

Application News

マイクロチップ電気泳動装置 MultiNA™ II

MultiNA II を用いたRII(RNA Integrity Index)によるTotal RNAの品質評価

曾我部有司

ユーザーベネフィット

- ◆ 電気泳動の操作を自動化できます。
- ◆ Total RNAの品質評価に必要な品質指標 (RII) を自動算出できます。
- ◆ 多検体でも迅速簡便に測定することが可能です。

はじめに

生体サンプルから抽出したTotal RNAはシーケンシング (次世代、サンガー) をはじめ、様々な実験の基本材料となります。Total RNAの収量や品質は元のサンプルの採取や前処理の条件の影響を受けます。抽出により得られたTotal RNAの品質はその後の実験の成否を大きく左右することになります。

従来、Total RNAの品質評価は紫外 (UV) 分光光度計による測定と電気泳動 (変性アガロースゲル電気泳動) が用いられてきました。電気泳動装置の登場により、特にAgilent Technologies社のBioanalyzerで得られるRIN (RNA Integrity Number) が長らくTotal RNAの品質評価のデファクトスタンダードとして使用されてきました。この結果に基づいて得られたTotal RNAをその後の実験に用いるか、再調製を行うかを判断しています。

島津製作所のマイクロチップ電気泳動装置 MultiNA II MCE-301 (図1) はTotal RNAの電気泳動結果から品質を評価するための指標であるRII (RNA Integrity Index)を算出することができます。

本稿では、様々な組織由来のTotal RNAをMultiNA IIの電気泳動の結果から算出されたTotal RNA品質指標であるRIIと、4150 TapeStation System (Agilent Technologies)で得たRIIe (RNA Integrity Number equivalent) との相関について紹介いたします。

■ サンプルおよび分析条件

Total RNAサンプルの調製

Total RNAサンプルとしてRat Liver Total RNA(Clontech)、Rat Kidney total RNA(Clontech)、Mouse Liver total RNA(Clontech)、Mouse Brain total RNA(Clontech)、Human Heart total RNA (Thermo Fisher Scientific)、Human Lung total RNA(Clontech)、Human kidney total RNA(Clontech)の7種類を用いました。

Total RNAサンプルは各々50 ng/μLの濃度に調製後、90°Cで10分、30分、50分、70分、90分、120分で熱処理を行いました。熱処理なしを含めて合計7点の分析用サンプルを用意しました。

Total RNAの分析

MultiNA II によるRNAの分析はプレミックスモードでの分析になります。分析用試料はRNAキットに付属しているマーカと1:1になるよう混合しました。ラダーについては、RNA 6000 Ladder (Thermo Fisher Scientific) でTHE RNA Storage Solution (Thermo Fisher Scientific) で6倍希釈後、分析用試料と同様にキット付属のマーカと1:1で混合しました。マーカと混合した分析用試料とラダーは72°Cで3分の熱処理ののち氷上に静置しました。処理後、分離バッファとともに装置にセットして分析を行いました (図2)。



図1 マイクロチップ電気泳動装置 MultiNA™ II MCE-301

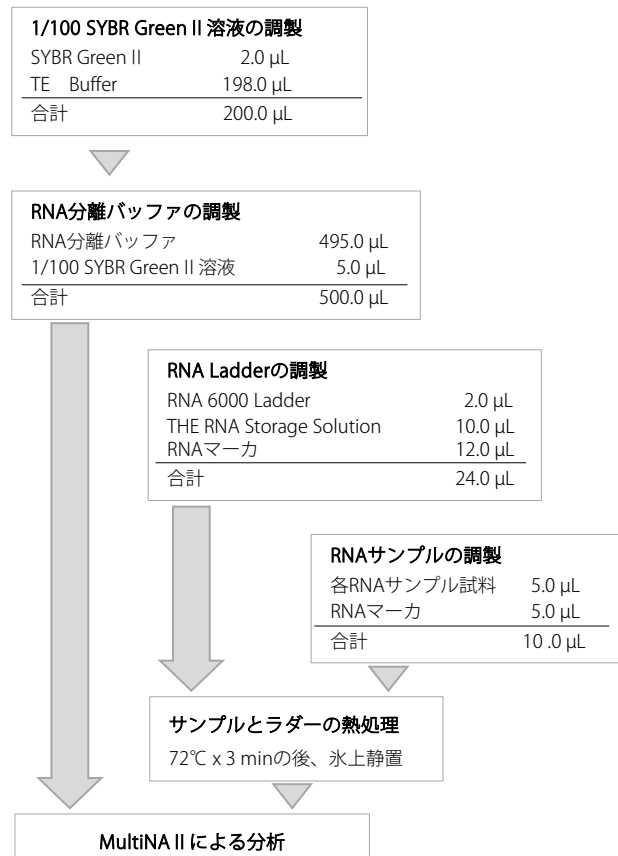
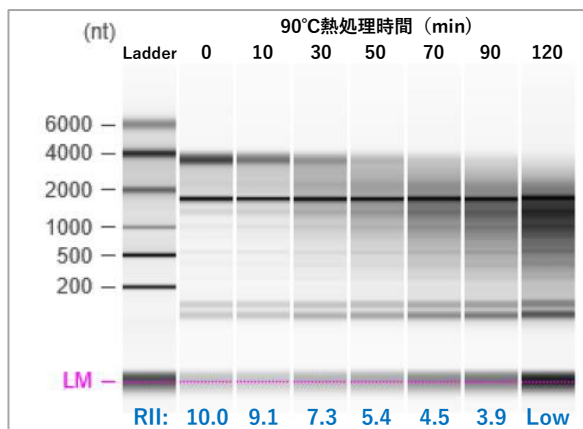
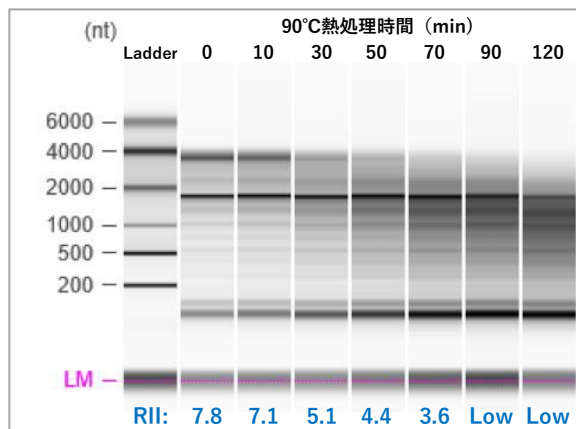


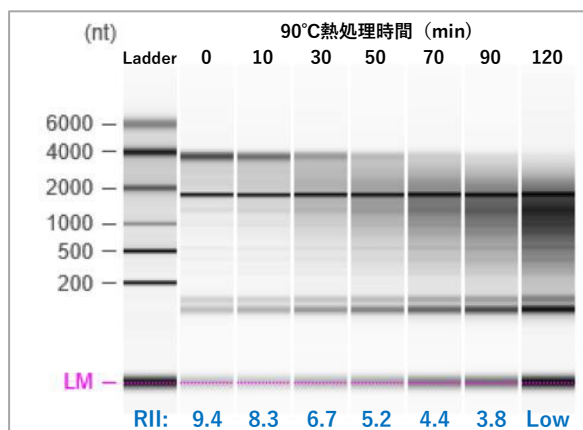
図2 MultiNA II によるRNAの分析手順 (分析サンプル数6の場合)



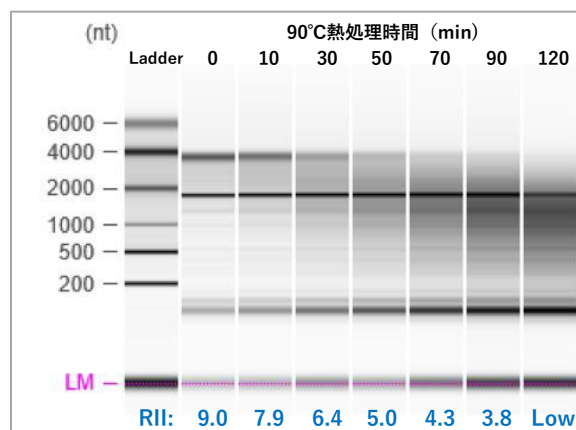
Rat Liver Total RNA



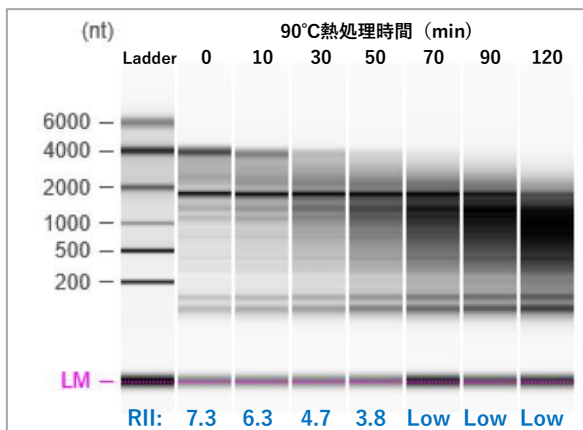
Rat Kidney Total RNA



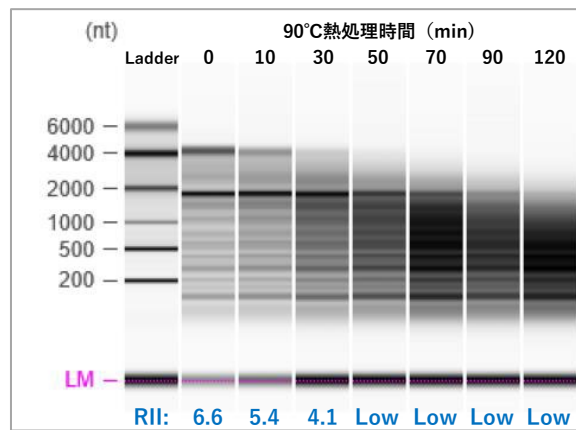
Mouse Liver Total RNA



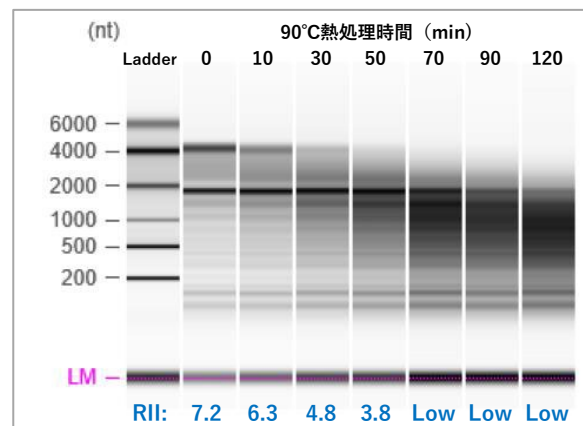
Mouse Brain Total RNA



Human Heart Total RNA



Human Kidney Total RNA



Human Lung Total RNA

図3 MultiNA IIによる各種Total RNAの電気泳動結果 (ゲルイメージ)
※RIIが3.5以下はLow表示

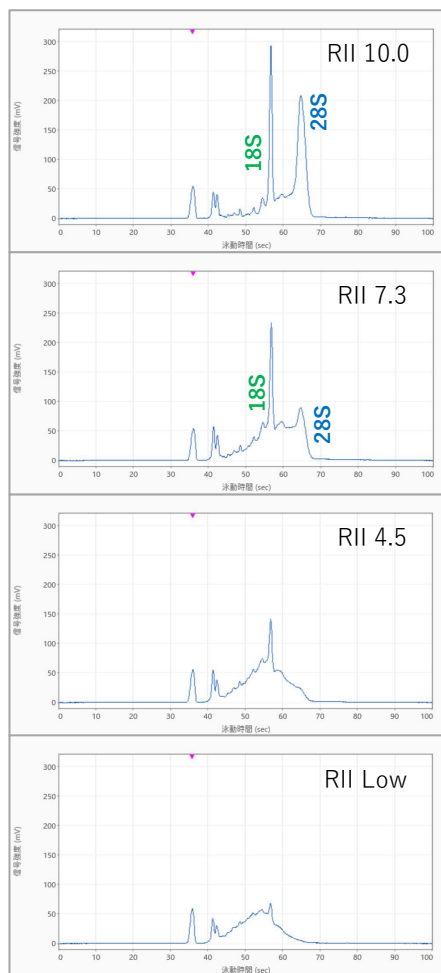


図4 Rat Liver Total RNAのRIIの違い (RII 10.0からRII Low) によるエレクトロフェログラム

* RIIが3.5以下はLow表示

■ 分析結果

MultiNA II での分析結果

7種のTotal RNAをそれぞれ7段階で熱処理後、MultiNA IIにて電気泳動した結果 (ゲルイメージ) を図3に示します。それぞれのサンプルのゲルイメージの下に算出されたRIIを記しました。

それぞれのサンプルの熱処理時間0 minにおいてはRIIに違いが見られ、未処理の段階から分解度に差があることが分かりました。熱処理時間が増加するのに伴い、およそ2000nt以下のスミアバンドの割合が増加していく様子が確認できました。逆にRIIは熱処理時間が増加するに伴い、低くなっていきます。

次にRIIの違いによるエレクトロフェログラムの結果について比較しました (図4)。

RII 10.0では18Sと28SのrRNA (リボソームRNA) のピークがはっきりと確認できました。RII 7.3では28S rRNAのピークが低くなりました。RII 4.5では28S rRNAはほぼ見えなくなり、18S rRNAのピークも低くなってきました。RII Lowでは28S rRNAは完全に消失し、18S rRNAは僅かに確認できる程度でした。

RIIとRIIeの比較

MultiNA IIで分析したサンプルの結果から算出したRIIと4150 TapeStation Systemで算出したRIIeの比較を図5に示します。決定係数 $R^2=0.97$ であり、良好な相関が得られました。

■ まとめ

本稿では7種類のTotal RNAをそれぞれ7段階の熱処理を行い、MultiNA IIで電気泳動を行いました。電気泳動の結果から、品質指標であるRIIと4150 TapeStation Systemで算出されるRIIeを比較しました。両者を比較した結果、RNAの分解度によらず、RIIもRIIeも良好な相関関係にあることが分かりました。

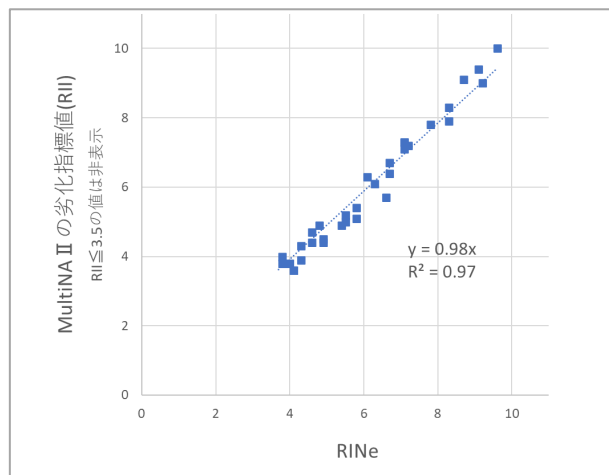


図5 RIIとRIIeとの比較

MultiNAは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
<https://www.an.shimadzu.co.jp/>

01-00827-JP 初版発行：2024年 11月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文書に記載されている製品は、医薬品医療機器法に基づく医療機器、体外診断用医薬品として承認・認証を受けておりません。本文書に記載されている分析手法を治療診断目的およびその手続き上で使用することはできません。

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。本文中に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していません。

▶ アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



▶ MultiNA II MCE-301

マイクロチップ電気泳動システム

関連分野

▶ ライフサイエンス

▶ ゲノミクス

▶ 価格お問い合わせ

▶ 製品お問い合わせ

▶ 技術お問い合わせ

▶ その他お問い合わせ