

次世代シーケンササンプルの品質確認

Agilent 2100バイオアナライザによるDNA分析

次世代シーケンサのワークフローにおけるDNA品質確認の重要性

次世代シーケンサのワークフローにおいては、ゲノムDNAの断片化後や、ライブラリ作成時など、様々なステップでサンプルDNAの品質確認が必要となります。

特にリード長の短い次世代シーケンサでは、サイズ分析をおろそかにするとシーケンスのカバレッジを十分に確保できないことがあります。

また、SureSelectによるキャプチャサンプルや免疫沈降DNAでは、得られるDNA量が極めて少なく、シーケンスに先立ち増幅する必要があります。特にPCRによりライブラリを調製する場合には、反応のバイアスの影響を避けるためにサイクル数を減らすことがポイントです。しかし、これまで微量DNAサンプルの濃度を測定するための簡便な方法がありませんでした。濃度測定をせずにシーケンシング反応を行うと、十分なシーケンスリードが得られないことがあります。



・SureSelect

巨大なゲノムの中から注目している領域だけを取り出すことにより次世代シーケンシングの効率を劇的に向上させる画期的な製品です。

次世代シーケンサアプリケーションとバイオアナライザ

この様に、次世代シーケンサの測定データを十分かつ確実に得るためには、サンプルDNAの品質確認（サイズ分析や濃度測定）をより高精度・高感度に行うことが重要です。

こんなとき、バイオアナライザによるDNA分析なら、わずか1μLのサンプルで、分子量分布や濃度などのサンプルDNAの品質に関する情報を確認することが可能です。

また、新しく登場したAgilent DNA High Sensitivityキットなら、Agilent DNA 1000キットに比べて数10倍も感度が向上しており、より微量のDNA試料についても分子量分布や濃度を明確に評価することが可能となりました。（詳しくは <http://Agilentgenomics.jp/NGS-BioA> へ）

・Agilent DNA 1000キット

分析分子量範囲：25-1000 bp

定量直線濃度範囲：0.1-50 ng/μL*

・Agilent DNA High Sensitivity キット

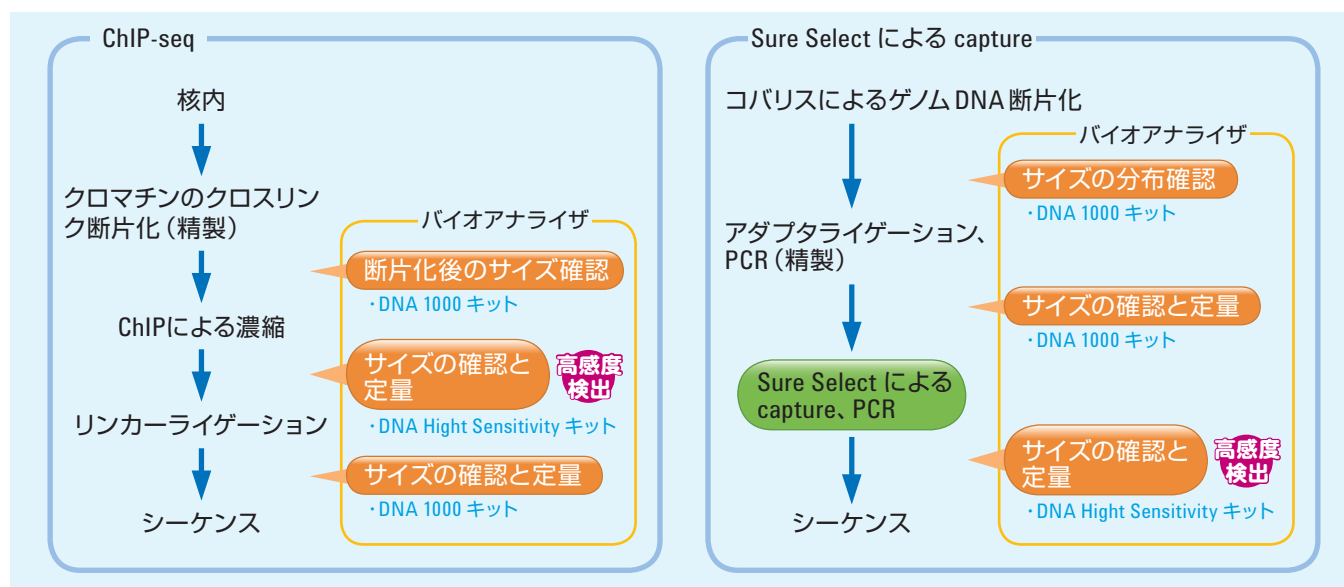
分析分子量範囲：50-7000 bp

定量直線濃度範囲：5-500 pg/μL*

(*DNAラダによる)

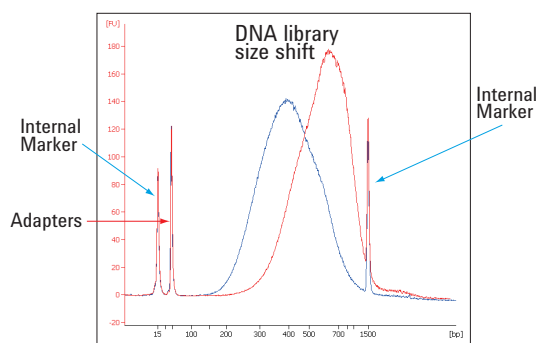


次世代シーケンサのワークフローにおけるバイオアナライザによる DNA QC



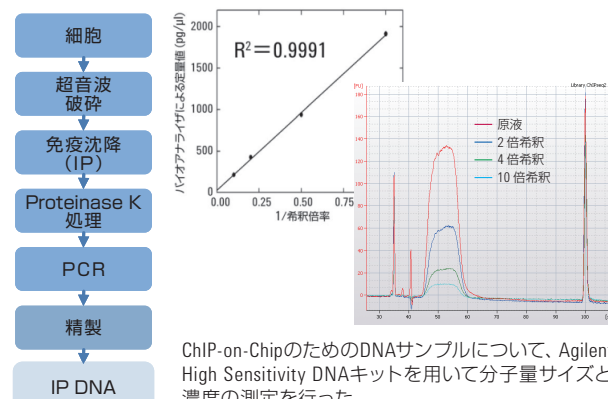
次世代シーケンサアプリケーションとバイオアナライザ

DNAライブラリのサイズ確認例



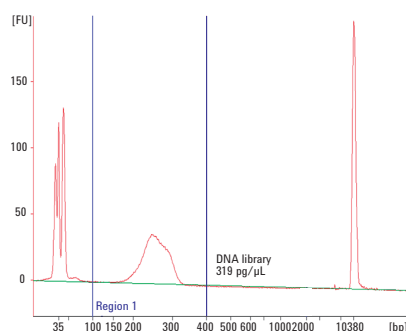
バイオアナライザのDNAキットを用いると断片化DNAサンプルやDNAライブラリのサイズや量を簡単に比べることができます。

免疫沈降DNAの品質確認例



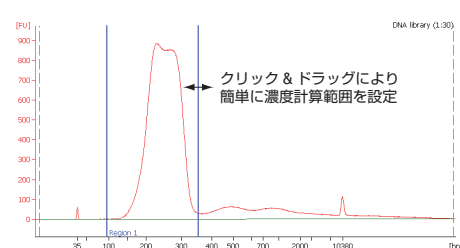
ChIP-on-ChipのためのDNAサンプルについて、Agilent High Sensitivity DNAキットを用いて分子量サイズと濃度の測定を行った。

SureSelect 後の定量例



バイオアナライザのHigh Sensitivity DNAキットを用いると、SureSelect にてキャプチャしたライブラリに対し、より少ない PCR サイクル数で増幅を行い、サイズ確認と定量ができます。

洗練された使いやすいソフトウェア



% of Total	Average Size [bp]	Size distribution in CV [%]	Conc. [pg/μL]	Molarity [pmol/L]
89	251	15.3	16,205.31	100,434.8

スマな泳動パターンを示すDNAサンプルの濃度を簡単に計算できる機能が加わりました。特定のbpエリアを選択するだけで、その範囲の濃度を自動で計算します。

(バイオアナライザ用のソフトウェアExpert B.02.07以降対応)

【分析仕様】

	Agilent DNA 1000 キット	Agilent DNA 7500 キット	Agilent High Sensitivity DNA キット
サイジング範囲	25–1000 bp	100–7500 bp	50–7000 bp
サイジング分解能	25–1000 bp : 5 bp	100–7500 bp : 5%	50–7000 bp : ±5%
	100–500 bp : 5 bp	1000–7500 bp : 15%	600–7000 bp : ±15%
	500–1000 bp : 10%		
サイジング精度	+10% CV*	+10% CV*	±10% CV*
サイジング再現性	5% CV*	5% CV*	5% CV*
定量精度	20% CV*	20% CV*	20% CV*
定量再現性	25–500 bp : 15% CV*	100–1000 bp : 10% CV*	50–2000 bp : 15% CV*
	500–1000 bp : 5% CV*	1000–7500 bp : 5% CV*	2000–7000 bp : 10% CV*
定量範囲	0.1–50 ng/μL*	0.1–50 ng/μL*	5–500 pg/μL*
サンプル中の許容最大塩濃度	KClで250 mM	KClで250 mM	10 mM Tris および 1 mM EDTA
	MgCl ₂ で15 mM	MgCl ₂ で15 mM	
	NaClで250 mM	NaClで250 mM	

* サンプルとして各 DNA ラダーを使用 **単一フラグメントの場合

SureSelect Target Enrichment System については別途お問い合わせください。

【お問い合わせ窓口】
 アジレント・テクノロジー株式会社
 本社 〒192-8510 東京都八王子市高倉町9-1
 カスタマコンタクトセンター
 TEL. 0120-477-111/FAX. 0120-565-154
www.agilent.com/chem/jp

©Agilent Technologies, Inc. 2009
 Printed in Japan, Dec 3, 2009
 5990-5056JAP
 本資料に記載の情報は、説明、製品仕様等は
 予告なしに変更されることがあります。



Agilent Technologies