

SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キット

迅速で簡単、信頼性の高い酵素的断片化を用いた
NGS ライブラリ調製ソリューション

主な特長

- 10 ~ 200 ng の DNA を単一のワークフローで断片化
- FFPE などのさまざまなサンプル品質・幅広い GC 含量に対して堅牢なパフォーマンス
- 効率が高く、サンプルロスは最小限で、ライブラリ収量を最大限に
- DNA のバッファは純水、TE バッファのいずれにも対応

概要

新製品の SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットは、エンドヌクレアーゼをベースとした酵素による断片化手法で、さまざまな品質・幅広いインプット DNA 量のサンプルに対して、プロトコルを変えることなく常に同じ方法で DNA をランダムに断片化することができます。このキットは、SureSelect XT HS、SureSelect XT Low Input 試薬キットと組み合わせることができます。物理的断片化とは異なり、機器に対する初期投資は必要ありません。ハイスループットなアプリケーションにも、迅速で簡単、再現性の高いソリューションを提供します。

簡単なシングルワークフロー

SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットは、幅広いレンジの DNA インプット量 (10 ~ 200 ng)、GC 含量、サンプルタイプ (血液、新鮮凍結組織、FFPE)、品質に対して最適化されています。さまざまな DNA インプット量に対して、単一のプロトコルを用いて、非常に再現性のよい DNA 断片化プロファイルを得ることができます (図 1)。品質の異なる DNA サンプルについても、安定した断片化パターンが観察されます (図 2)。また、幅広い GC 含量に対して物理的断片化と同様のノーマライズしたカバレッジ分布が得られます (図 3)。このプロトコルによって、より簡単で合理化された NGS ライブラリ調製が可能になります。

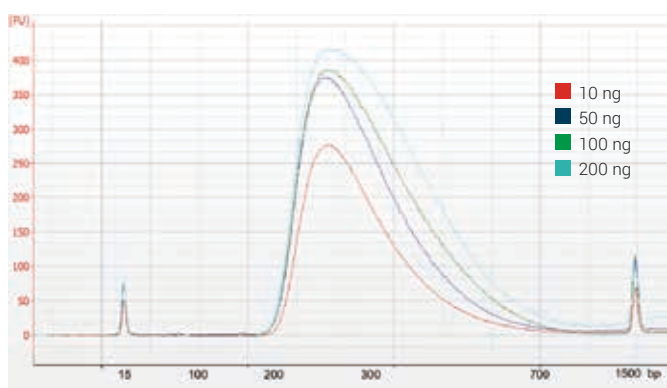


図 1. SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットにより、さまざまな DNA インプット量から非常に一貫性の高い DNA 断片化プロファイルが得られます。新鮮な凍結肺腫瘍サンプルから抽出した 10 ~ 200 ng DNA を、SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットを用いて、37 °C、15 分間で断片化しました。ライブラリは、SureSelect XT HS 試薬キットを用いて作製し、Agilent DNA 1000 バイオアナライザで分析しました。

物理的断片化よりも優れたパフォーマンス

酵素による断片化の主な利点のひとつとして、サンプルのロスが最小限に抑えられるためライブラリ収量が多く、品質も良いことが挙げられます。3 種類の異なるタイプのサンプルで 10 ng DNA インプットで比較した際に SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットは、機械的断片化よりも安定してより高いライブラリ収量が得られます (図 4)。ライブラリの品質という点では、新鮮凍結サンプルおよび FFPE サンプルで同等またはそれ以上のカバレレッジ (図 5) と複雑性の高さ (図 6) を示しています。

純水もしくは一般的なバッファのどちらにも溶解された DNA にも対応

SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットは、DNA のさまざまなバッファ条件に影響されません。他社の酵素による断片化メソッドで必要となるような、再精製や中和は必要ありません。Tris、0.1X TE (10 mM Tris、0.1 mM EDTA、pH 7.5) および 1X TE (10 mM Tris、1 mM EDTA、pH 7.5) のいずれのバッファを用いた場合も、再現性の高い断片化パターンを得ることができます (図 7)。

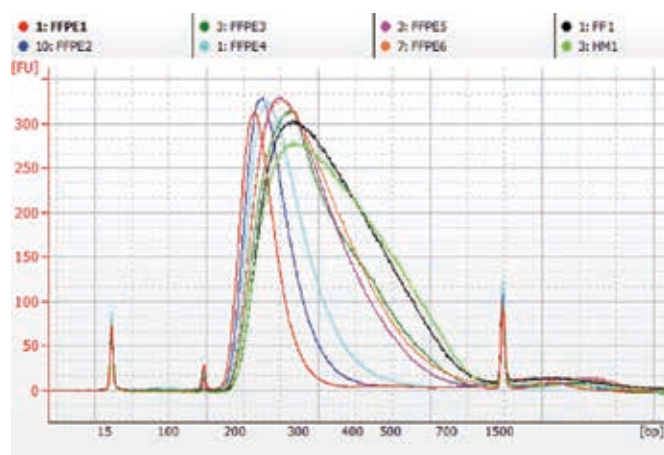


図 2. SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットは、さまざまな品質の DNA サンプルから、同様の DNA 断片化パターンを作製します。さまざまな品質の HapMap サンプル、新鮮な凍結組織サンプル、および FFPE サンプルから抽出した 10 ng DNA (詳細情報は表 1 を参照) を、SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットを用いて、37 °C、15 分間で断片化しました。すべてのサンプル品質は Agilent TapeStation (DIN) で測定し、FFPE サンプルについては Agilent NGS FFPE QC キット (ddCq 値) でも測定しました。ライブラリは、SureSelect XT HS 試薬キットを用いて作製し、Agilent DNA 1000 バイオアナライザで分析しました。

表 1. 図 2 のサンプルおよび対応する DNA 品質

サンプル	組織	ソース	ddCq	DIN
FFPE1	乳房、正常	FFPE	7.0	2.0
FFPE2	胃、正常	FFPE	3.3	1.5
FFPE3	乳房、腫瘍	FFPE	0.6	3.4
FFPE4	前立腺、正常	FFPE	2.9	1.9
FFPE5	肝臓、正常	FFPE	1.2	2.9
FFPE6	肺、正常	FFPE	0.2	4.8
FF1	卵巣、正常	新鮮凍結組織	--	7.7
HM1	NA18997	HapMap	--	8

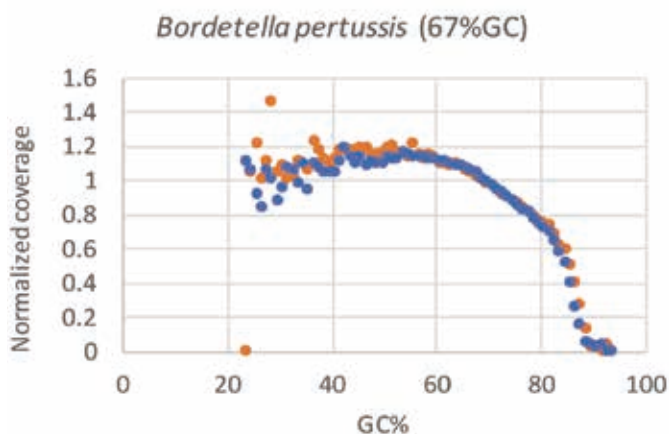
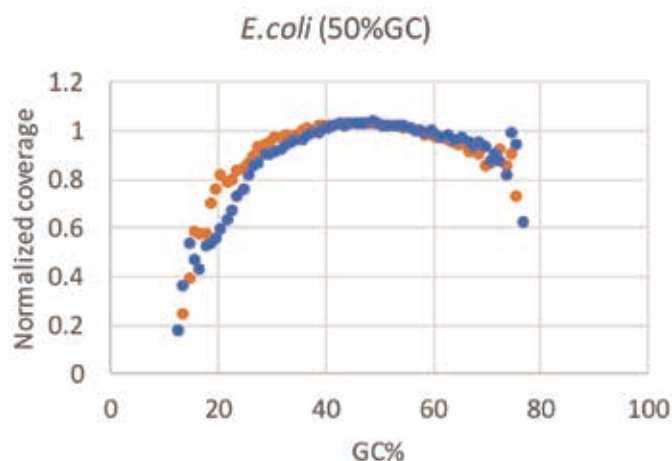
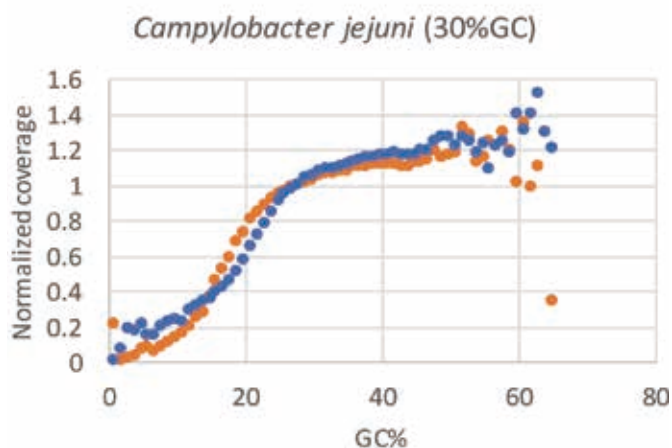


図 3. SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットは、さまざまな GC 含量の微生物で、物理的断片化と同様のノーマライズしたカバレッジ分布を示します。*Campylobacter jejuni* (30% GC)、*E.coli* (50% GC)、および *Bordetella pertussis* (67% GC) から抽出した 10 ng DNA を、SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットまたは Covaris で断片化しました。ライブラリは、SureSelect XT HS 試薬キットを用いて作製しました。シーケンスデータは Picard で分析しました。

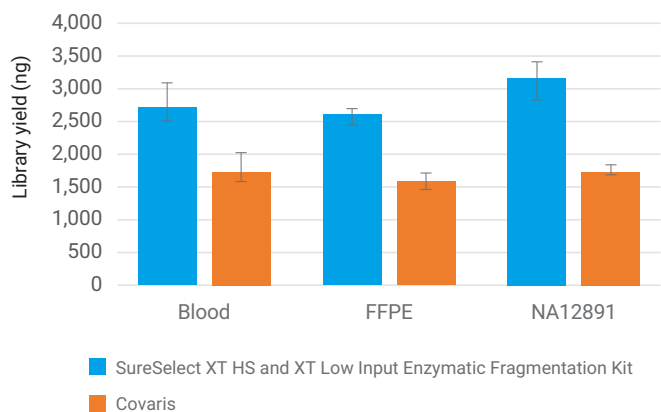


図 4. SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットは、物理的断片化ワークフローと比較して、高いライブラリ収量が得られます。血液、皮膚 FFPE サンプル (DIN =3.2、ddCq=1.8)、および HapMap (NA12891) サンプルから抽出した 10 ng DNA を SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットまたは Covaris で断片化しました。すべてのサンプル品質は Agilent TapeStation (DIN) で測定し、FFPE サンプルについては Agilent NGS FFPE QC キット (ddCq 値) でも測定しました。ライブラリは、SureSelect XT HS 試薬キットを用いて作製しました。ライブラリ収量は Agilent TapeStation で D1000 ScreenTape を用いて測定しました。

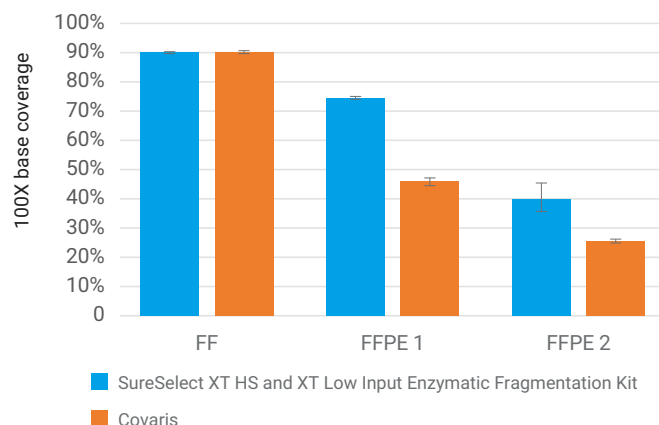


図 5. SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットにより、物理的断片化ワークフローと比較して、優れた 100x カバレッジが得られます。新鮮凍結サンプルおよび FFPE サンプルから抽出した 10 ng DNA を本キットまたは Covaris で断片化しました。FF および FFPE 1 (DIN = 2.7、ddCq = 1) は子宮サンプルです。FFPE 2 は咽頭腫瘍サンプルです (DIN = 2.3、ddCq = 2)。すべてのサンプル品質は Agilent TapeStation (DIN) で測定し、FFPE サンプルについては Agilent NGS FFPE QC キット (ddCq 値) でも測定しました。ライブラリ作製およびターゲット濃縮は、SureSelect XT HS 試薬キット および ClearSeq Comprehensive Cancer パネルを用いました。ライブラリは Illumina HiSeq 2500 でシーケンスを行いました (100 bp X 2)。リードは hg19 にマップし、1000X raw sequencing depth にノーマライズし、100X カバレッジを算出しました。

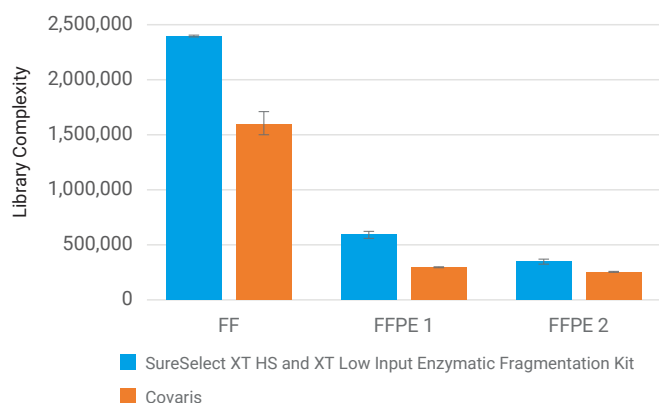


図 6. SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットは、物理的断片化ワークフローと比較して、複雑性の高いライブラリ (HS-ライブラリサイズ) を作製します。新鮮凍結サンプルおよび FFPE サンプルから抽出した 10 ng DNA は SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットまたは Covaris で断片化しました。FF および FFPE 1 (DIN = 2.7、ddCq = 1) は子宮サンプルです。FFPE 2 は咽頭腫瘍サンプルです (DIN = 2.3、ddCq = 2)。すべてのサンプル品質は Agilent TapeStation (DIN) で測定し、FFPE サンプルについては Agilent NGS FFPE QC キット (ddCq 値) でも測定しました。ライブラリ作製およびターゲット濃縮は、SureSelect XT HS 試薬キットおよび ClearSeq Comprehensive Cancer パネルを用いました。ライブラリは Illumina HiSeq 2500 でシーケンスを行いました (100 bp X 2)。リードは hg19 にマップし、100X raw sequencing depth にノーマライズした後、HS-ライブラリサイズを測定しました。

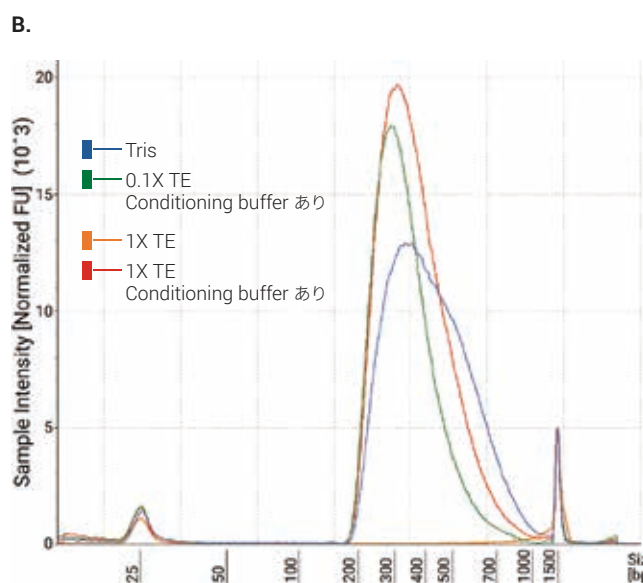
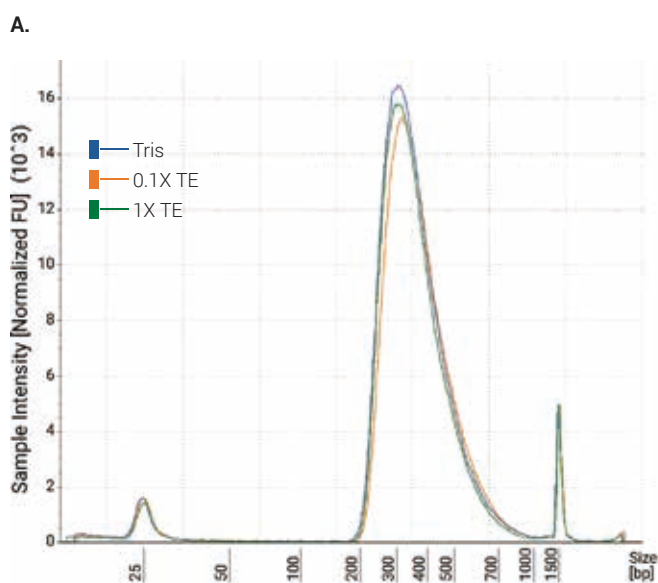


図 7. SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットは異なる DNA バッファに対応し、非常に一貫性の高い DNA 断片化プロファイルを得られます。新鮮凍結組織から抽出した 10 ng DNA をインプットとして用いました。DNA は、Tris、0.1X TE (10 mM Tris、0.1 mM EDTA、pH 7.5) および 1X TE (10 mM Tris、1 mM EDTA、pH 7.5) のいずれかに溶解されたものを使用しました。DNA サンプルは次の方法で断片化し、ライブラリ調製を行いました。

B. Kapa HyperPlus キット。Tris および 1X TE サンプルのうちの 1 つは Conditioning buffer を用いずに断片化しました。0.1X TE およびその他の 1X TE サンプルは Conditioning buffer を用いて断片化しました。1X TE に溶解し、Conditioning buffer なしで断片化した DNA では、観察した断片化に完全な阻害が認められました (オレンジ線)。断片化した DNA は Agilent TapeStation で D1000 ScreenTape を用いて分析しました。

A. SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キットおよび SureSelect XT HS 試薬キット。

製品情報

型番	製品名
5191-4079	SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キット, イルミナ, 16 反応
5191-4080	SureSelect XT HS and XT Low Input Enzymatic Fragmentation キット, イルミナ, 96 反応

[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

●カスタムコンタクトセンター ☎ 0120-477-1111

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全て研究用です。

その他の用途にご利用いただくことはできません。

<http://AgilentGenomics.jp>

© Agilent Technologies, Inc. 2018

本書の一部または全部を画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, October 2, 2018

5994-0289JAJP