

BigDye™ターミネーター蛍光シーケンシング反応からの 384フォーマットのDNA精製

Wizard® MagneSil™ Sequencing Reaction Clean-Up System

Paul Otto, Brad Larson and Steve Krueger, Promega Corporation

はじめに

ABI PRISM® BigDye™ Terminatorによる自動化蛍光シーケンシングはハイスループットなDNAシーケンシングに使用される手法です。この手法を用いる場合、塩やフリーの色素標識プライマーが分析の妨げになることがあります。通常、これらの除去には、ゲル濾過やエタノール沈殿法が用いられていますが、これらの操作に必要な遠心や吸引乾燥のステップがハイスループット処理を行う上で問題となります。Wizard® MagneSil™ Sequencing Reaction Clean-Up Systemは、Beckman Biomek® 2000やFXでこれらの物質を自動的に除去することができます。

このシステムで精製されたDNAの通常のPhred値は > 20 (600 ~ 700 base) を示し、精度は600 baseで98%を保証します。また、解読可能なシーケンスは、プライマーから25 base以内です。

パフォーマンス

- BigDye™ Terminator DNA Sequencing 反応からのDNA精製用に開発
- 組み込まれなかった色素標識ターミネーターの除去とローディング溶液へのバッファー交換
- プラスミドまたはPCRシーケンシングに適応
- 解読開始は25base以内 (通常は5 ~ 15)
- 解読長は600 base (>98%の精度)
- Phred値 > 20 (600 ~ 700)

結論

MagneSil™ Sequencing Reaction Clean-Up法は、遠心や吸引乾燥を必要としない完全自動化のBigDye™ Terminator反応からのDNA精製が可能です。Phred値 > 20は他の手法と同等以上の値です。2つの96 Tip PODを用いた384ウェルプレートの処理では、4プレートを90分以内に処理することができました。

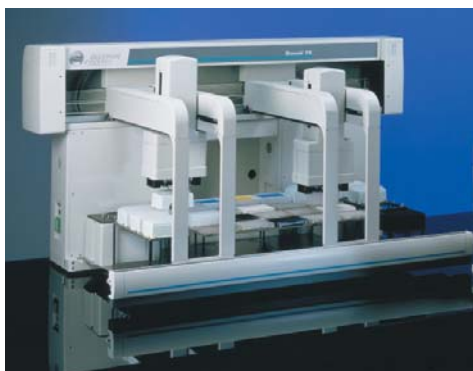


図1. デュアルPOD搭載のBiomek® FX Robotic Workstation

96または384 tip liquid handling head 2つを搭載したBiomek® FX。96 tip PODでは4プレートを90分間で、384 tip PODでは4プレートを40分間で処理することができる。

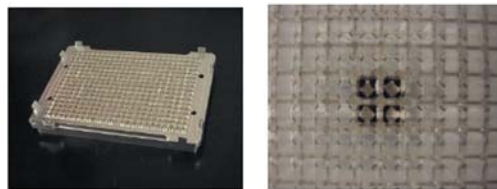


図2. 384ウェルプレート用マグネットのデザイン

パネルA：384ウェルプレートのための高密度に並んだマグネット。パネルB：プレートの横に磁性粒子が引き付けられるようにデザインされ、後の液体除去処理が容易。

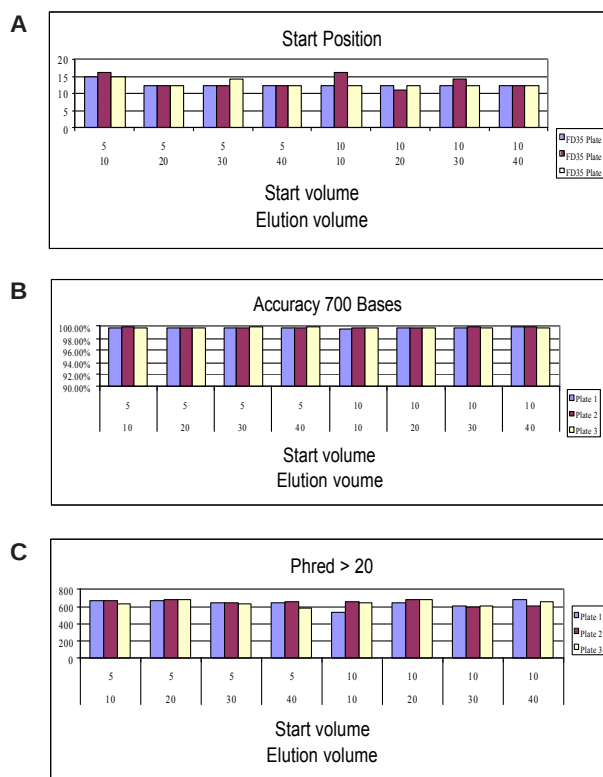


図3. 384ウェルフォーマットでの精製産物評価

パネルA：精製したサンプルをシーケンシングした場合の解読開始位置。パネルB：精製したサンプルの700 baseの読取精度。パネルC：精製したサンプルのPhred > 20スコア。

5 µl, 10 µlのシーケンシング反応液をBiomek® FXを用いて精製した。溶出にはゲルローディング溶液を10 µl, 20 µl, 30 µl, 40 µl用いた。分析にはABI PRISM® 3700 DNAシーケンサーを使用した。

製品案内

製品名	サイズ	カタログ番号	価格(¥)
Wizard® MagneSil™ Sequencing Reaction Clean-Up System	1X96ウェル分	A1830	20,000
	4X96ウェル分	A1831	35,000
	8X96ウェル分	A1832	60,000