



Application

# ゲル抽出による高分子DNAを除去したライブラリー作成でのリード数の向上

製品名

自動DNA断片ゲル抽出システム Pippin Prep (PIPD001)

メーカー名

Sage Science 社

このアプリケーションノートは、独立行政法人 国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター 杉山真也様のご厚意により掲載させていただきました。

## 実験条件

- 比較検証方法 同一のサンプルを、①AMPureXPで精製、②AMPureXP+PippinPrepでそれぞれサイズ分画し、ライブラリー調製しました。その後、Agilent社BioAnalyzer DNA High Sensitivity DNA Assayチップを用いて、分画サイズを確認しました。さらに①、②それぞれのライブラリーをシーケンスし、結果を比較しました。
- サンプル情報 サンプル：シーケンス用ライブラリーサンプル
- ライブラリーキット GS FLX Titanium Rapid Library Kit
- 泳動条件 ゲルカセット：1.5%ゲルカセット  
抽出条件：レンジモードで500~900bpを抽出
- シーケンサー Roche GS Junior
- ライブラリー定量 Kapa Library Quantification Kit を用いたqPCRで測定

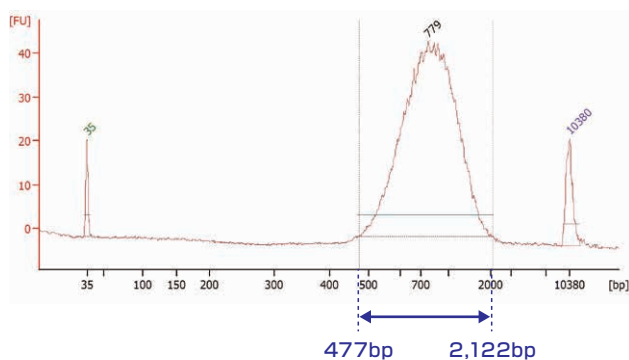


自動DNA断片ゲル抽出システムPippinPrep

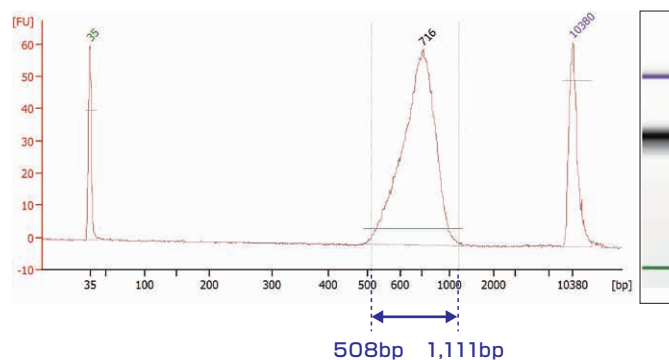
## 実験結果

### ● 分画したDNAの解析結果 (Agilent社BioAnalyzer DNA High Sensitivity DNA Assayチップ)

#### ①AMPureXPのみで精製



#### ②AMPureXP+PippinPrepで精製 (約1kb以上の高分子を除去)



### ● シーケンス結果

		AMPure® XPでの精製のみ	AMPure® XP+PippinPrepで精製
ライブラリー	raw wells	235,956	215,592
	Key pass wells	229,899	210,863
	Passed filter wells	131,841	144,418
	%passed filter	57.35	68.49
	Ave Read Length (bp)	373.40	454.42
total bases (bp)		49,229,958	65,625,734
コントロール	解読精度	100%	69.97%
	≥98%	89.34%	85.63%
	≥93%	93.07%	90.41%



お客様のコメント

PippinPrepで高分子DNAを除去する事により、リード数 (passed filter wells)と平均リード長が向上しました。コントロールピースのシーケンス結果を考慮しても、PippinPrepでの高分子除去は、総解読量 (total bases) の向上に効果的と考えられます。