

# 酵母からの高純度 total RNA 調製を容易にする 前処理試薬

## Yeast Processing Reagent (for total RNA preparation)

製品コード 9089 20回 ¥12,000

- 主な酵母(属)で total RNA 調製時の前処理試薬として有効に作用
- 液体窒素を用いる煩雑な破碎処理は不要
- 1 チューブ単位で酵母菌体が処理できるので多サンプルの処理にも最適
- FastPure® RNA Kit と併用すれば有機溶媒は不要

一般的に酵母は強固な細胞壁を有するため、そのままでは total RNA の調製が困難です。また、液体窒素中で細胞壁の破碎を行う従来の前処理法は、操作が煩雑で破碎中にロスが生じるのでまとまった量の酵母菌体を準備する必要があります。少量、多サンプルの処理には適していません。新発売の本製品は、酵素的に酵母細胞壁を分解することにより効率の良い total RNA 調製を可能にします。液体窒素は用いず、1 チューブ単位で酵母菌体を処理できるため、少量、多サンプルの処理にも非常に適しています。本製品はスピカラムタイプの total RNA 抽出試薬 FastPure® RNA Kit やフェノール系抽出試薬である RNAiso Plus と組み合わせて用いることで、酵母からの高純度 total RNA 調製が可能になるよう最適化されています。特に FastPure® RNA Kit との組み合わせは、多サンプルからの効率的な total RNA 調製にお勧めです。

### ■ 酵母 total RNA 調製の操作フロー

酵母菌体 (1 倍体 *S. cerevisiae* の場合:  $2 \sim 5 \times 10^7$  個)<sup>\*1</sup>

↓ ← 10,000 rpm, 4℃, 2 分間遠心

培地を除去し、ペレットに氷冷滅菌水 (1 ml) を加えてピペッティング

↓ ← 10,000 rpm, 4℃, 2 分間遠心

上清を除去し、ペレットに Yeast Processing Buffer (80 μl) を加えてピペッティング

↓

Yeast Processing Enzyme Solution (8 μl) を加えてピペッティングまたは指で軽く弾いて混合

↓

30℃ で 30 分～1 時間反応 (10～20 分ごとに指で軽く弾いて混合)

↓

FastPure® RNA Kit または RNAiso Plus の改変プロトコール<sup>\*2</sup>にて total RNA を調製

\*1: 最適な酵母菌体数は酵母の種類や培養条件によって変動します。

\*2: Yeast Processing Reagent (for total RNA preparation) の説明書を参照してください。

### ■ 内容 (20 回)

Yeast Processing Buffer <sup>*1</sup>	1.6 ml
Yeast Processing Enzyme Solution <sup>*1</sup>	160 μl
RNase-free DNase I <sup>*2</sup>	120 μl
10 × DNase I Buffer <sup>*2</sup>	80 μl

\*1: 酵母の前処理工程で使用します。

\*2: FastPure® RNA Kit を用いる total RNA 調製段階で使用します。

### ■ 実験例 1: 他社製酵母 total RNA 調製キットとの比較

#### 【方法】

本製品と FastPure® RNA Kit または RNAiso Plus の組み合わせで、出芽酵母 *S. cerevisiae* の培養液から total RNA を調製した。また、A 社酵母 total RNA 調製キットならびに一般的な液体窒素による前処理と RNAiso Plus を用いた方法での調製も行い、それぞれの調製プロトコールに従って得られた total RNA の収量と純度を、吸光度測定 (A<sub>260</sub>、A<sub>280</sub>) および電気泳動により比較した。

#### 【結果】

本製品と FastPure® RNA Kit または RNAiso Plus を組み合わせることにより、A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> の比率が 2.0 以上の高純度な total RNA が高収量で調製できました (表 1)。また、電気泳動の結果から、ゲノム DNA の混入が少なく分解も見られない高純度な total RNA であることが確認できました (図 1)。

表 1 各方法で調製した total RNA の収量と純度

調製方法	酵母菌体量 (個)	回収液量 (μl)	収量 (μg)	A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub>
液体窒素での前処理* + RNAiso Plus	$5 \times 10^7$	50	12.6	2.0
A 社キット	$5 \times 10^7$	60	2.1	1.9
本製品での前処理 + RNAiso Plus	$5 \times 10^7$	50	56.9	2.1
本製品での前処理 + FastPure® RNA Kit	$5 \times 10^7$	50	21.5	2.2

\* 液体窒素を用いた方法ではロスを避けるために 4 チューブ分の酵母菌体をまとめて破碎し、RNAiso Plus にて total RNA 調製を行いました。表では 1 チューブ当りの収量に換算しています。

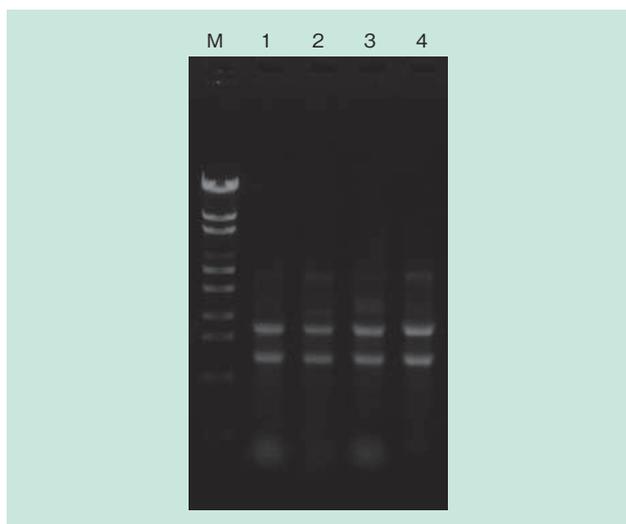


図1 total RNAの電気泳動写真-1

レーン1：液体窒素＋RNAiso Plus  
 2：A社酵母 total RNA 調製キット  
 3：Yeast Processing Reagent＋RNAiso Plus  
 4：Yeast Processing Reagent＋FastPure<sup>®</sup> RNA Kit  
 M：λ-EcoT14 I digest  
 使用ゲル：1% Agarose L03  
 アプライ量：各0.25 μg

## ■ 実験例2：Saccharomyces属、Candida属、Pichia属酵母からのtotal RNA調製

### 【方法】

各酵母(*S. cerevisiae*, *C. boidinii* NBRC 10574, *P. pastoris*)を培養し、OD<sub>600</sub> = 1.3相当の各培養液より、本製品とFastPure<sup>®</sup> RNA Kitを組み合わせてtotal RNAを調製した。吸光度測定(A<sub>260</sub>、A<sub>280</sub>)および電気泳動により得られたtotal RNAの収量と純度を確認した。

### 【結果】

いずれの酵母からもA<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>の比率が2.0以上の高純度なtotal RNAが調製できました(表2)。また、電気泳動の結果から、ゲノムDNAの混入が少なく分解も見られない高純度なtotal RNAであることが確認できました(図2)。

表2 各酵母から調製したtotal RNAの収量と純度

サンプル	回収液量(μl)	収量(μg)	A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub>
<i>S. cerevisiae</i>	50	61.5	2.2
<i>C. boidinii</i>	50	39.2	2.2
<i>P. pastoris</i>	50	68.3	2.2

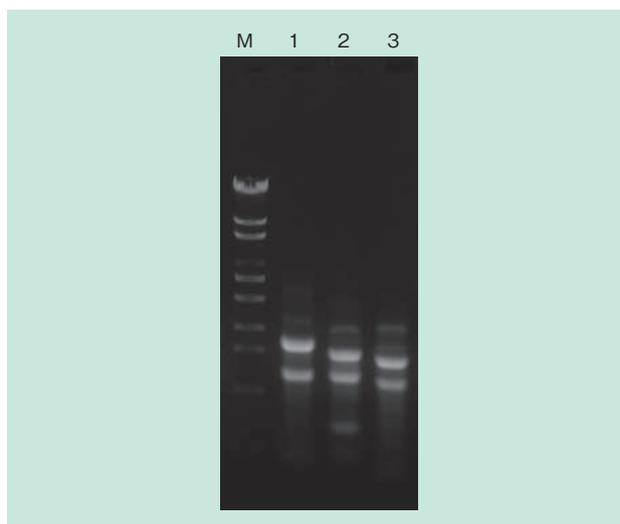


図2 total RNAの電気泳動写真-2

レーン1：*S. cerevisiae*  
 2：*C. boidinii*  
 3：*P. pastoris*  
 M：λ-EcoT14 I digest  
 使用ゲル：1% Agarose L03  
 アプライ量：各0.5 μg

### ■ まとめ

Yeast Processing Reagent(for total RNA preparation)で酵母菌体を前処理し、FastPure<sup>®</sup> RNA KitやRNAiso Plusを用いてtotal RNAを調製することで、比較的難度が高い酵母からのtotal RNA調製を、高純度かつ高収量で効率良く行えることがわかりました。再現性が高いことも確認しています。

なお、対数増殖期の新鮮な酵母菌体を用いる場合には、標準プロトコールで30℃、30分～1時間行う前処理反応を37℃、10分間に短縮しても良好なtotal RNA調製が可能です。

### ■ 関連製品

- ・FastPure<sup>®</sup> RNA Kit  
 製品コード 9190 50回 ¥24,000
- ・RNAiso Plus  
 製品コード 9108 100 ml ¥17,000  
 9109 200 ml ¥29,000
- ・Oligotex<sup>™</sup>-dT30<Super> mRNA Purification Kit (From Total RNA)  
 製品コード 9086 20回 ¥32,000

### 酵母からのゲノムDNA調製用

- ・Genとるくん<sup>™</sup> (酵母用) High Recovery  
 製品コード 9082 30回 ¥13,000