

Cell3™ Xtract: cfDNA抽出キット(マニュアル用)

迅速で柔軟な血中遊離DNA抽出キット

血漿からcfDNAを迅速かつ正確に抽出できる製品です。使いやすいスピncラムを採用しており、**真空ろ過の手順が不要**です。スピン後、わずか35 μ Lの溶出量で効率よくDNAを回収できるため、ddPCRやNGSなどの次の解析ステップで、より多くのcfDNAを使用でき、バリエーション(変異)の検出感度が向上します。

最適化された効率的なワークフロー

最大10mLの生体サンプルを90分以内で簡単に処理できる柔軟なワークフローを提供します。**キャリアRNAを使用せず**にcfDNAを効率的に抽出できるため、cfDNAの正確な定量とライブラリー調製が可能です。**特殊な機器(磁石や真空装置など)も不要**です。

検証済みキット

Cell3™ Xtractの性能を評価するために、既存4製品(Q社、A社、O社、M社)のマニュアル用cfDNA抽出キットとの比較を行いました。これらのキットには、スピncラム法とビーズ法の両方が含まれています。性能評価には、男児を妊娠している女性の血漿を使用しました。

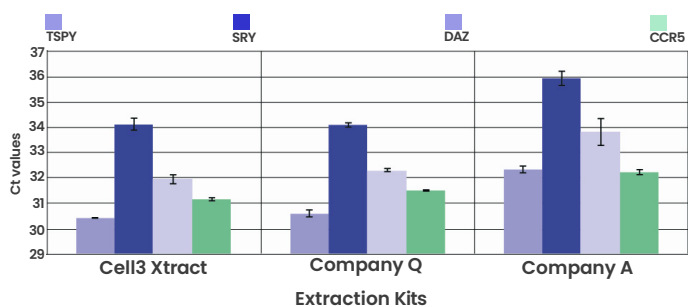
スピncラムキットとの比較

Cell3™ Xtractと他社のキットとの比較のために、各社のプロトコルに従い、同じ患者の1mLの血漿からcfDNAを抽出しました。定量PCRデータでは、Cell3™ XtractキットはQ社のキットと同等の性能を示し、A社のキットを上回りました。Q社のキットではキャリアRNAの使用により、DNA濃度が約50倍高く測定され、フラグメント解析に高分子量ピークが現れる結果となりました。(図1)

ビーズベースのキットとの比較

Cell3™ Xtractは、定量PCRデータおよびDNA濃度測定に基づき、M社のキットより優れた性能を示し、O社のキットとは同等の結果を得ました。(図2)

定量PCR評価



フラグメントサイズ分布

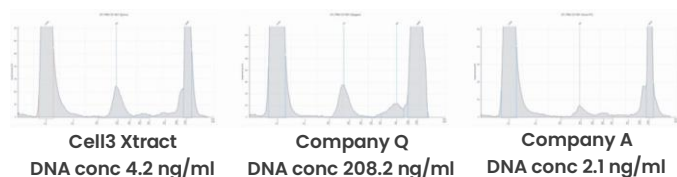
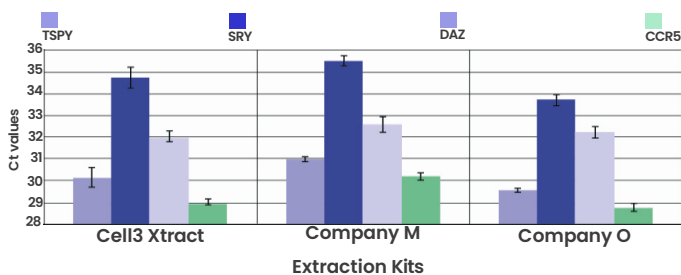


図1

各キットを用いて1mLの血漿からcfDNAを抽出し、男児を妊娠している女性の血漿を使用し解析を行いました。抽出した胎児由来cfDNAの定量PCR評価は、Cell3™ Direct: Fetal Sex Determination kit (Nonacus) を使用して行い、染色体Yに特異的なターゲット(TSPY、SRY、DAZ)とコントロールターゲット(CCR5)を比較しました。フラグメントサイズの分布は、Tapestation 2200 (Agilent) を使用して測定しました。DNA濃度は、Qubit 3.0 (Invitrogen) を使用して測定しました。

定量PCR評価



フラグメントサイズ分布

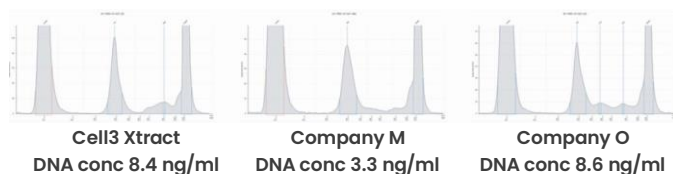


図2

各キットを用いて1mLの血漿からcfDNAを抽出し、男児を妊娠している女性の血漿を使用し解析を行いました。定量PCR、フラグメントサイズ分析、およびDNA濃度測定は、図1で説明されている方法で実施しました。

代理店記入欄

Bead Xtract:

cfDNA抽出キット(マニュアル、オートメーション用)

Bead Xtractは、磁器ビーズを用いて最大10mLの血漿または血清からcfDNAを迅速かつ効率的に抽出するために設計されています。サンプルはマニュアルで処理することも、さまざまなオートメーションプラットフォームを使用して処理することも可能です。ろう斗や真空ろ過が不要のため、マニュアル作業の時間を最小限に抑えることができます。

簡便で拡張性のある抽出方法

簡便に使用でき、さまざまなアプリケーションやワークフローに柔軟に対応します。0.5~10mLの血清や血漿の投入量を調整しても、サンプルからcfDNAを最大限に回収することが可能です(表1)。

表1

Kit size	No. of extractions with 1 ml input	No. of extractions with 2 ml input	No. of extractions with 4 ml input
Small	20	10	5
Medium	200	100	50
Large	800	400	200

Bead Xtract cfDNAは、同じキット内でさまざまな投入量に対応可能です。

最小限のgDNA汚染

Bead Xtractの溶解および結合バッファは、小さなDNA断片の回収を最大化し、gDNAの汚染を最小限に抑えるよう最適化されています。抽出された高品質なcfDNAは、定量PCR(qPCR)、ドロップレットデジタルPCR(ddPCR)、次世代シーケンシング(NGS)などのアプリケーションに適しています(図1)。

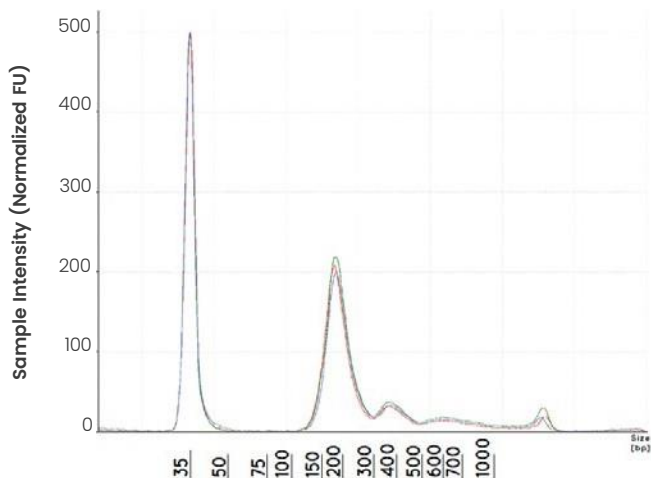


図1

Bead Xtract cfDNAキットを使用したcfDNA抽出(オートメーション)では、cfDNAのフラグメント分布に典型的なヌクレオソームパターンが確認され、gDNAの汚染は低いレベルに抑えられていました。(4mLのサンプルをHamilton ML STARで複製処理し、50 µLのバッファで溶出しました。精製されたDNAをAgilent 4200 TapeStationで分析しました。)

高性能

Bead Xtract cfDNAキットに使用されている磁気粒子の高い結合力により、他の主要メーカーのcfDNA抽出キットと比較して、血漿サンプルから高いDNA収率が得られます(図2)。さらに、DNAを分離するために必要な粒子の量を減らすことができ、10mLの血漿を使用しても最終的な溶出量を30~60 µLに抑えることが可能です。これにより、DNAの真空ろ過が不要となり、プロトコルが簡素化され、最終的なcfDNAサンプルの濃度がNGSなどのアプリケーションに十分適したものとなります。

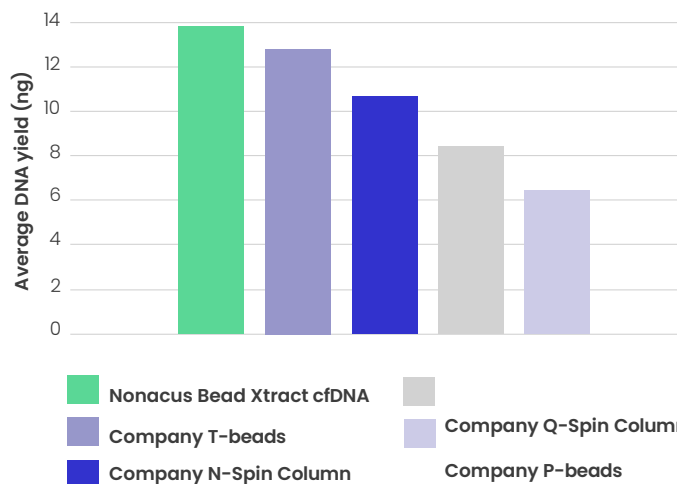


図2

1mLの血漿から抽出したDNAの平均収率 (ng) は、ビーズベースおよびスピナラムベースの抽出キットを使用して得られた結果です。(cfDNAは、各社のプロトコルに従って抽出し、50 µLの溶出バッファに溶出しました。DNA濃度は、Qubit 3.0 (Invitrogen) を用いて測定しました。)

オートメーション化プロトコル

Bead Xtractは、マニュアルでもオートメーションでも実行できる柔軟性を持ち、さまざまなサンプル処理量に対応できます。溶解から抽出までの自動化プロセスはHamilton ML STAR等で検証されており、さまざまなオープンエンドの液体ハンドラーに対応したスクリプトが用意されています。完全にオートメーション化されたcfDNA抽出では、セットアップにわずか30分、4mLのサンプルを96ヘッドのHamilton ML STARで48検体処理するのに3時間以内で完了します。

代理店記入欄