

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、低頻度の変異遺伝子を正確に検出することが可能になりました。

**【キーワード】** cell free DNA、低頻度変異解析、分子バーコード(UMI)、イルミナ社NGS装置

## 分子バーコード付きライブラリー調製キット SMARTer® ThruPLEX® Tag-seq Kitの使用で、cell free DNAで低頻度変異解析を実現

(データ: タカラバイオ取得)

### ■ 実験の背景

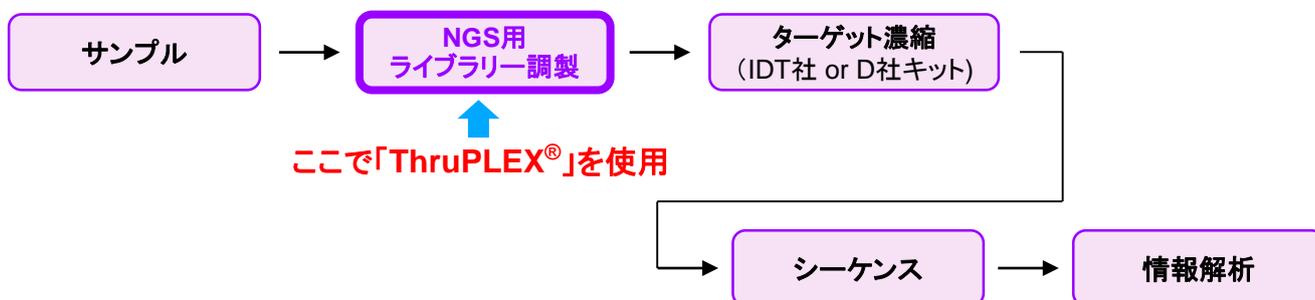
がん研究において、cell free DNA中の低頻度の変異を正確に検出することは非常に重要である。特に、次世代シーケンサーを用いた解析では、ライブラリー調製中の増幅エラーやシーケンスエラーがあり、サンプル自身の低頻度変異と区別することが困難な場合がある。SMARTer® ThruPLEX® Tag-seq Kitは、分子バーコード(UMI)を搭載したライブラリー調製キットである。UMIを用いることで、偽陽性の変異コールを減らすことが可能となり、低頻度で存在する変異を正確に検出することができる。今回は、ライブラリー調製にSMARTer® ThruPLEX® Tag-seq Kitを使用し、ターゲット濃縮にxGen Lockdown Probes (IDT社)とD社濃縮キットを用いて評価した。

### ■ 使用製品: 1分子レベルで解析可能な分子バーコード付ライブラリー調製キット

製品名	Index		容量	製品コード	価格(税別)
	種類	タイプ			
SMARTer® ThruPLEX® Tag-seq 6S (12) Kit	6	シングル	12回	R400584	¥123,000

※ 本キットにはIndexが含まれていますので、Index Kitを別途購入いただく必要はありません。

### ■ 実験ワークフロー ※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。



NGS試薬担当が、詳しい製品説明にお伺いいたします。ご希望の方は弊社営業担当、もしくは弊社試薬販売店までお気軽にお声かけください。

裏面につづく ➡

## 変異遺伝子検出結果

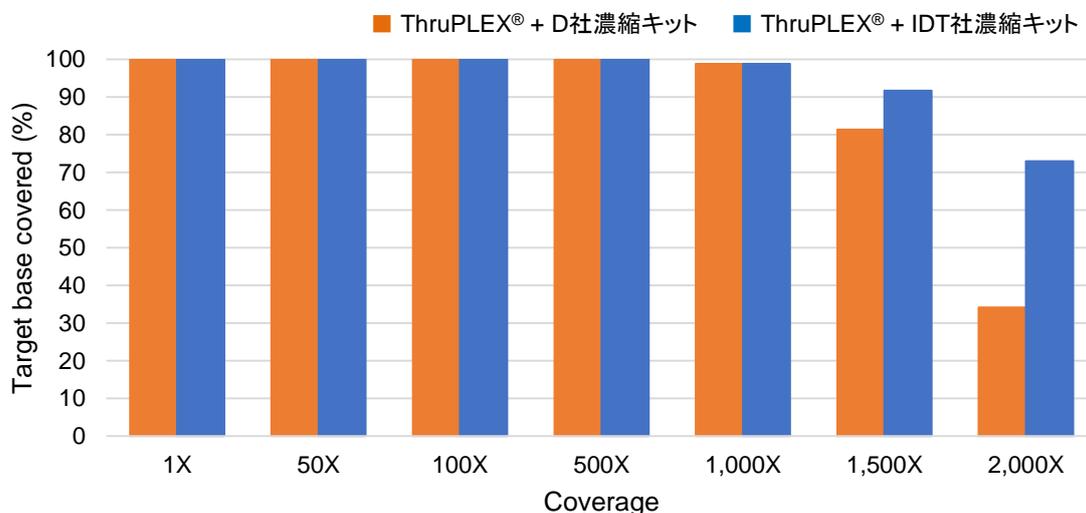
ターゲット濃縮キット	ThruPLEX® + IDT社濃縮キット						ThruPLEX® + D社濃縮キット					
サンプル情報	1.0% Multiplex I cfDNA			0.1% Multiplex I cfDNA			1.0% Multiplex I cfDNA			0.1% Multiplex I cfDNA		
マッピングソフト	BWA-MEM											
変異検出ソフト	独自パイプライン						独自パイプライン					
Variant	REF	ALT	AF									
EGFR (L858R)	2,192	20	0.91%	1,977	2	0.10%	1,499	18	1.20%	1,679	3	0.18%
EGFR (ΔE746-A750)	1,966	9	0.46%	1,869	0	0.00%	1,471	5	0.34%	1,536	3	0.20%
EGFR (T790M)	2,163	30	1.39%	2,160	3	0.14%	1,573	14	0.89%	1,524	0	0.00%
EGFR (V769-D770Ins)	1,997	9	0.45%	2092	0	0.00%	739	3	0.41%	739	0	0.00%
KRAS (G12D)	1,320	19	1.44%	1,179	2	0.17%	1,135	7	0.62%	1,099	1	0.09%
NRAS (Q61K)	4,093	40	0.98%	3,505	2	0.06%	1,826	15	0.82%	1,861	0	0.00%
NRAS (A59T)	4,158	42	1.01%	3,594	8	0.22%	1,835	30	1.63%	1,847	5	0.27%
PIK3CA (E545K)	1,309	15	1.15%	1112	1	0.09%	1,172	5	0.43%	987	2	0.20%
変異検出数(検出感度)	8 (100%)			6 (75%)			8 (100%)			5 (62.5%)		

REF: 参照配列と同じ塩基を持つリード数  
 ALT: 変異配列と同じ塩基を持つリード数  
 AF: 変異頻度(全リード中のALTのリード比率として算出)

1% Multiplex cfDNAでは、IDT社、D社いずれも8種の既知の変異遺伝子を検出できた。一方、0.1% cfDNAでは、IDT社で6種、D社で5種を検出できた。分子バーコードを搭載したSMARTer® ThruPLEX® Tag-seq KitとIDT社の濃縮キットを用いることで、より低頻度の変異遺伝子を正確に検出できることが示された。

## 各カバレッジにおけるターゲット領域の塩基カバー率の比較

※D社、IDT社で共通するターゲット遺伝子(30 kb)のデータのみを比較に使用



ThruPLEX® + D社濃縮キットより、ThruPLEX® + IDT社濃縮キットの方が高カバレッジにおけるカバー率が高かった。よって、ThruPLEX® + IDT社濃縮キットの組み合わせの方が低頻度の変異検出に適していることが示された。

・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。  
 ・ライセンス情報については弊社ウェブサイトにてご確認ください。  
 ・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7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7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