



Application

次世代シーケンス用DNA断片の再現性高いサイズセレクション

製品名

自動DNA断片ゲル抽出システム Pippin Prep (PIPD001)

ピッピン プレップ

メーカー名

Sage Science 社

セージ サイエンス

このアプリケーションノートは、独立行政法人 沖縄科学技術研究基盤整備機構 テクノロジー・センター DNAシーケンシング課様のご厚意により作成いたしました。

実験①

自動DNA断片ゲル抽出システムPippinPrepによるDNAサイズセレクションについて、2つのモードを実証しました。

- (1) Tightモードで400bpを抽出
- (2) Rangeモードで350bp-650bpの範囲を抽出

実験②

PippinPrepと現行法(L社電気泳動システム)で400bpを抽出した場合のレーン間のバラツキを比較しました。



実験①の条件

自動DNA断片ゲル抽出システムPippinPrepによるDNAサイズセレクションについて、2つのモードを実証しました。

● サンプル情報

サンプル: Covaris により超音波破碎した断片化Lambda DNA
フラグメントサイズ: 50bp - 2000bp

● 泳動条件

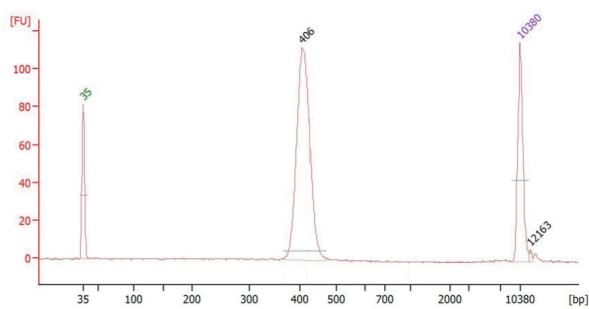
・ Pippin Prep

ゲル濃度: 1.5% Gel カセット
抽出条件: (1) Tightモードで400bpを抽出
(2) Rangeモードで350bp-650bpの範囲を抽出
サンプル泳動量: 4 μ g /レーン (ロード量は40 μ lに調製)

実験①の結果

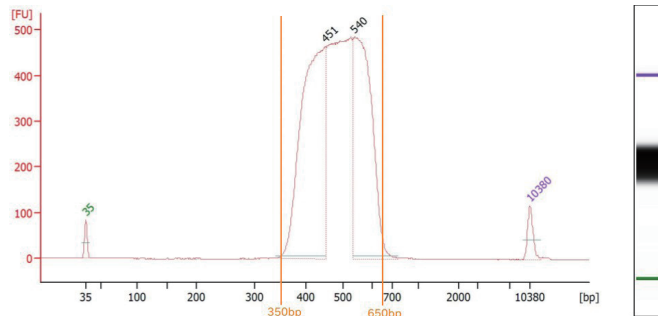
抽出したDNAをBioanalyzer (Agilent社) で解析しました。

(1) Tightモードで400bpを抽出



400bp (Tight mode)

(2) Rangeモードで350bp-650bpの範囲を抽出



350-650bp (Range mode)

実験②の条件

PippinPrepと現行法(L社電気泳動システム)で400bpを抽出した場合のレーン間のバラツキを比較しました。

● サンプル情報

サンプル: Covaris により超音波破碎した断片化Lambda DNA
 フラグメントサイズ: 50bp - 2000bp

● 泳動条件

・ Pippin Prep

ゲル濃度: 1.5% Gel カセット
 抽出条件: Tightモードで400bpを抽出
 サンプル泳動量: 4 μ g /レーン (ロード量は40 μ lに調製)

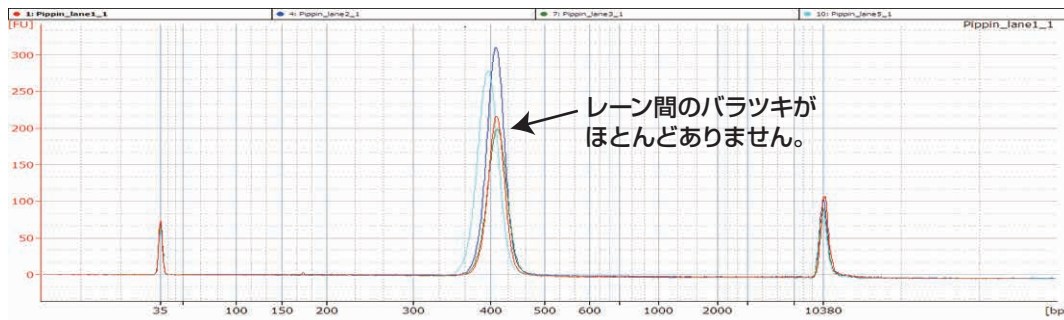
・ 現行法 (L社電気泳動システム)

ゲル濃度: 2% Gel カセット
 抽出サイズ: 400bp
 サンプル泳動量: 1 μ g /レーン (ロード量は20 μ lに調製)

実験②結果

抽出したDNAをBioanalyzer (Agilent社)で解析しました。

(1) Pippin Prepのレーン間の再現性 (400bp抽出)

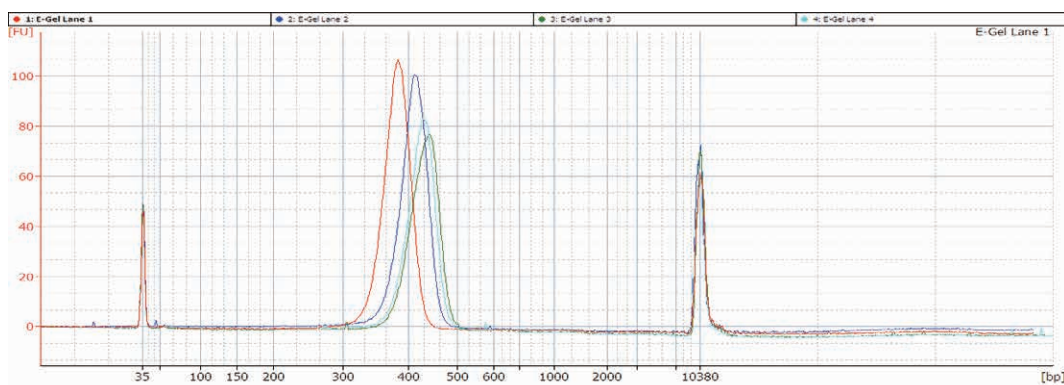


| レーン | ピーク位置(bp) |
|-----|-----------|
| 1 | 409 |
| 2 | 408 |
| 3 | 410 |
| 5 | 395 |

※レーン4はマーカーレーンで使用

Avg. = 405.50bp
 S.D. = 6.10bp

(2) 現行法 (L社電気泳動システム) のレーン間の再現性 (400bp抽出)



| レーン | ピーク位置(bp) |
|-----|-----------|
| 1 | 383 |
| 2 | 413 |
| 3 | 442 |
| 4 | 430 |
| 5 | 432 |
| 6 | 434 |
| 7 | 417 |
| 8 | 374 |

Avg. = 415.23bp
 S.D. = 23.22

まとめ

Bioanalyzer (Agilent社)での解析で、Pippin Prepは「Tightモードでの400bpの抽出」、
 「Rangeモードでの広いレンジ抽出(350bp-650bp)」、どちらも良好な抽出結果が示されました。
 また、レーン間のバラツキについて現行法と比較した結果、Pippin Prepでは一貫した再現性が得られました。



お客様のコメント

PippinPrepは従来のゲル切出しよりも大幅なハンズオンタイムの短縮を可能にしてくれます。
 得られるDNAサイズの再現性も高く、抽出できるレンジが50bp~10Kbpということで多様なアプリケーションへの利用が期待されます。