

次世代シーケンス(NGS)に関するお役立ち情報をお届けします。

今号のポイント： タカラバイオのイルミナ社NGS装置用ライブラリー調製キット「ThruPLEX®」を使うことで、解析が難しいFFPE DNAサンプルからでもシーケンス解析が可能となりました。

【キーワード】 FFPE DNA、ホルマリン固定、パラフィン包埋、ターゲットシーケンス

ThruPLEX® DNA-Seq Kitを使用した、FFPE DNAサンプルのNGS解析

(クロンテック取得データ)

■ 実験の背景

ホルマリン固定・パラフィン包埋(FFPE)サンプルは一般的に、組織学的研究のためにヒト生検から収集・保存される。ホルマリン固定法は、細胞内の核酸およびタンパク質を架橋してサンプルをパラフィンワックスで包むため、室温で長期保存が可能であり、世界中のバイオバンクや研究者は何百ものFFPEサンプルを保存している。ライブラリー調製および次世代シーケンス技術が発展することにより、保存されたFFPEサンプルからDNAを回収して重要なゲノム情報を得ることができるようになった。したがってFFPEサンプルは貴重な研究材料であるが、保存中にDNAに化学変化が生じる場合があること、保存工程の標準化が無いこと、およびサンプルによって保存年数が異なるなど、複数の要因があるためDNAの品質がさまざまである。本実験では、各種FFPE由来のDNAからThruPLEX® DNA-Seq Kitまたは他社キットを用いてライブラリー調製を行い、性能評価を行った。

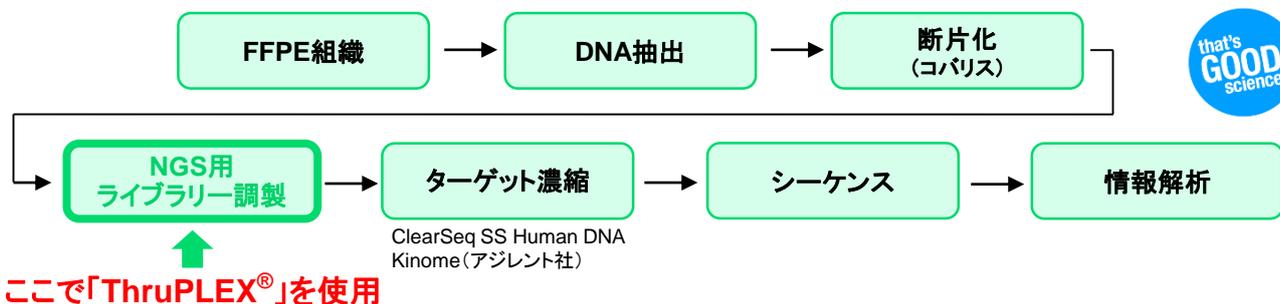
■ 使用製品： GCバイアスの少ない簡単操作のライブラリー調製キット

※別途Index Kitが必要です。

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
SMARTer® ThruPLEX® DNA-Seq Kit	24回	R400674	¥104,000

■ 実験ワークフローとサンプル情報

※実験ワークフローの詳細は、弊社ウェブサイトの製品ページでご確認ください。

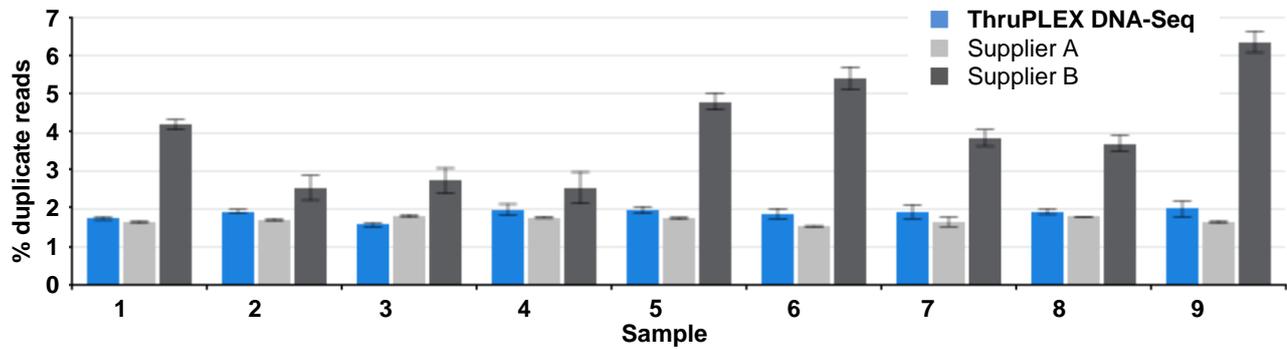


【サンプル情報】

Sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Type	NAT	Malignant	Malignant	NAT	Malignant	Malignant	NAT	Malignant	NAT
Source tissue	Cervix/uterus	Colon/rectum	Colon/rectum	Colon/rectum	Ovary	Kidney	Kidney	Kidney	Kidney

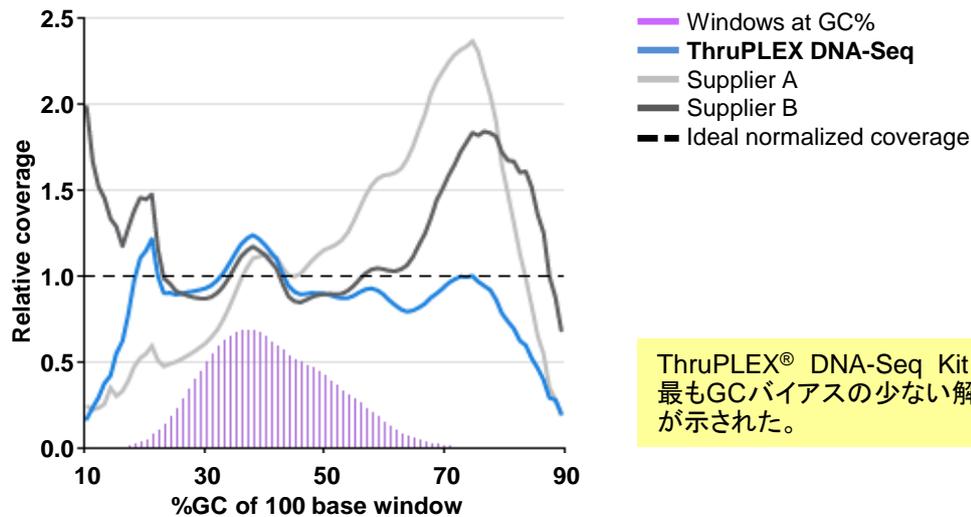
裏面につづく ➡

■ 各社キットにおけるduplicate率



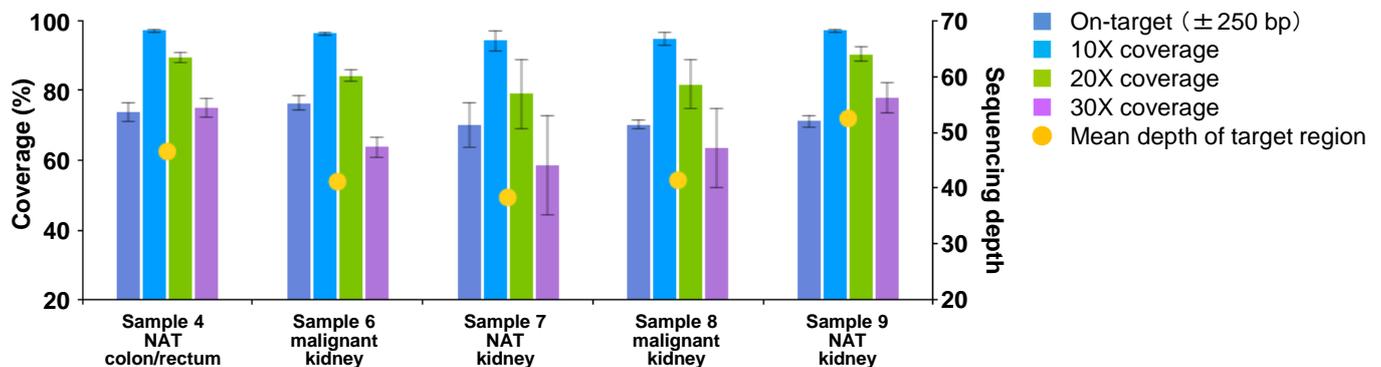
FFPE DNAサンプル 100 ngからライブラリーを作製してシーケンス解析を行った。Supplier Bはduplicate率が3~6%と高いが、ThruPLEX® DNA-Seq KitはSupplier Aと同等で2%以下となり、duplicate率が低いことが示された。

■ GCカバレッジの比較



ThruPLEX® DNA-Seq Kitは、他社と比較して最もGCバイアスの少ない解析が可能であることが示された。

■ ターゲットシーケンス解析結果



ThruPLEX® DNA-Seq Kitでライブラリー作製後、アジレント社のClearSeq SS Human DNA Kinome(~3.2 Mb)を用いてターゲット遺伝子を濃縮し、シーケンス解析を行った。オンターゲット率(青色)はすべてのサンプルにおいて70%以上、平均カバレッジ(黄色)は40-50Xとなり、FFPEサンプルでもターゲットシーケンスが可能であることが示された。

・本チラシで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
 ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
 ・ライセンスなどに関する最新の情報は弊社ウェブサイトをご覧ください。
 ・本チラシに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。
 ・本チラシ記載の価格は2019年9月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2019年9月作成G

タカラバイオ株式会社

東京支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282
 関西支店 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995
 テクニカルサポートライン
 TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995
 Website <http://www.takara-bio.co.jp>
 Facebook <http://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店

