

ハンマーと Micro Smash™MS-100 による total RNA 抽出の比較

九州大学 農学部附属高原農業実験実習場

試料：牛骨格筋（胸最長筋）

※ サンプルング後、 -80°C で保存したもの。破碎処理前に液体窒素中に移した。

抽出液：ISOGEN（NIPPON GENE CO., LTD.）1ml

方法：

① ハンマー

試料を葉包紙で包み、 -30°C のクリオスタット内でハンマーを使ってたたいて破碎した。

破碎した試料は抽出液の入ったチューブに移し、ホモジナイズした（VORTEX を使用）。

② MS-100

破碎条件

beads：ステンレス $\phi 5.5\text{mm} \times 1$ 個 ガラス $\phi 1\text{mm} \times 0.5\text{g}$

回転数、時間：5,000rpm 30sec $\times 2$

※ 間にサンプルを氷上に置く 1 分間の冷却を入れた。

①、②とも破碎後は ISOGEN のプロトコールに従って同じ方法で RNA の抽出を行った。

抽出した RNA の状態を比較するため、RT-PCR を行い電気泳動によるチェックを行った。どちらも totalRNA 量が 500mg になるように調整した。

結果

1) totalRNA 濃度の比較

	サンプル重量 (mg)	吸光度 A260	RNA conc. (ng/ μl)	A260/A280
ハンマー	190	0.129	514.0	1.863
MS	180	0.383	1530.7	1.902

MS に用いたサンプルの方が重量にして 10mg 少なかったにもかかわらず、RNA 濃度はハンマーによる破碎に比べて約 3 倍高い値を示した。

ハンマーによる破碎は、破碎したサンプルをチューブに移す際に一割ほど回収できず、また VORTEX をかけても塊を完全に砕くことができなかった。

2) RNA 保存状態の比較



1, 2 : ハンマー 3, 4 : MS

1 2 3 4

(primer : RPL7)

破碎方法を問わず、目的の断片が増幅された。

しかし、RT-PCR に用いた totalRNA を同じ量に調整したにもかかわらず、PCR による増幅量は MS によるもののほうが多かった。

MS による破碎は RNA の回収量、質どちらにおいてもハンマーより優れているという結果が得られた。