



Technical Data

FastGene™ mini-elute columnの基礎性能データ

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。

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。

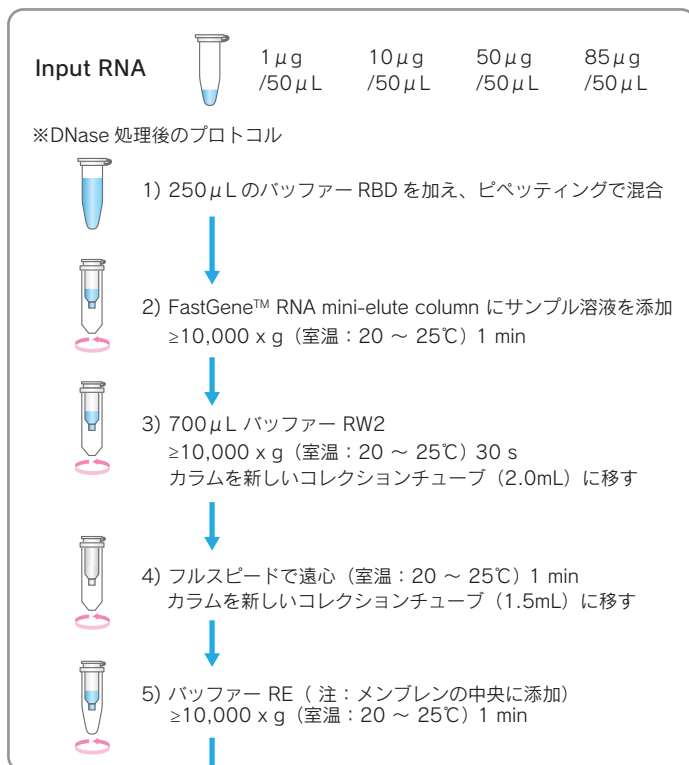
実験条件

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



	10 μ L	20 μ L	50 μ L
Elution volume			

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



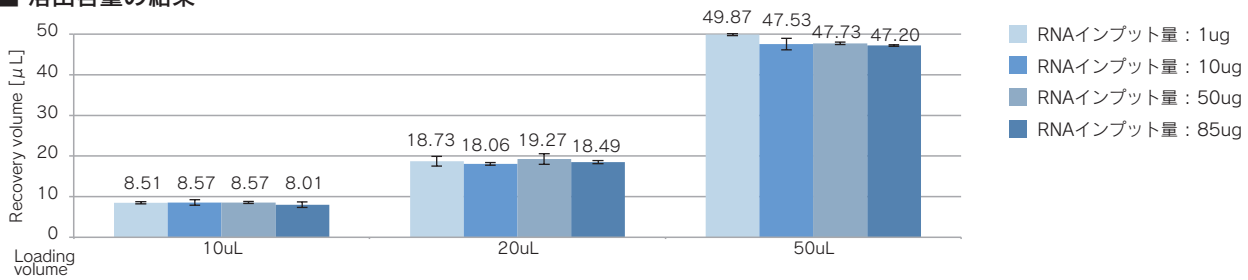
FastGene™ mini-elute column の推奨溶出量と溶出可能範囲

	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

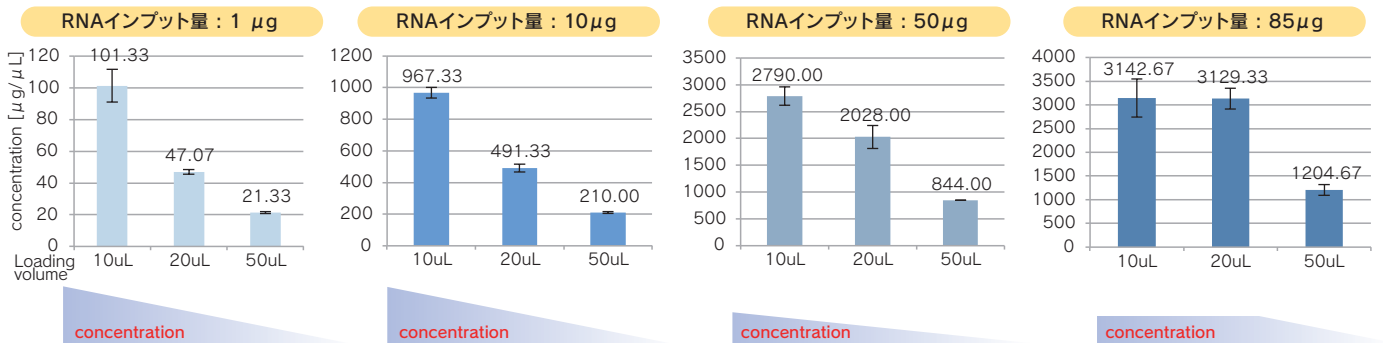


結果

■ 溶出容量の結果



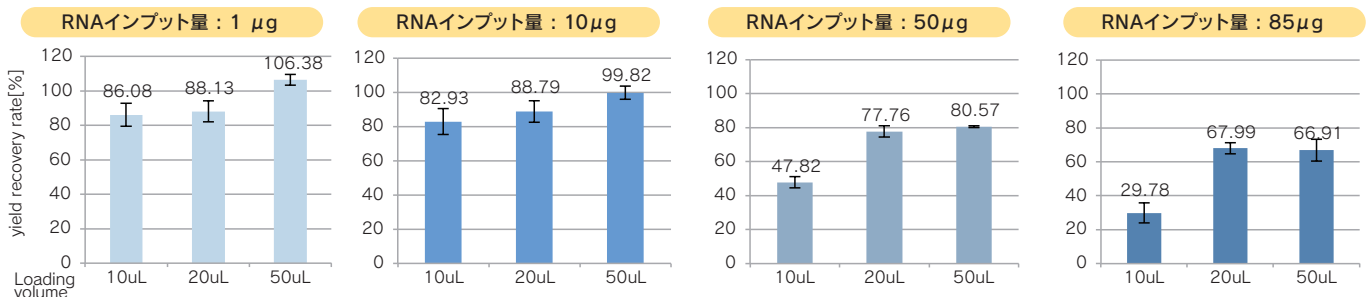
■ 溶出濃度の結果



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。