)

→FG\_No.1, FG\_No.2

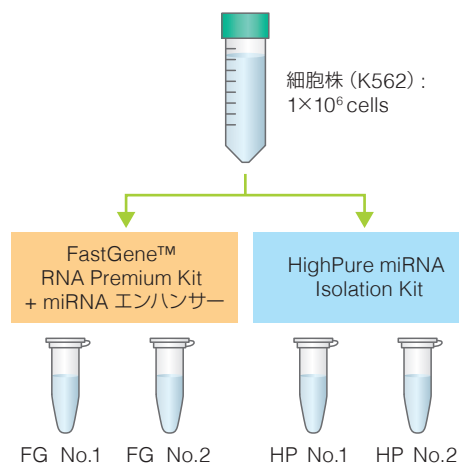
HighPure miRNA Isolation Kit で抽出 (n=2)

→HP\_No.1, HP\_No.2

ライブラリー作成はNEBNext® Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina® (NEB, USA.) で実施

NovaSeq 6000 Sequencing System (Illumina) で解析

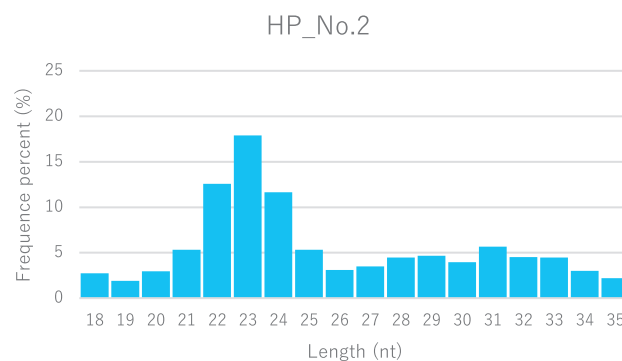
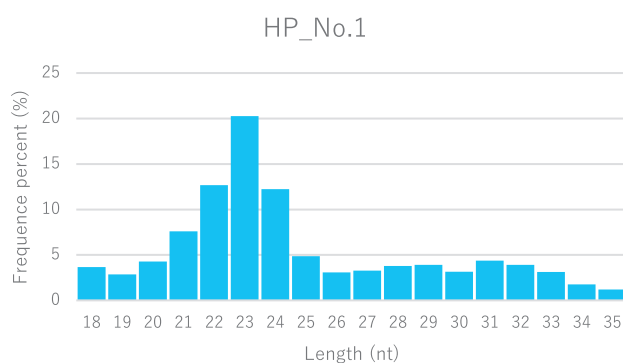
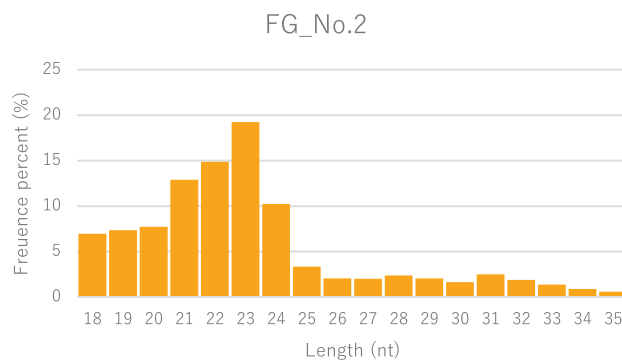
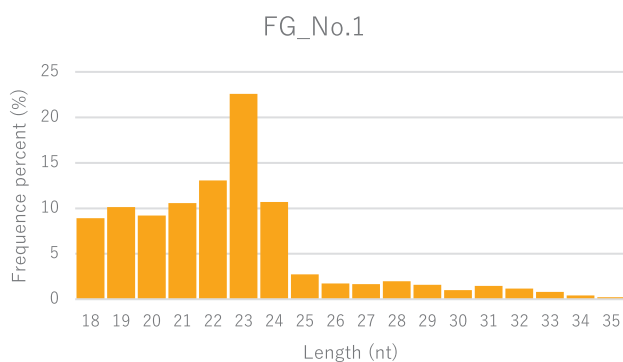
統計解析を行い、配列長の分布から評価



## 結果

Sample	Reads	Bases	Error rate	Q20	Q30	GC content
FG_No 1	3130470	0.16G	0.01%	99.03%	96.54%	49.55%
FG_No 2	2751048	0.14G	0.01%	99.34%	97.41%	49.92%
HP_No 1	2471473	0.12G	0.01%	99.29%	97.26%	50.34%
HP_No 2	3180142	0.16G	0.01%	99.28%	97.19%	50.27%

## • miRNA配列長の分布



## ●まとめ

mature miRNAの塩基長 (20-25 nt) を含む、低塩基数のmiRNAを検出できたことから、FastGene™ RNA Premium Kit とFastGene™ miRNA Enhancerの組み合わせで、miRNAの塩基長が抽出できていることが証明され、また、次世代シーケンサーにて解析できることがわかった。



## お客様のコメント

FastGene™ RNA Premium Kit とFastGene™ miRNA Enhancer の2製品の組み合わせでmiRNAの次世代シーケンサーによる解析が可能であることが確認できました。特に配列長の分布は本試薬の特長の一旦を示すものと思われ、興味深い結果でした。

## 補足: miRNA抽出方法

## FastGene™ RNA Premium Kit + FastGene™ miRNA Enhancer

miRNAを分離抽出 (DNase I 処理あり)

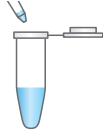


**HighPure miRNA Isolation Kit**

細胞株 (K562) :  $1 \times 10^6$  cells  
ライセート上清 150  $\mu$ L に  
Binding Buffer を 312  $\mu$ L 添加する



High Pure Filter Tubes によく混合した  
溶液を添加し  
14,000 rpm で 1 min 遠心分離、ろ液を回収



200  $\mu$ L の Binding Enhancer を添加し  
ピペティングで混合



High Pure Filter Tubes に  
サンプル溶液を添加し  
14,000 rpm で 1 min 遠心分離、ろ液を廃棄



500  $\mu$ L の Wash Buffer を添加し  
14,000 rpm で 1 min 遠心分離、ろ液を廃棄



300  $\mu$ L の Wash Buffer を添加し  
14,000 rpm で 1 min 遠心分離、ろ液を廃棄



50  $\mu$ L の Elution Buffer を添加し  
14,000 rpm で 1 min 遠心分離、溶出液を回収