Biomekによるゲノム DNAライブラリ調製の自動化がもたらす研究の加速

Biomek i-SeriesによるIllumina TruSeq DNA PCR-freeサンプル調製の自動化

Introduction

Illumina TruSeq DNA PCR-Free Library Preparation kitはPCR増幅を必要としないPaired-End Library調製用キットです。この調製プロトコルの中で、Solid Phase Reversible Immobilization (SPRI) ビーズケミストリーはサイズセレクションから精製工程に至るまで随所で用いられています。これらの工程は手間がかかり作業ミスを引き起こしやすいことから、Biomekによる自動化の活用が期待できます。Biomek自動分注ワークステーションは少数から多数のサンプルまで幅広いサンプル数に対応しつつ、サンプル調製のすべての工程を自動化可能です。本自動化アプリケーションによって、追加の調製工程なしにそのままシーケンサーに供することのできるライブラリを調製でき、また標準サンプルを用いた試験を通してその品質が実証されています。この即実装可能なアプリケーションはIllumina TruSeq DNA PCR-Free Sample Preparation Kit (Illumina P/N FC-121-3001, FC-121-3002 or FC-121-3003) のLTバージョンとHTバージョンのいずれにも対応しています。

この自動化アプリケーションはBiomek全機種で使用可能となっており、経験豊富なサポートチームによる迅速な導入を通して、以下のような面で研究を加速することが可能です。

- 標準化されたワークフローによるデータ品質の向上
- コスト増につながるような作業ミスの低減
- 作業時間の短縮とスループットの向上

Spotlight: Biomek i5 Span-8 Genomics Workstation

以下のシステム構成で確実なサンプル調製と作業の効率化を実現します。

- 1～1,000 µLの分注容量
- 最大25のポジションの高キャパシティ
- サンプル調製のためのシェーカー、温調ペルチェ、チップ洗浄
- オプションアイテム
  - エンクロージャー
  - オンデッキ サーマルサイクラーの統合 (Biometra T-RobotまたはThermo ATC)

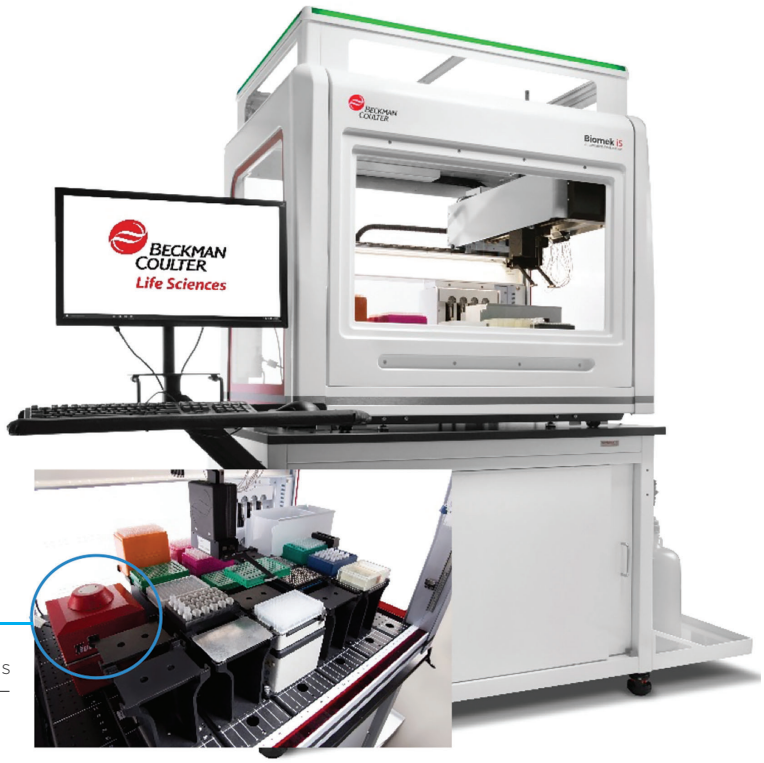

Figure 1. エンクロージャータイプのBiomek i5 Span-8 Genomics Workstation（専用架台に設置）。完全自動化ためのオンデッキ サーマルサイクラーをオプション搭載したデッキレイアウト(下部)。

Demonstrated Method Interface (DMI):

作業ミスを防ぐためのセットアップ手順に沿った指示画面、ユーザーの作業スケジュールの自由度を最大限に高めるための設定画面などを、以下の３種のモジュールを通して提供しています。

1. **Biomek Method Launcher (BML) —** アイコン化されたメソッド選択画面を選択するだけで簡単に実行することができます。

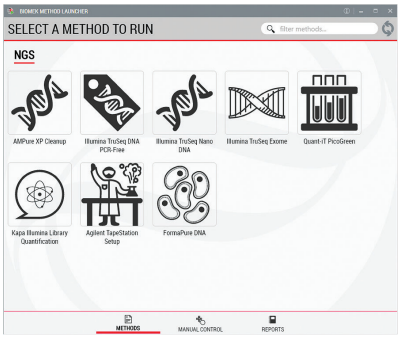

Figure 2. Biomek Method Launcher のメソッド選択および開始画面

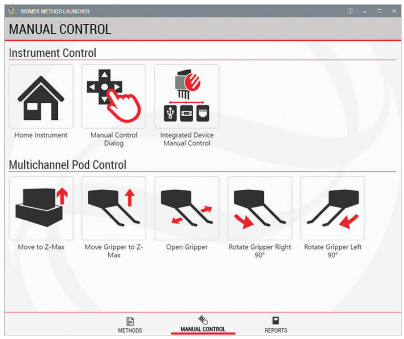

Figure 3. Biomek Method Launcher からのマニュアル操作画面

2. **Method Options Selector (MOS) —** オプションで各種調製条件を選択・指定することで、調製内容や実行ステップを柔軟に変更できることから、調製作業全体のスケジューリングの自由度を最大限に高めることができます。

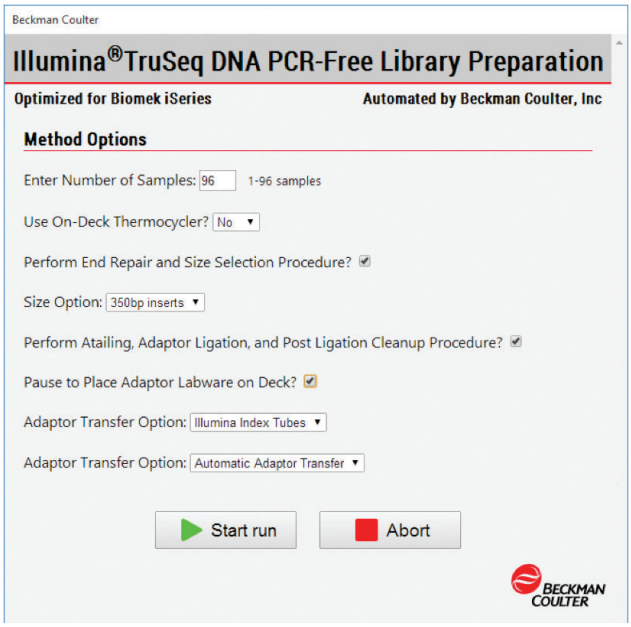

Figure 4. Illumina TruSeq DNA PCR-Free Method の Method Options Selector 画面。1～96 サンプル内でサンプル数を選択可能。メソッドは Illumina 推奨のストップポイントに準じたモジュールで構成されており、個別のモジュール単位もしくはメソッド一括ランを選択可能。調製されるライブラリサイズは 350 bp もしくは 550 bp から選択可能。アダプターは Illumina 96-well DNA adapter plate もしくは独自のアダプター用プレートから分注可能。アダプターの組み合わせは自動もしくはユーザーが作製した分注計画ファイルで指定可能。

3. **Guided Labware Setup (GLS) —** MOS で選択したオプションを反映したセットアップ手順を表示します。試薬の種類や必要量の表示を含めたグラフィカルなセットアップ画面によって、ユーザー側で必要とされる作業内容を表示します。

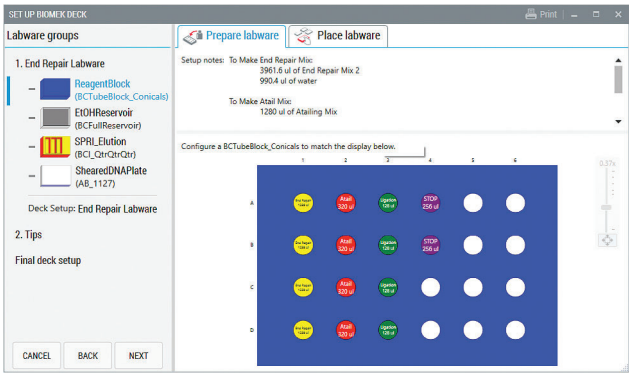

Figure 5. Guided Labware Setup 画面。
サンプル数に応じた試薬の分注量とプレート類の配置を支援

Modular Design:

本アプリケーションは 2 つのモジュールで構成されており、柔軟な実験スケジューリングが可能です。

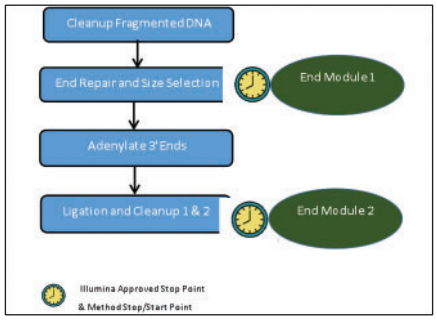

Figure 6. Illumine TruSeq DNA PCR-Free ワークフロー

Major Process Description	24 Samples	48 Samples	96 Samples
End Repair	1 hr 46 mins	2 hrs 8 mins	2 hr 50 min
Atailing,Ligation	1 hr 26 mins	1 hr 47 mins	2 hr 28 mins
Hands on Time	15 mins	15 mins	15 mins
Total Method Run Time	3 hr 26 mins	4 hrs 10 mins	5 hrs 32 mins
**Timing does not include thawing of reagents			

Table 1. Biomek i5 Sapn-8 Genomics WorkstationにおけるIllumina TruSeq DNA PCR-Freeの想定時間。メソッドはIllumina推奨ストップポイントに準じたモジュールで構成。1 ～ 96サンプルの間でサンプル数を選択できるほか、個別のモジュール単位もしくは一括での完全自動実行を選択可能。

Experimental Design and Results

サンプル DNA は、Genomic DNA (Promega P/N: G3041) と Covaris S220 focused Ultrasonicator を用いて、Illumina TruSeq DNA PCR-Free Sample Preparation Kit protocol に記載の 550bp インサート用設定で断片化を行い、これを 12 サンプル分用意しました。断片化した 2 µg 分の DNA 50 µL をそれぞれライブラリ作製に供しました。得られたライブラリの品質は Agilent TapeStation High Sensitivity D5000 kit を用いて評価しました。

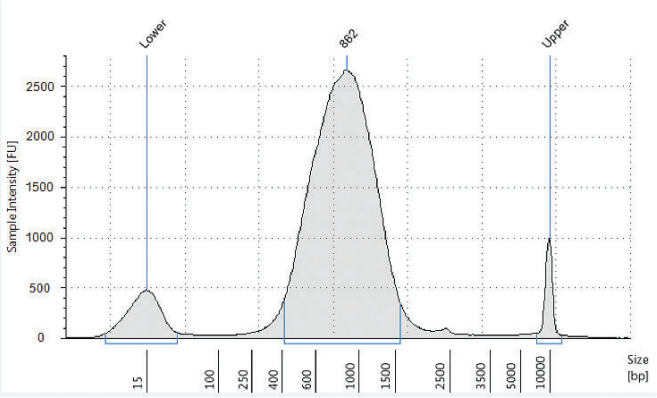

Figure 7. Agilent TapeStation における HS D5000 kit を用いたライブラリの泳動パターン。ライブラリサイズは Illumina プロトコルと同等であり、120 bp 付近に検出されるアダプターダイマーは認められなかった。qPCR によるライブラリの定量値は約 9 nM。

Summary

Biomek i-Series 自動分注ワークステーションに対して標準化された Illumina TruSeq DNA PCR-Free Sample Preparation kit の自動化アプリケーションは、安定的な稼働とともに、サンプル数や作業スケジューリングに対して高い自由度を持ちつつ、追加作業なしにそのままシーケンサーに供することのできるライブラリを調製できる性能を有することが示されました。

All trademarks are properties of their respective owners

ベックマン・コールター株式会社

本　社：〒135-0063 東京都江東区有明3-5-7 TOC有明ウエストタワー

お客様専用 0120-566-730　☎ 03-6745-4704　FAX 03-5530-2460
e-mail bckkcas@beckman.com　URL https://www.beckman.jp

本内容は予告なく変更する場合がありますのでご了承ください。

A22a0464a　MAPSS-LS-202202-5　2022.2-0(IH)