



定 量 上 手 は



実 験 上 手 !

核酸定量女子トーク



核酸実験では、核酸を精製することが目的ではなく、精製した核酸を用いて解析をすることが目的よね。精製方法の検討も重要だけど(Maxwell®活用して!)、解析の成功には精製した核酸の「量」と「品質」を正しく評価することがとっても重要なの!なんで?って、それじゃあそれぞれの大切さをあなたに説明差し上げるわ。

1 量

精製した核酸がそもそも目的のアプリケーションに十分な量があるかどうか知る必要があるのは当たり前よね。でも精製した核酸の濃度を誤って見積もってしまったら、後の実験の成功やデータの正確性に影響する恐れがあるわ。だから精製した核酸濃度はできるだけ正確に測定したほうがいいよ。吸光度測定は簡単に濃度測定できるからみんな使ってると思うけど、感度が不十分だったり不純物が含まれていたら正確に濃度測定できないの。濃度測定では蛍光測定法を使うのがおすすめ!プロメガにもQuantiFluor®っていう蛍光濃度測定試薬があるわ。qPCR実験のガイドラインをまとめたMIQEでもRNA結合蛍光色素の使用が推奨されているわ。え、MIQEってなに? MIQEを知らないと論文文化の時にマズイ時代が迫っているのよ!ゾクとしたそのあなた、今すぐプロメガのMIQEセミナー(無償)を依頼して、MIQEのこと正しく知る?

2 品質

純度と分解度をちゃんと知ることが重要なの。純度は吸光度測定のア260/A280とA260/A230から見積もることができるわよね。もしこれらの比が適正範囲内から外れちゃったら、不純物が含まれている可能性が高いし、正確な濃度がわからなくなるどころかPCRもかかりにくくなっちゃう恐れあり、注意が必要よ!核酸も恋愛もピュアに限るわよね。じゃあ純度が悪かったらどうしたらいいの?そんな時はReliaPrep™ RNA/DNA Clean-Up and Concentration System(カタログ番号 RNA: Z1071, DNA: A2891)がお助けよ!7µl溶出できるって何気にすごくない!?でもね、吸光度測定での純度チェックだけじゃ不十分な時もある。分解度の評価を忘れちゃダメよ。

特にRNAは分解を受けやすいし、分解の程度が異なるサンプルでqPCR解析すると、本来と異なる結論が導かれることもあるから注意が必要!だから精製したRNAの分解度を適切な方法で確認することが肝要!RNAと比べてDNAは比較的安定だけど、分解度をきちんと評価しないと正確な解析ができない恐れもあるわ。特にFFPEサンプルには注意して!ホルマリン固定したサンプルのDNAは断片化していることが多いし、化学修飾の影響やPCR阻害物質の混入でPCRがかかりにくくなることもある。だから分解度だけでなくPCRにかかるかどうかを事前に確認することも大切!プロメガにはProNex® DNA QC Assayっていう優れた製品があって、qPCR装置だけで分解度を評価できるだけでなく「PCR増幅可能なDNA濃度」も評価できるから、アプリケーションを確実に成功に導ける可能性が高くなるわ。

精製した核酸の状態を正しく把握することは、その後の解析の成功に極めて重要よ!さらに言えば、NGSとか高価なアッセイをお考えのあなた、精製した核酸の状態を正しく見なかったが故にNGSにかけられなかったり、不正確なデータを取ってしまったら、時間と労力とコストの無駄よ!品質確認って地味よね、でもすごく大切だってことわかってくれたらうれしいな。地味な作業でも大切に思ってる人は研究上手よ、まちがいないわ!だからね、量と品質、適切な方法できちんと評価しよ?

MIQE セミナー絶賛開催中!

学術部による無償の訪問セミナーです。
ラボメンバー全員でMIQEを学びませんか?
お問合せはプロメガ学術部まで。

E-mail : prometec@jp.promega.com

