



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、理化学研究所オミックス基盤研究領域の受託解析サービス (GeNAS) 樽井先生のご厚意により作成いたしました。

実験① 断片化したサンプルから200bp分画の回収を
①PippinPrep, ②C社抽出装置 それぞれで行い比較しました。

実験② Illumina small RNA Library (エンリッチPCR) から
PippinPrepで142bpを抽出した場合の再現性を検証しました。



自動DNA断片ゲル抽出システムPippinPrep

実験①の条件

断片化したサンプルから200bp分画の回収を ①PippinPrep, ②C社抽出装置 それぞれで行いました。

●サンプル情報

サンプル : Covaris により超音波破碎した断片化ゲノムDNA
フラグメントサイズ : 50bp - 1,200bp

●泳動条件

・Pippin Prep

ゲル濃度 : 2.0% Gel カセット
抽出条件 : Tightモードで200bpを抽出
サンプルアプライ量 : 750ng / レーン (ロード量は40μlに調製)

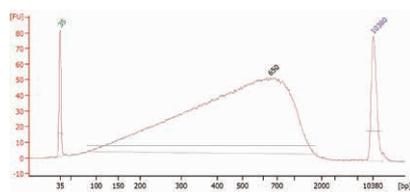
・C社

ゲル濃度 : メーカー推奨のゲルを使用
抽出条件 : 200bp±5% を抽出
サンプルアプライ量 : 250ng/レーン

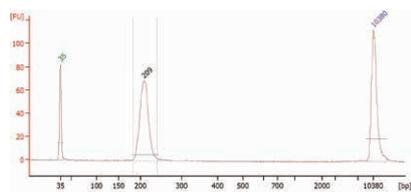
実験①の結果

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

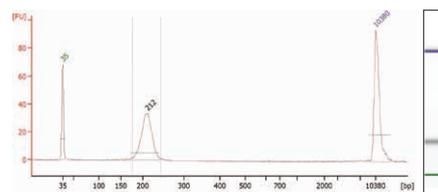
抽出前



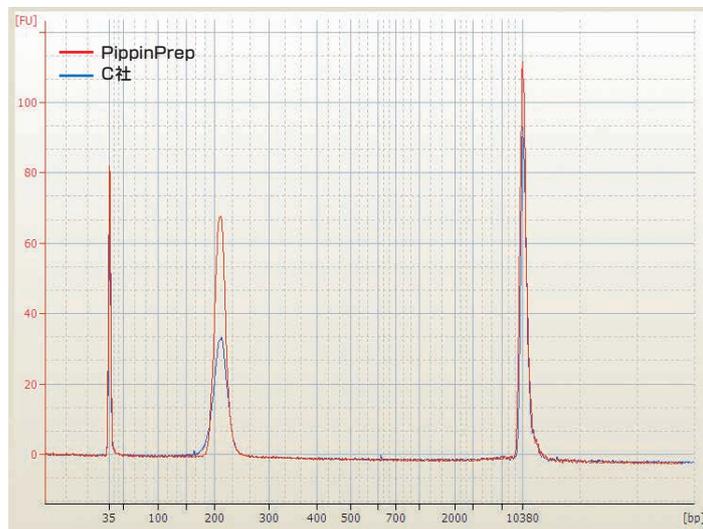
(1) PippinPrepで200bpを抽出



(2) C社抽出装置で200bpを抽出



上図の(1), (2)を
重ね合わせたグラフ



200bpの回収率はPippinPrepがC社抽出装置より約3割高くなりました。

実験②の条件

PippinPrepで142bpを抽出した場合の再現性を検証しました。

● サンプル情報

サンプル : TruSeq small RNA sample prep guideに従って調製したsmall RNA library (PCR product)
フラグメントサイズ : 20bp - 300bp

● 泳動条件

・ Pippin Prep

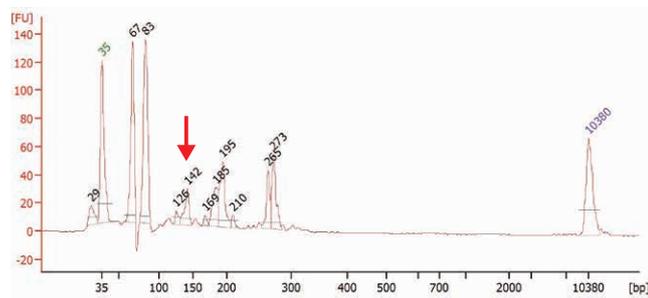
ゲル濃度 : 3.0% Gel カセット
抽出条件 : Rangeモード125 - 160bp設定で142bpを抽出 (22nt のmicro RNA 分画を抽出)
サンプルアプライ量 : PCR product 30μl

実験②結果

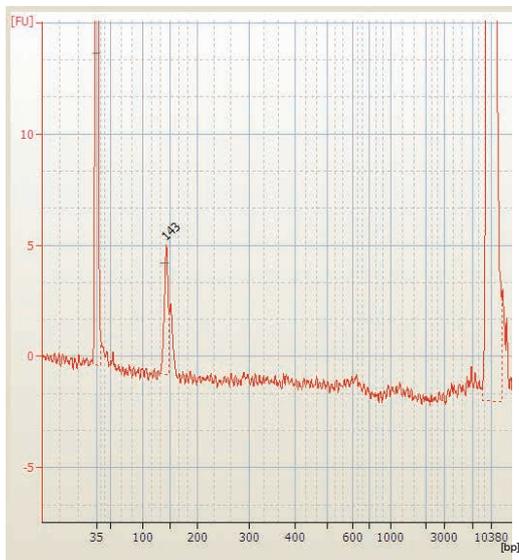
抽出したDNAをBioanalyzer (Agilent社) で解析しました。

Pippin Prepの再現性 (142bp抽出)

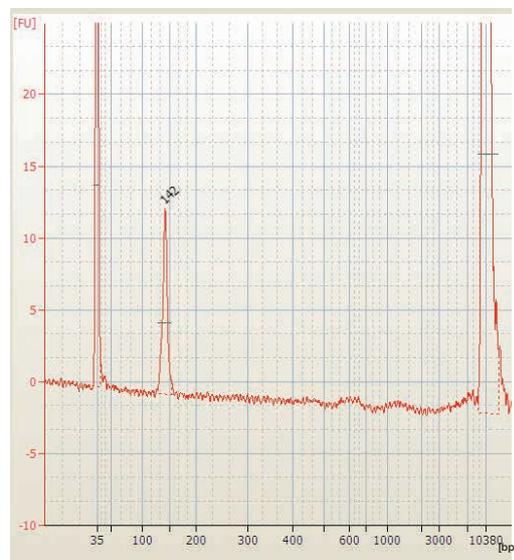
抽出前



(1) 抽出1回目



(2) 抽出2回目



まとめ

Bioanalyzer (Agilent社) での解析で、Pippin Prep は「Tightモードでの200bpの抽出」、「Rangeモードでの142bp抽出」、どちらも良好な抽出結果が示されました。

また、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C社抽出装置よりも回収率は約3割高くなり、抽出サンプルの回収純度および効率が非常に良かった。ゲル切出しよりも大幅な作業時間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、安定したシーケンシングが大いに期待できます。