



FastGene™ RNA save tube サンプル評価方法

概要

液体および乾燥状態でのFastGene™ RNA save tubeを使用した加速安定性試験の参考プロトコルとして本技術評価方法をご紹介します。

必須品目

FastGene™ RNA save tube サンプルの評価には以下の品目を用います。

- FastGene™ RNA save tube 3本
- RNAサンプル (4-80 µg)

開始前に

1. FastGene™ RNA save チューブのユーザーガイドを弊社HPからダウンロードしてください。(https://www.n-genetics.com/)
2. 評価に使用するRNAサンプルを選択します。
 - 最良の結果を出すためには、RNAサンプルを定量し、ゲル電気泳動か、またはAgilent BioanalyzerによりRNAの品質を確認してからFastGene™ RNA save チューブに加えてください。
 - FastGene™ RNA save チューブは、20-50 µLの容量で1-20 µgのRNAを保存することができます。
3. RNAサンプルを1-20 µgの範囲で4つ調製し、3つはFastGene™ RNA save チューブに入れ、残りの1つはコントロールとして一般的な保存チューブ*1で凍結保存 (-80℃) します。
4. 評価に用いられる時間量と長期安定性データの必要性に応じて、下記の加速安定性試験プログラム*2を選択してください。選択した温度で対照RNAを保存します。

*1 (例: FG-SCR-05S https://www.n-genetics.com/products/search/detail.html?product_id=5128)

*2 「加速安定性について」を参照ください。

加速安定性試験プログラム

● プログラム1: 1週間評価

アリコート1 - FastGene™ RNA save チューブ、乾燥状態、室温 (25℃) で1週間
アリコート2 - FastGene™ RNA save チューブ、乾燥状態、37℃で1週間 (25℃で2週間相当)
アリコート3 - FastGene™ RNA save チューブ、液体、室温 (25℃) で24時間
アリコート4 - 凍結対照、-80℃で1週間

● プログラム2: 2週間評価

アリコート1 - FastGene™ RNA save チューブ、乾燥状態、室温 (25℃) で2週間
アリコート2 - FastGene™ RNA save チューブ、乾燥状態、37℃で2週間 (25℃で4週間相当)
アリコート3 - FastGene™ RNA save チューブ、液体、室温 (25℃) で24時間
アリコート4 - 凍結対照、-80℃で2週間

● プログラム3: 1ヵ月評価

アリコート1 - FastGene™ RNA save チューブ、乾燥状態、室温 (25℃) で1ヵ月間
アリコート2 - FastGene™ RNA save チューブ、乾燥状態、37℃で1ヵ月間 (25℃で2ヵ月間相当)
アリコート3 - FastGene™ RNA save チューブ、液体、室温 (25℃) で24時間
アリコート4 - 凍結対照、-80℃で1ヵ月間



加速安定性について

加速安定性試験では、酸化ダメージにもとづく安定性を評価しています。この試験において、特定時間に受ける酸化ダメージの総量は、温度依存的に変化するものと定義しています。したがって、常温状態において任意の時間に加わる酸化ダメージの量を、温度を上昇させて短時間内に与え、安定性を評価しています。

長期安定性を実証するために、FastGene™ RNA save チューブはRNAサンプルを最高76℃で保存します。

- 37℃で1日間は25℃で2日間に相当
- 56℃で1日間は25℃で8日間に相当
- 76℃で1日間は25℃で32日間に相当

【参考文献】

- *Nucleic Acids Research* (2002) 30:1354-1363
- *Nature* (1993) 362:709-715

技術評価フロー

乾燥状態の試験に対して

1. ユーザーガイドに記載されているプロトコールに従って、FastGene™ RNA save チューブにRNAを加え乾燥させます。
2. 指示された温度で適切な時間でRNAを保存します。
室温サンプルはベンチトップに置いておくこともできます。
3. 適切な温度に設定した乾燥器を使用して高温試験を実施する必要があります。
4. 保存期間後、ユーザーガイドに記載されたプロトコールに従ってRNAを回収し、ダウンストリーム分析に使用します。

液体の試験に対して

1. ユーザーガイドに記載されているプロトコールに従って、FastGene™ RNA save チューブにRNAを加えます。
2. 指示された温度で適切な時間でRNAを保存します。
室温サンプルはベンチトップに置いておくこともできます。
3. 保存期間後、ダウンストリーム分析にRNAを使用します。

ダウンストリーム分析

1. 冷凍庫から対象RNAサンプルを取り出し、FastGene™ RNA save チューブから回収されたRNAサンプルと並列して各種分析を実行します。
2. RNAを定量し、ゲル電気泳動か、またはAgilent Bioanalyzerにより、RNAの収量とRIN値を測定します。
3. 回収したRNAを使用し、選択したダウンストリームアプリケーションにより、RNAの品質と純度を評価します。