



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、大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 比較ゲノム解析研究室様のご厚意により作成させていただきました。

実験条件

同一ライブラリーから、PippinPrepシステムによる自動分画と、従来法（マニュアルでのゲル抽出）で分画回収したサンプルの分画精度および回収率を比較検証しました。

- **サンプル情報** サンプル : HydroShear®により断片化されたラットのゲノムDNA
- **泳動条件** ゲル濃度 : 0.75%ゲルカセット
抽出条件 : (1) タイトモードで3kbを抽出 (Pippin設定条件は2.6kb)
 (2) タイトモードで5kbを抽出 (Pippin設定条件は4.4kb)
サンプル泳動 : 4.5ug/レーン (ロード量は40uLに調製)

- **次世代シーケンサー** : Illumina HiSeq 1000
- **ライブラリー** : Mate PairLibrary Prep Kit

- **比較検証方法** 同一のラットgDNAライブラリーから、PippinPrepシステムおよびマニュアル法で、3kbと5kbを分画回収。その後、Agilent社BioAnalyzer DNA12000チップを用いて、分画サイズおよび回収量を検証しました。



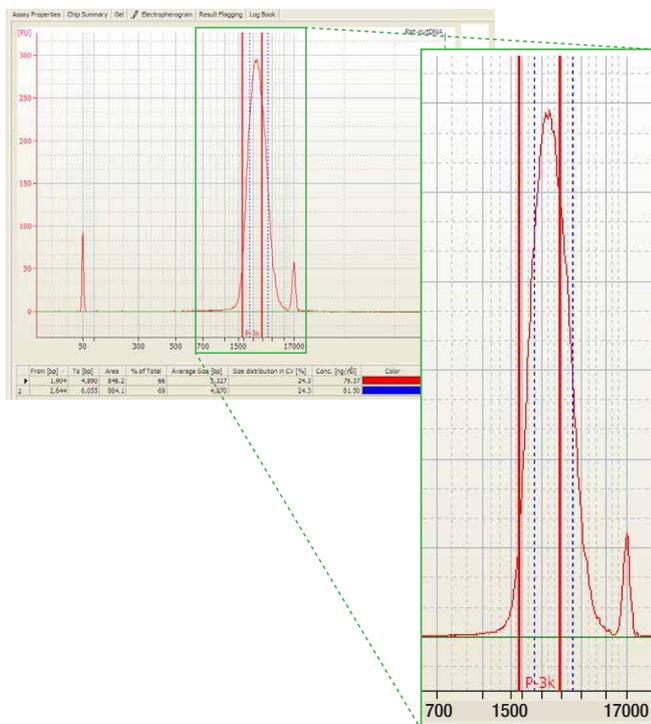
自動DNA断片ゲル抽出システムPippinPrep

実験結果

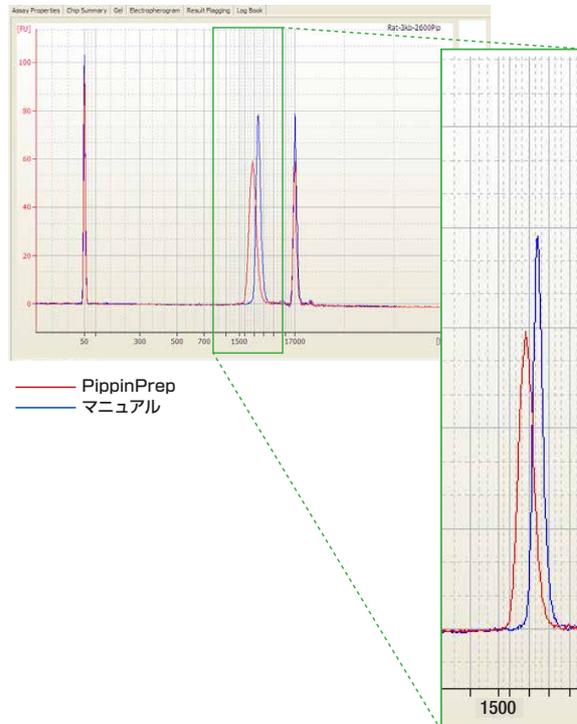
分画したDNAの解析結果 (Agilent社BioAnalyzer DNA12000チップ)

分画条件: (1) タイトモードで3kbを分画 (Pippin設定条件は2.6kb)

●分画前



●分画後



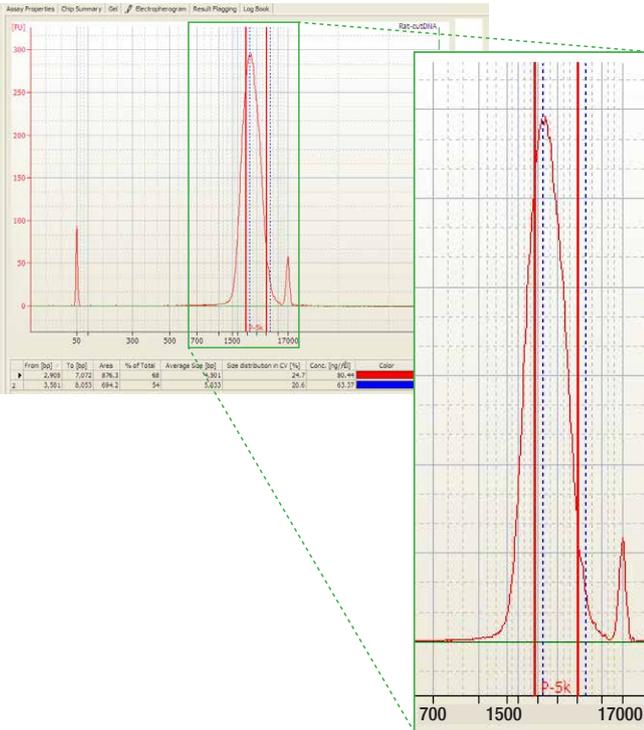
3kbターゲットでの分画結果

	PippinPrep	マニュアル
分画サイズ (アベレージ)	2,950bp	3,929bp
分画前DNA量 (推測値)	2,381ng (79.37ng×30μL)	2,445ng (81.5ng×30μL)
回収DNA量	667ng (9.53ng×70μL)	506ng (6.33ng×80μL)
回収率	28.0%	20.6%

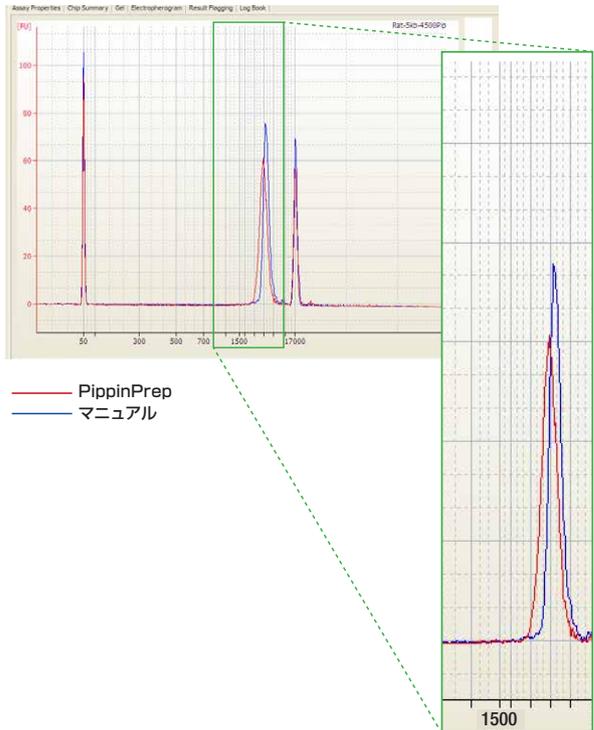
PippinPrepで分画したライブラリーの方が目的サイズに近く、回収率も高かった。

分画条件: (2) タイトモードで5kbを分画 (Pippin設定条件は4.4kb)

●分画前



●分画後



5kbターゲットでの分画結果

	PippinPrep	マニュアル
分画サイズ (アベレージ)	4,920bp	5,568bp
分画前DNA量 (推測値)	2,413ng (80.44ng×30μL)	1,901ng (63.38ng×30μL)
回収DNA量	639ng (9.69ng×66μL)	648ng (8.11ng×80μL)
回収率	26.4%	34.0%

PippinPrepで分画したライブラリーの方が目的サイズに近く、回収率できたDNA量もマニュアルと同等でした。



お客様のコメント

PippinPrepで分画回収したライブラリーは、マニュアルでゲル抽出したライブラリーに比べて、分画サイズの精度が高い。また、懸念された回収率に関しても、マニュアルでのゲル抽出とほぼ同程度の回収率が得られた。今まで多大な労力と時間と作業者の習熟度を必要としていたゲル抽出を自動化できることによって、ライブラリー調製工程の大幅な簡略化が期待できる。