

Biobanque de Picardie によるフランスの 腎臓病研究のためのゲノム DNA の品質管理

著者

Yves-Edouard Herpe¹, Céline Lange², Anne-Sophie Bruyer¹, David Berthelot¹, Anne Boland³, Bertrand Fin³, Stéphanie Guénin⁴, Gaëlle Mongelard⁴, Dorothée Cannet⁵, Bénédicte Stengel⁶, Eva Graf⁷, and Vera Rykalina⁷

¹ Biobanque de Picardie

² Agence de la Biomédecine

³ Centre National de Recherche en Génomique Humaine

⁴ Centre de Ressources Régional en Biologie Moléculaire

⁵ Etablissement Français du Sang Bourgogne Franche-Comté

⁶ INSERM U1018

⁷ Agilent Technologies

概要

バイオバンクは医学研究、特に最近の遺伝学的研究において、特徴付けられ専門的なアノテーションが付加された、生体試料のコレクションを提供する重要な役割を担っています。科学コミュニティにおいて、高品質のサンプルが下流のアプリケーションの全体的な成功に必要なため、バイオバンクの品質標準は重要な要素です。

専門的な基盤を備えているバイオバンクでは、医療、生物学研究の研究者間の共同研究を推進するのに加え、サンプル収集から配布まで効率的な生体試料処理を確実に実現しようとしています。バイオバンクでは、サンプルの品質に影響する可能性がある原因を特定し、外部や内部のサンプル処理工程を管理することを目指しています。生体試料の採取、短期および長期間の保存、解析中のサンプル処理、他の共同研究施設や研究室への輸送において、生体試料の取扱いには注意が必要です。バイオバンクにおいて、信頼性と再現性のある品質指標を採用し、各サンプルで個別に品質を示すことが重要です。

フランスの慢性腎臓病 – 腎疫学情報ネットワーク (CKD-REIN) プロジェクトは、慢性腎臓病に関連する決定因子、バイオマーカー、および診療パターンを明らかにするために設立されたプロスペクティブコホート研究です。CKD-REIN 研究では生体試料、特に将来的にゲノムワイド関連解析 (GWAS) に利用できるサンプルの収集および処理が含まれています。コホート研究における全血サンプルは、Biobanque de Picardie でバフィーコートに処理され、ゲノム DNA (gDNA) を抽出し、品質管理 (QC) が実施されました。

本アプリケーションノートでは、Agilent 4200 TapeStation System と Genomic DNA ScreenTape Assay を最適な QC ツールとして使用し、最大 5 年間冷凍保存されたバフィーコートから抽出した gDNA の品質を調査する方法を示しています。また、TapeStation System で算出される客観的な品質指標である DNA Integrity Number (DIN) を利用し、血液処理の遅れが gDNA の品質に与える影響を評価する方法についても示しています。さらに、DIN の比較解析を行い、地域のバイオリソースセンター全体の DNA の品質を評価しました。また、Biobanque de Picardie とその共同研究施設間での DIN の測定値の相関を検証しました。DIN を利用した QC ステップにより、Biobanque de Picardie は生体試料処理のワークフローの安定性を確認し、すべての CKD-REIN のサンプルが高品質であり、GWAS に適していると確認することができました。

はじめに

CKD-REIN プロジェクトは、CKD の進行具合や治療効果をより適切に理解し管理することを目的とした進行中の研究です。CKD-REIN は臨床ベースのプロスペクティブコホートで、2013 年以降フランスで腎臓専門医主導の治療を受けている CKD ステージ 3 ～ 4 の成人患者 3,033 人が登録されています。そのデータと研究サンプルは、2016 年から科学的共同研究のために利用されています。プロスペクティブ観察コホート研究の初期の結果はすでに多くのフランスの研究機関でまとめられており、複数の包括的レビューで詳細に議論されています^{1, 2, 3}。

Biobanque de Picardie は、すべての CKD-REIN サンプルを一元化する責任を負う、認定されたバイオリソースセンターです (ISO 9001 および NFS 96900)。このプロジェクトでの Biobanque de Picardie の主な役割は、血漿、バフィーコート、血清、尿などの生物学的試料の長期保存、バフィーコートからの核酸抽出、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) の委託ラボへの高品質な gDNA サンプルの提供です。

gDNA の品質評価は一般的にアガローススラブルゲルでの電気泳動によるもので、ほとんどの研究バイオバンクでは主な手法として使用されてきました。しかし、このような DNA 品質評価は評価者の経験に依存し、コホート研究のような大規模プロジェクトでは時間と労力の面で特に煩雑となる可能性があります。4200 TapeStation System と gDNA の品質基準となる DIN は、サンプルの品質を客観的に評価するための自動化されたソリューションを提供します。4200 TapeStation System では 96 ウェルプレートからのサンプルロードが自動で、解析も自動で行われるためユーザーの操作を最小に抑えられます。DIN による品質指標は、特定のアプリケーションに必要な品質の閾値を設定するのに利用できます。DIN を使用した客観的な QC 結果は、バイオバンクとサンプル解析を実施する最終共同研究者と容易に共有することができます。

広範な CKD-REIN の研究とその目標との関連で、Biobanque de Picardie は生体試料の保存とその品質の評価のための独自の戦略を開発しました。

血液試料から得られたバフィーコートは最大 5 年間、長期間保存しました。バフィーコートから抽出した gDNA の品質は、保存期間全体にわたって 4200 TapeStation System と Genomic DNA ScreenTape Assay で評価しました。また、共同研究者のバイオリソースセンターによる血液処理の遅れやバフィーコート分離のばらつきなど、gDNA の品質に影響を与え得るさまざまな条件を客観的な DIN による品質基準を用いて調査しました。さらに、バイオバンクとエンドユーザー間での DIN 測定の再現性に関するデータも得ました。

本アプリケーションノートでは、多くのバイオバンクでの品質管理業務において、客観的で広く認識されている DIN による品質基準をさまざまなレベルでどのように実施できるかを示しています。また、バイオバンクがサンプルの品質に関して、求められる信頼性と安心を得ることができるよう、品質保証の重要性も明らかにしています。DIN による品質基準を用いて、バイオバンクの業務が共同研究機関の基準を満たす、または基準以上であることを保証することができます。

実験方法

プロジェクトにおける物流管理

慢性腎臓病－腎疫学情報ネットワーク（CKD-REIN）の大規模なサンプル処理プロトコルは、複数の重要な共同研究施設間の協力によって実現しました（図1）。全血サンプルは、フランス全土の腎臓病の診療科や診療所により収集、冷蔵されプロジェクト共同研究施設に輸送されました。血液サンプルの処理、パフィーコートの作製、短期の保管は、大学病院や Etablissement français du Sang（EFS）と提携している Centres de Ressources

Biologiques（CRB）（計 13 施設）で実施されました。パフィーコートの長期保存、gDNA の抽出、品質管理解析は、Biobanque de Picardie で実施しました。QC 解析前の gDNA サンプルは、Centre de Ressources Régionales en Biologie Moléculaire で希釈、標準化しました。ゲノムワイド関連解析（GWAS）に必要な遺伝子型解析データの作成は、Centre National de Recherche en Génomique Humaine（CNRGH、CEA）

で実施されました。すべての解析前のデータは、安全で一元化された専用のバイオバンクデータベース、Databiotech に GFI software editor を用いて記録されました。

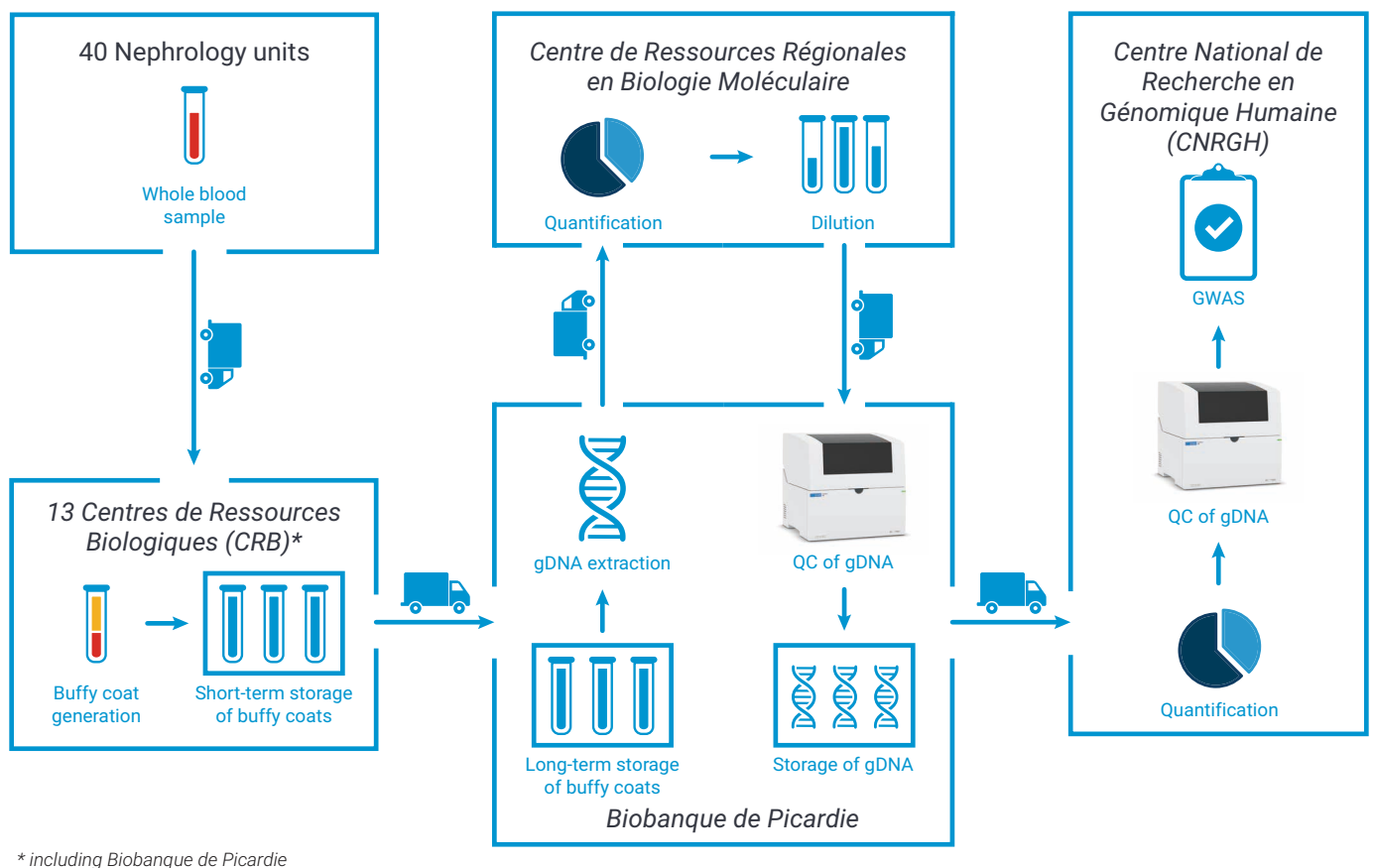


図 1. CKD-REIN 研究における物流管理の概要

サンプル調製

各 CKD-REIN 研究協力者からの全血は 4 本の Vacutainer K₂EDTA tubes (BD Biosciences、p/n 367873) に全量 24 mL を収集しました。チューブは末梢血からバフィーコートを分離するため、室温 (18 ~ 25 °C)、2000x g で 10 分間遠心しました。血漿および赤血球画分を含む 2 本の Vacutainer tubes のバフィーコートを収集し (全量 500 µL)、長期保存のために Matrix 2D Barcoded ScrewTop Storage Tube (Thermo Scientific、p/n 3743) に移しました。抽出を失敗するリスクを避ける安全対策のため、第 2 のバックアップ用保存チューブを準備しました。サンプルの処理とトレーサビリティを最適化するため、生体分子スクリーニング協会 (SBS) マイクロプレート寸法規格に適合する Barcoded Latch Racks (Thermo Scientific、p/n 4900) を使用しました。バフィーコートチューブは、温度センサおよび年中無休 24 時間の技術者によるサポート対応のアラームシステムを備えた -80 °C の機械式フリーザーに長期保存しました。すべての凍結されたクライオバイアルは、Biobanque de Picardie に移し長期保存後、一元化し抽出しました。QIAamp DNA Blood Midi Kit (Qiagen、p/n 51185) と QIAvac Connecting System (Qiagen、p/n 19419) を用いバフィーコートから gDNA を抽出し、200 µL AE buffer に溶出しました。1.5 か月間、1 日に 96 サンプルを抽出しました (計 2,689 サンプル)。

DNA 解析

gDNA サンプルの初期定量は、Infinite M1000 multimode flagship microplate reader (Tecan、p/n 1009007090) と Quant-iT PicoGreen dsDNA reagent (Thermo Fisher Scientific、p/n P7581) (520 nm) で実施しました。300 ng/µL 以上のサンプルは DIN 推奨範囲になるよう、自動化分注装置とロボットワークステーション Freedom EVO150 base unit (Tecan、p/n 1007006958) と EVOware software を使用し希釈しました。gDNA 品質解析には、Agilent 4200 TapeStation System (p/n G2991AA)、Genomic DNA ScreenTape (p/n 5067-5365) と Genomic DNA reagents (p/n 5067-5366) を用いました。gDNA サンプル調製および電気泳動解析は、装置マニュアル⁴に従って実施しました。

DNA 解析に使用したサンプル数 (n = 2,636) と研究協力者数 (n = 3,033) が異なる理由は以下の通りです。(i) 一部の研究協力者から検体採取はされませんでした。(ii) 一部のサンプルでは抽出に十分な生体試料が得られませんでした。(iii) 一部のサンプルでは、後の品質評価のための十分な抽出 DNA が得られませんでした。

DNA 再解析

GWAS のため、gDNA サンプルは Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH、CEA) に輸送され、再度、定量と品質評価を行いました。定量は、Molecular Device Spectramax plate reader と Quant-iT Broad Range dsDNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific、p/n Q331320) を用い、すべてのサンプルで 2 回実施しました。一方、サンプルの品質評価は、無作為に全体の約 15 % について実施しました。選択された gDNA の品質は 4200 TapeStation System と Genomic DNA ScreenTape Assay を使用して評価しました。サンプル処理中のあらゆるエラーを排除するため、サンプルの約 20 % について PCR による追加の施設内試験を実施し、研究協力者の性別を確認しました。

結果と考察

DNA 品質基準

gDNA スタートサンプルの品質確認は、次に続く解析には時間がかかり多大な労力を必要とし、費用もかかるため、バイオバンクと研究コミュニティの両者にとって重要なステップです。後の解析で使用する前に低品質のサンプルを特定することは、貴重な時間とリソースを節約するだけでなく、研究によって得られた共有データの保全にも役立ちます。標準化された品質基準による、生物試料処理のワークフローでの各工程を経た gDNA の安定性の正確な評価は、サンプル品質に影響を及ぼす潜在的な要因を明らかにする強力なツールです。この方法は、研究で求められる品質の閾値に達していないサンプルを事前に選定する場合にも利用できます。信頼性の高い品質基準により、高品質のサンプルを下流のアプリケーションで確実に使用でき、それらのサンプルから得られたデータは積み重ねてきた解析結果の信頼性を損なうようなことにもなりません。

4200 TapeStation System と Genomic DNA ScreenTape Assay との使用により、gDNA の迅速かつハイスループットの電気泳動が可能です。Genomic DNA ScreenTape Assay の品質基準である DIN は、gDNA 品質の客観的かつ信頼性のある評価を可能にします。DIN は 1 ～ 10 のスコアで、Agilent TapeStation Analysis Software によって自動的に計算されます⁵。

gDNA 品質のレベルを評価するための最適化された QC ツールとして、DIN 品質基準を CKD-REIN サンプルに利用しました。CKD-REIN サンプルは高い DIN を示し、gDNA が高品質であることが確認できました (表 1)。DIN を利用したサンプル品質評価により品質の閾値の設定が可能となり、プロジェクト内で結果をやりとりし再現できるようになりました。無作為に選抜した 6 サンプルの Genomic DNA ScreenTape Assay の解析結果を図 2 に示します。gDNA はゲルイメージ上に

シングルバンドとして (図 2A)、エレクトロフェログラムの重ね合わせでは明確なスミアとして (図 2B) 示されました。TapeStation Analysis Software のレポート機能を使用し、結果を文書化しました。簡単に作成されるレポートにより、CKD-REIN 共同研究者間で迅速かつ簡便にデータ転送ができました。

表 1. DIN 品質基準を使用したサンプルの品質確認の統計概要

Number of samples	DIN			
	Mean ± SD	Median	Minimum	Maximum
2,636	8.3 ± 0.4	8.4	6.4	9.7

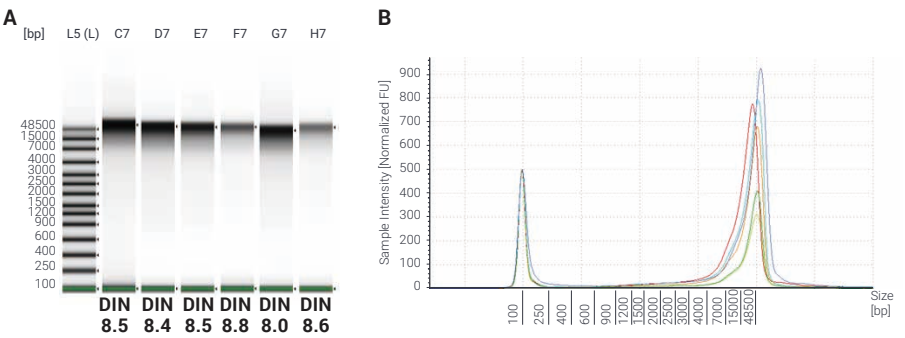


図 2. バフィーコートから抽出し、Genomic DNA ScreenTape Assay と Agilent 4200 TapeStation System で解析した 6 サンプルの gDNA 解析例。サンプルは (A) ゲルイメージと (B) エレクトロフェログラムとして表示できます。各ゲルレーンの下に自動計算された DIN が表示されます。高い DIN は分解されていない gDNA を、低い DIN は非常に分解された gDNA を示します。

長期保存バフィーコートから抽出された gDNA の QC

血液試料からの直接的な抽出は、多くの gDNA を得ることができるため、分子生物学ラボでは一般的に行われています。他の一般的なアプローチでは、白血球の画分であるバフィーコートから DNA を精製します。全血サンプルに対して、バフィーコートサンプルからは相対的に少量となりますが、最新の遺伝子解析には十分な収量の DNA が得られます。後者の手法は、コストとスペースの面でより効率的であるため、DNA を収集から数日以内に抽出することができない場合は、多くのゲノムおよび疫学研究において強く推奨されています⁶。

CKD-REIN 血液サンプルはバフィーコートを得るために処理され、-80 °C で最大 5 年間冷凍保存されました。このような生体試料の保存は、輸送や経済的理由から推奨されるサンプル収集時間内に gDNA を抽出できなかったため、大規模な CKD-REIN プロジェクトにとって合理的な代替手法でした。すべてのバフィーコートサンプルを Biobanque de Picardie に集め、専門の技術者が専用ラボで円滑に gDNA 抽出を行いました。バフィーコートから抽出された gDNA が保存期間に関係なく高品質であり、GWAS に適しているかどうかを調査することが Biobanque de Picardie にとって重要でした。

CKD-REIN gDNA サンプルは 4200 TapeStation System と Genomic DNA ScreenTape Assay を用いて解析しました。バフィーコート保存期間と gDNA 品質との相関を調べる客観的な品質評価基準として、TapeStation Analysis Software で得られる DIN を使用しました。バフィーコート凍結時から gDNA 抽出時までの経過時間に対し DIN の値をプロットしました (図 3)。ほとんどの DIN の値は 8 ~ 9 で、バフィーコートから抽出された gDNA が高品質であることを確認できました。CNRGH において、高品質の DNA を必要とするハイスループットシーケンシングプロジェクトで採用されている DIN の値は 7 です。この値は Biobanque de Picardie で比較するポイントとして参照としました。保存されたサンプルのうち比較的少数のサンプルが、閾値の 7 より低い DIN を示しました。DIN が閾値より低いサンプルは、その後の遺伝子型解析においてコール率が低くなるリスクが高い可能性があるサンプルとして、予備的に特

定されました。しかし、DIN が 6 ~ 7 のサンプルは、CKD-REIN コレクションと遺伝子型解析プロジェクトからは除外しませんでした。

より短い保存期間での DIN の分布は、長期保存後の DIN 分布と違いは見られませんでした。バフィーコートの保存期間と gDNA の品質との関連を調べるため、データに線形回帰モデルを適用しました。その結果、gDNA の品質とバフィーコートの保存時間との間には大きな相関はありませんでした。-80 °C で 5 年間保存後、抽出された gDNA は分解されていない状態でした。

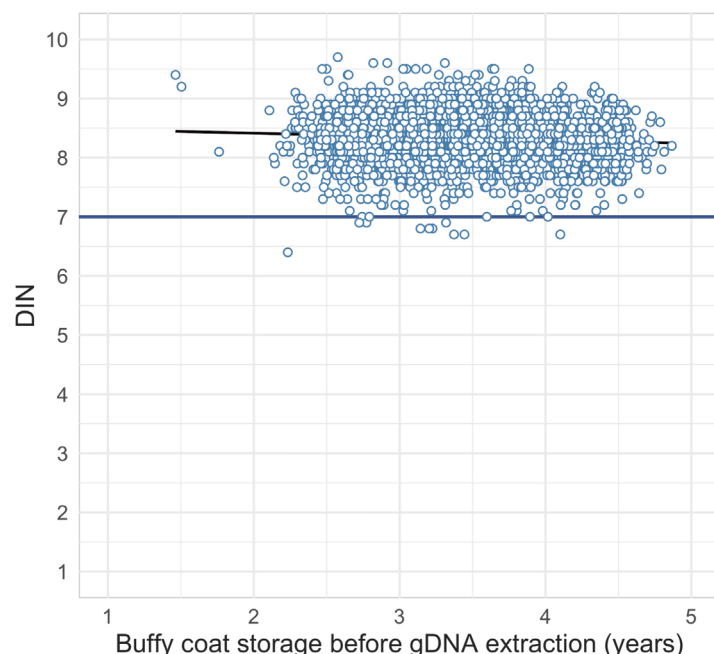


図 3. -80 °C で最長 5 年間保存したバフィーコートから抽出された gDNA の品質 (n = 2,636)。青色の横線は、Biobanque de Picardie で gDNA 品質評価に使用される DIN の閾値を表します。

**バフィーコート作製の遅れが
gDNA 品質に与える影響**

全血サンプルの収集、保存、処理の条件は、直接サンプル品質に重大な影響を与える可能性があります⁷。また、これらの条件は血液サンプルから抽出された核酸の品質にも悪影響を与える可能性があります。CKD-REIN プロジェクトの枠組みでは、臨床現場で収集した血液試料を該当する地域の CRB に輸送しました。このため、後のサンプル処理までの冷凍時間は異なりました。バイオバンクの標準プロトコルの閾値である 6 時間以内に大部分の血液試料は処理されましたが (69 %)、サンプルの一部は 12 時間、または 24 時間後に処理されバフィーコートが作製されました。Biobanque de Picardie では、処理が遅れたサンプルの品質評価を行い、血液処理のプロトコルを十分に満たしたサンプルと比較することが不可欠でした。DIN と採血からバフィーコート凍結までの時間との関連を図 4 に示します。Biobanque de Picardie では、十分な gDNA 品質の予備的な QC 閾値として、DIN の値 7 を使用しました。6 時間以上経過後バフィーコートが作製されたサンプルのうち DIN が 7 未満のものは 2 サンプルのみでした。採血からバフィーコート凍結までの時間による、DIN の平均値、中央値、標準偏差に変化はありませんでした (表 2)。12 時間および 24 時間後に処理されバフィーコートが作製されたサンプルは、高い品質 (DIN > 7) が保持されていました。DIN を比較することにより、最大 32 時間の血液処理の遅れが gDNA 品質に影響を与えないことが確認できました。

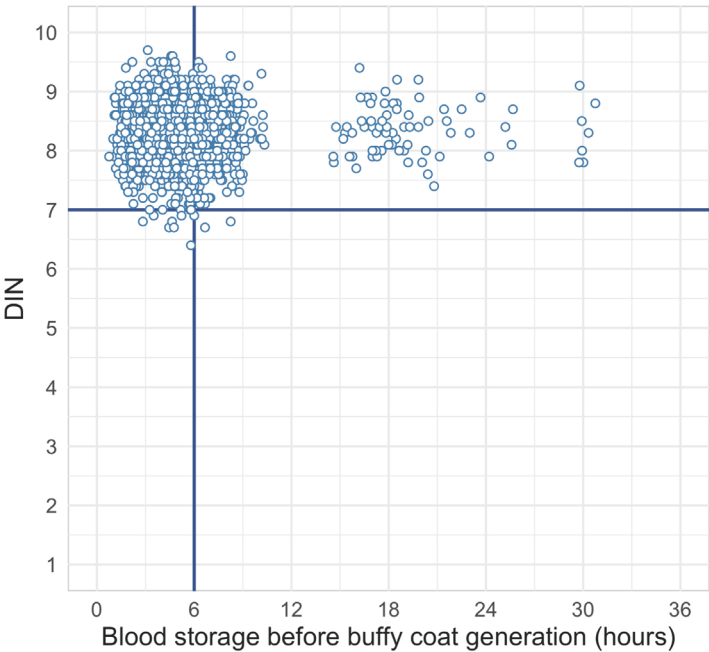


図 4. バフィーコートを単離し -80 °C で保存する前の経過時間と gDNA の品質との関連 (n = 2,636)。青の縦線と横線はそれぞれ Biobanque de Picardie が使用される血液処理までの時間と gDNA の品質評価のための DIN の閾値を示します。

表 2. 血液処理の遅れによる DIN でのサンプル品質評価の統計概要

Delay in blood processing (hours)	Number of samples (%)	DIN			
		Mean ± SD	Median	Minimum	Maximum
≤ 6	1820 (69 %)	8.3 ± 0.4	8.4	6.4	9.7
6 ~ 12	742 (28 %)	8.3 ± 0.4	8.4	6.7	9.6
≥ 12	74 (3 %)	8.3 ± 0.4	8.4	7.4	9.4

CRB 共同研究施設間での DIN の比較

CKD-REIN コホート研究では、フランスの各地域を代表する Biobanque de Picardie の 13 の異なる共同研究施設によりバフィーコートが作製されました。Centres de Ressources Biologiques (CRB) 間で gDNA の品質が異なる可能性を調査する比較解析のため DIN の基準を採用しました。Box plot を利用し、地域による DIN の分布とバフィーコート作製プロトコルに関連する各センターの性能を比較しました (図 5)。すべての CRB で DIN の中央値は 8 ~ 9 の範囲と類似しており、サンプルの高い品質が確認されました。比較研究のため閾値を 7 に設定しました。すべての CRB で DIN

の最小値は 7 以上でした。gDNA コレクションの解析により、複数の CRB で DIN が 7 未満となるサンプルが少数 (計 10 サンプル) あったことが明らかになりました (図 5、ドットで表示)。このようなサンプルが少ないことから、より低い DIN の値はバフィーコートの分離や他のサンプル処理条件ではなく、サンプル自体と関連するものと結論づけました。TapeStation System と DIN の基準は、Biobanque de Picardie ではすべてのサンプルを正確に評価し、より詳細な調査が必要なサンプルを事前に選択できました。Box plot 解析の結果は、すべての CRB で DIN の分布に有意な差がなかつ

たことを示しました。サンプルの高い品質は、生体試料の処理および輸送は 13 施設の全センターで一貫しており、gDNA 品質に影響を与えなかったことが確認できました。

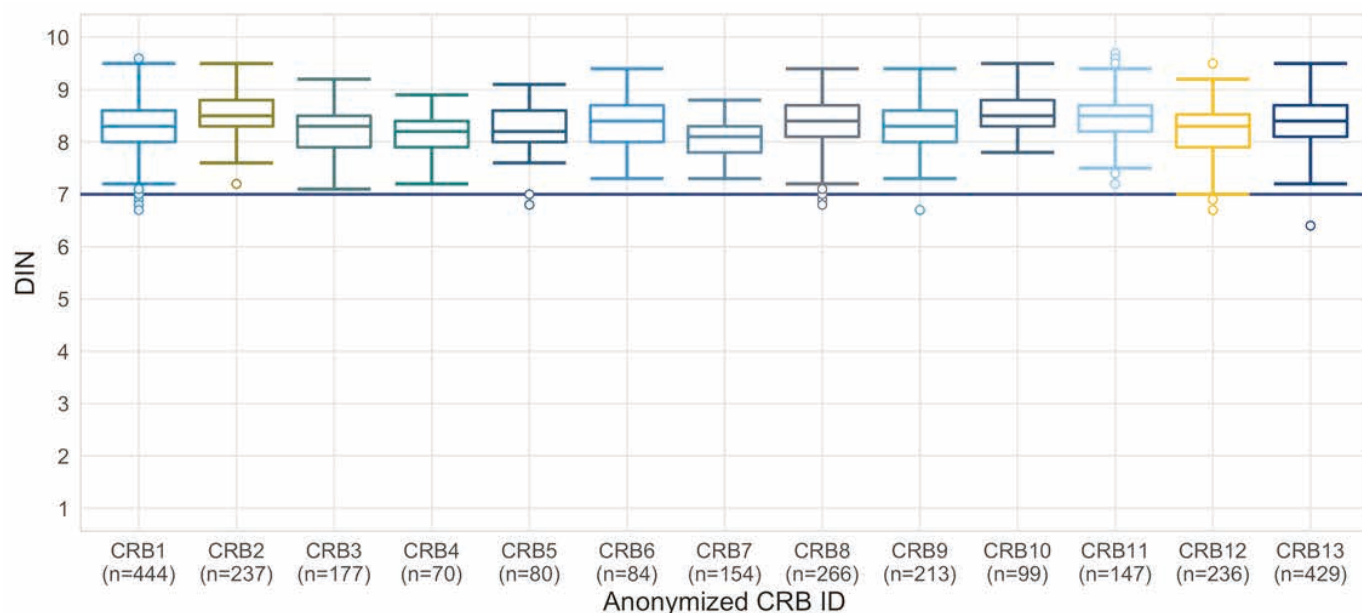


図 5. CRB の 13 施設間での DIN の比較解析。Box plot により、すべての CRB で DIN の分布に有意な差がないことが示されました。

ラボ間での DIN の一貫性

gDNA の品質評価のため、無作為に選択した 394 の CKD-REIN サンプル（全体の約 15 %）は CNRGH で 4200 TapeStation System と Genomic DNA ScreenTape Assay により再解析されました。この追加の QC ステップは、初期のサンプル処理、保存体系、その後の輸送に関して実質的な品質要件を満たしているかを検証するために必要でした。Biobanque de Picardie から得られた DIN と CNRGH から得られた DIN の相関を示す散布図を図 6 に示します。再解析したうち 32 サンプル（8.1 %）は Biobanque de Picardie の報告と同じ DIN を示しましたが、94 サンプル（24 %）は 0 ~ 0.2 の差がありました。197 サンプル（50 %）は、DIN の差が 0.2 ~ 0.6 でした。同様に、61 サンプル（15.5 %）では、0.6 ~ 1.0 でした。全体として、両方のラボでそれぞれ同等の結果が得られており、DIN の差が 1 を超えたのは 10 サンプル（2.5 %）のみでした。

以前、アジレントは 4200 TapeStation System と Genomic DNA ScreenTape Assay による gDNA 品質の解析が高い再現性を示し、ユーザーに依存しないことを紹介しました⁵。このため、2 つのラボ間の DIN の差異は、品質の再解析前の追加のサンプル処理、または解析に影響を及ぼしやすい他の要因によって説明できると推測できます。装置間、分析間、試薬のロット間の違いすべてがある程度、分析精度全体に影響を与えます^{5, 8}。例えば、アジレントは以前、3 つの異なる 4200 TapeStation System を使用して DIN の装置間の違いを評価しました⁵。18 のテクニカルレプリケートを解析した結果、標準偏差は 0.2 であり、装置が DIN の差異に与える影響はごくわずかであることが示されました。

2 つの異なるラボの場合、他の分析およびサンプル条件の潜在的な影響を考慮すると、DIN の測定値の変動が少し大きくなるものと予測されます。対となるデータポイントで計算された DIN の平均差は 0.2、標準偏差は 0.4 でした。DIN の差の平均が小さいことは、ラボ間で gDNA 品質に影響しないよう適切にサンプルの輸送および処理が実行されたことを示しました。

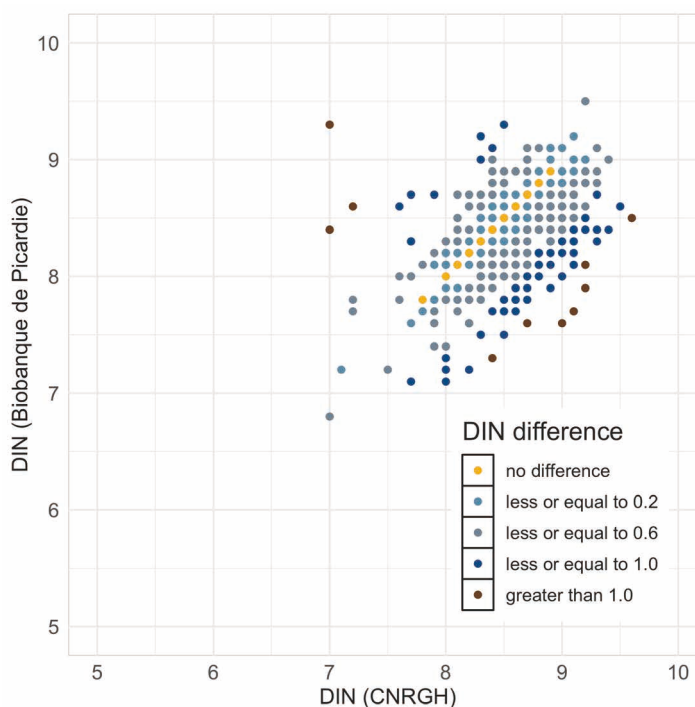


図 6. Biobanque de Picardie と CNRGH 間での DIN の比較

結論

バイオバンクだけでなく、バイオバンクからのサンプル供給を利用する科学コミュニティにとっても、生体試料から抽出された DNA の品質評価は優先度が高いです。全血の収集、処理、輸送、保存すべてが、gDNA の品質に影響を与える可能性があるため、サンプル品質を管理するには信頼できる品質基準が必要です。Biobanque de Picardie は、DNA Integrity Number (DIN) による客観的な品質基準を使用し、gDNA 抽出を採血後の数日以内に実施できない場合に、バフィーコートで長期保存することが各研究のための信頼できる手法であることを示しました。また、血液処理の遅れは、gDNA の品質に影響を与えることなく 6 時間から少なくとも 32 時間まで延長することができ、将来のプロジェクトではより柔軟性をもつことができると示されました。さらに、フランスのさまざまな地域から収集された試料に関して、同様の DIN の分布が示されました。どの地域の CRB でも gDNA が分解したサンプルはありませんでした。また、Biobanque de Picardie とその共同研究施設の CNRGH から得られた DIN の比較により、ラボ間の非常に良好な相関関係が明らかになりました。DIN 再解析で、結果の高い再現性と安定した輸送条件が確認できました。

Agilent 4200 TapeStation System と Genomic DNA ScreenTape Assay の組み合わせは、Biobanque de Picardie に信頼性のある gDNA の品質評価のための自動化ソリューションを提供し、大規模な CKD-REIN コホート研究に十分なスループットを実現しました。さまざまなバイオバンクでの品質管理業務に、客観的な DIN 品質基準が異なるレベルで適切に実施できることが示されました。DIN に基づく品質管理により、アプリケーションに特化した閾値の定義が可能となり、Biobanque de Picardie では個々のサンプルの品質に関して安心感を得ることができました。すべての CKD-REIN サンプルは高品質であることが立証され、さらにゲノムワイド関連研究のために利用されました。

参考文献

1. Stengel, B.; Combe, C.; Jacquelinet, C.; Briançon, S.; Fouque, D.; Laville, M.; Frimat, L.; Pascal, C.; Herpe, Y-E.; Deleuze, J-F.; Schanstra, J.; Pisoni, R.; Robinson, B.; Massy, Z. The French Chronic Kidney Disease-Renal Epidemiology and Information Network (CKD-REIN) Cohort Study. *Nephrol.Dial.Transplant*.**2014**, 29(8), 1500–1507.
2. Stengel, B.; Combe, C.; Jacquelinet, C.; Briançon, S.; Fouque, D.; Laville, M.; Frimat, L.; Pascal, C.; Herpe, Y-E.; Deleuze, J-F.; Schanstra, J.; Pisoni, R.; Robinson, B.; Massy, Z. The French Kidney Disease-Renal Epidemiology and Information Network (CKD-REIN) Cohort Study: To Better Understand Chronic Kidney Disease. *Néphrologie & Thérapeutique*.**2016**, 12(1), 49-56.
3. Stengel, B.; Metzger, M.; Combe, C.; Jacquelinet, C.; Briançon, S.; Ayav, C.; Fouque, D.; Laville, M.; Frimat, L.; Pascal, C.; Herpe, Y-E.; Morel, P.; Deleuze, J-F.; Schanstra, J.; Lange, C.; Legrand, K.; Speyer, E.; Robinson, B.; Massy, Z. Risk Profile, Quality of Life and Care of Patients with Moderate and Advanced CKD: The French CKD-REIN Cohort Study. *Nephrol.Dial.Transplant*.**2019**, 34(2), 277-286.
4. Agilent Genomic DNA ScreenTape Quick Guide for TapeStation Systems, Agilent Technologies, publication number G2991-90041, **2018**.
5. Performance Characteristics of the Genomic DNA ScreenTape Assay for the 4150 TapeStation System, Agilent Technologies Technical Overview, publication number 5994-0497EN, **2019**.
6. Austin, M. A.; Ordovas, J. M.; Eckfeldt, J. H.; Tracy, R.; Boerwinkle, E.; Lalouel, J-M.; Printz, M. Guidelines of the National Heart, Lung, and Blood Institute Working Group on Blood Drawing, Processing, and Storage for Genetic Studies. *Am. J. Epidemiol.* **1996**, 144(5), 437–441.
7. Retrospective Quality Analysis of DNA Samples from the Heidelberg CardioBiobank, Agilent Technologies Application Note, publication number 5994-0811EN, **2019**.
8. Evaluating the Agilent 4200 TapeStation System for High Throughput Sequencing Quality Control, Agilent Technologies Application Note, publication number 5991-6892EN, **2016**.

謝辞

CKD-REIN プロジェクトに参加していただいた以下のすべてのバイオリソースセンターの各チームに感謝いたします。

Biobanque de Picardie, CRB du Centre Hospitalier Universitaire Amiens Picardie, 1 Rond-Point du Pr Christian Cabrol, 80054 Amiens Cedex 1 (BRIF number: BB-0033-00017)

NeuroBioTec, CRB des Hospices Civils de Lyon Groupement Hospitalier Est, Hôpital Neurologique, 59 Boulevard Pinel, 69677 Bron Cedex (BRIF number: BB-0033-00046)

Centre de ressources biologiques du Centre Hospitalier Universitaire de Nantes Hôtel Dieu, Institut de biologie, 9, quai Moncousu, 44093 Nantes Cedex 1 (BRIF number: BB-0033-00040)

Centre de ressources biologiques du Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, Boulevard de la Chantourne, CS 10217, 38700 La Tronche (BRIF number: BB-0033-00069)

Centre de ressources biologiques du Centre Hospitalier Régional Universitaire de Nancy, Hôpitaux de Brabois, Bâtiment Recherche Rue du Morvan, 54500 Vandoeuvre-les-Nancy (BRIF number: BB-0033-00035)

Servicer de Néphrologie, Centre Hospitalier de Perpignan, 20 Avenue du Languedoc, 66046 Perpignan Cedex 9

Plateforme de Ressources Biologiques, Hôpital Henri Mondor, 51 avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 94000 Créteil (BRIF number: BB-0033-00021)

CIC-1435, Centre d' Investigation Clinique Plurithématique, Centre Hospitalier Universitaire de Limoges, 2 Avenue Martin Luther King, 87042 Limoges Cedex

Plateforme de Ressources Biologiques de l' Hôpital européen Georges-Pompidou, 20-40 rue Leblanc, 75015 Paris (BRIF number: BB-0033-00063)

Etablissement Français du sang Hauts de France – Normandie, Site de Bois-Guillaume 609, chemin de la Bretèque, 76235 Bois-Guillaume

Etablissement Français du sang Nouvelle Aquitaine, site Pellegrin, Place Amélie Raba Léon, CS 21010, 33075 Bordeaux Cedex

Etablissement Français du sang Hauts de France – Normandie, Site de Loos-Eurasanté, Avenue Pierre Mauroy, Parc Eurasante Epi-de Soil, 59120 Loos

Etablissement Français du sang Ile de France, Site Avicenne, Hopital Avicenne porte 8, 125 route de Stalingrad, 93009 Bobigny

Etablissement Français du sang Occitanie, Site de Toulouse, 75 rue de Lisieux, 31300 Toulouse

Etablissement Français du sang Grand-Est, Site de Colmar, 6 rue du Hohnack, 68025 Colmar Cedex

Etablissement Français du sang Grand-Est, Site de Metz, 6 rue des Dames de Metz, 57000 Metz

Etablissement Français du sang PACA-Corse, Site de Marseille, 149, boulevard Baille, 13392 Marseille Cedex 05

[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 ☎ 0120-477-111

mail : email.japan@agilent.com

※仕様は予告なく変更する場合があります。

※本資料掲載の製品はすべて研究用です。

その他の用途にご利用いただくことはできません。

<http://www.agilent.com/chem/genomics:jp>

G210385

© Agilent Technologies, Inc. 2021

本書の一部または全部を書面による事前の許可なしに複製、
改変、翻訳することは、著作権法で認められている場合を除き、
法律で禁止されています。

Printed in Japan, February 15, 2021

5994-2921 JAJP