

— シングルセル・微量サンプル解析の成功への近道 —
タカラバイオ 次世代シーケンス(NGS)関連製品ガイド

2024年11月作成

RNA-Seq

DNA-Seq

Repertoire Analysis

that's
GOOD
science!™

■ mRNAシーケンス用ライブラリー調製キット (Oligo dTプライミング)

- ・ Oligo dTプライマーでmRNAのみキャッチ。total RNAの精製不要
- ・ キット付属のLysis Bufferで細胞ダイレクトの使用OK

製品名	特長	対象生物種	サンプル量		掲載ページ
			total RNA	細胞数	
SMART-Seq [®] mRNA HT LP	簡単操作で低価格。RNA-Seq初心者特に特におすすめ	polyAを持つ生物	10 pg~1 ng	1~100	p. 5
SMART-Seq [®] mRNA LP	圧倒的な実績を誇るSMART-Seq [®] v4の後継品。v4論文と同じ解析目的ならこれ		10 pg~100 ng	1~1,000	p. 7
SMART-Seq [®] mRNA LP (with UMIs)	分子バーコードにより、さらに正確な解析が可能に。低頻度変異の解析にも		10 pg~100 ng	1~1,000	p. 8
SMART-Seq [®] mRNA Single Cell LP	シングルセル解析に最適化。1細胞からならこれ		2 pg~	1	p. 9

■ total RNAシーケンス用ライブラリー調製キット (ランダムプライミング)

- ・ ランダムプライマー使用でmRNA、ノンコーディングRNAなどの全トランスクリプトーム解析が可能
- ・ FFPE/LCM由来RNA、分解RNAなどあらゆるRNAに対応
- ・ 独自のリボゾームRNA (rRNA) 除去試薬「ZapR」の採用により、シングルセルや微量RNAからも調製可能

製品名	特長	対象生物種	サンプル量		掲載ページ
			total RNA	細胞数	
SMART-Seq [®] Total RNA Single Cell (ZapR [™] Mammalian)	シングルセルからの全トランスクリプトーム解析可能なキット	ヒト・マウス ・ラット	10 pg~10 ng	1~1,000	p. 11
SMART-Seq [®] Total RNA Pico Input with UMIs (ZapR [™] Mammalian)	UMI (分子バーコード) 採用でPCRバイアス等を抑制した高精度解析が可能	ヒト・マウス ・ラット	250 pg~10 ng	10~1,000	p. 13
SMART-Seq [®] Total RNA Mid Input	rRNA除去済みであればあらゆる生物種に対応可能	全生物	100 pg~100 ng (rRNA除去済)	—	p. 14
SMART-Seq [®] Total RNA High Input (RiboGone [™] Mammalian)	RIN値3~10のtotal RNAから高品質で再現性の高いデータを取得可能	ヒト・マウス ・ラット	100 ng~1 µg	—	p. 14

※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。Indexの詳細については裏表紙をご覧ください。

■ TCR/BCRレパトア解析用ライブラリー調製キット (Oligo dTプライミング)

- ・ UMI搭載で高精度のレパトア解析が可能
- ・ ヒトおよびマウス用をそれぞれご用意

【ヒトTCR/BCRレパトア解析用ライブラリー調製キット】

製品名	特長	対象生物種	サンプル量		掲載ページ
			total RNA	細胞数	
SMART-Seq[®] Human TCR (with UMIs)	UMI搭載で高精度のヒト TCR α/β V(D)J可変領域の完全長解析が可能	ヒト	<ul style="list-style-type: none"> ・末梢白血球 10 ng~1 μg ・T細胞 1~100 ng ・全血 20~200 ng 	T細胞 1,000 ~10,000	p. 15
SMART-Seq[®] Human BCR (with UMIs)	UMI搭載で高精度のヒト BCR (IgG、IgM、IgA、IgD、IgE、IgK、IgL) 解析が可能		<ul style="list-style-type: none"> ・末梢血単核細胞 (PBMC) 10 ng~1 μg ・B細胞 1~100 ng 	—	p. 15

【マウスTCR / BCRレパトア解析用ライブラリー調製キット】

製品名	特長	対象生物種	サンプル量		掲載ページ
			total RNA	細胞数	
SMART-Seq[®] Mouse TCR (with UMIs)	UMI搭載で高精度のマウス TCR α/β V(D)J可変領域の完全長解析が可能	マウス	<ul style="list-style-type: none"> ・脾臓 / T細胞 1 ng~1 μg ・全血 / 骨髄 / 胸腺 10 ng~1 μg 	T細胞 100~10,000	p. 16
SMART-Seq[®] Mouse BCR (with UMIs)	UMI搭載で高精度のマウス BCR (IgG、IgM、IgA、IgD、IgE、IgK、IgL) 解析が可能		<ul style="list-style-type: none"> ・脾臓 / 骨髄 / 末梢血単核細胞 (PBMC) / リンパ節 10 ng~1 μg ・全血 100 ng~ 	—	p. 16

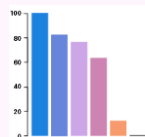
- ※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。Indexの詳細については裏表紙をご覧ください。
- ※ シーケンスを行う際には、サンプルにControl DNA (PhiX)を加えて解析してください。

無料のバイオインフォマティクスソフトウェア「Cogent」で
情報解析までサポート

Cogent NGS Analysis Pipeline

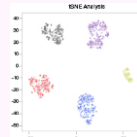
RNA-Seqデータの解析ソフトウェア。以下ファイルの出力が可能。

- ・ シングルセル解析のHTML
- ・ CogentDS用のRデータ
- ・ gene matrix、stats fileなどの raw data



Cogent NGS Discovery Software

CogentAPで生成したデータを可視化する、ユーザーフレンドリーなソフトウェア。

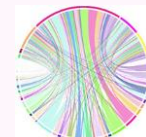


Cogent NGS Immune Profiler Software

タカラバイオのレパトア解析用ライブラリー調製キットで調製したライブラリーのFASTQファイル解析用ソフトウェア。

Cogent NGS Immune Viewer

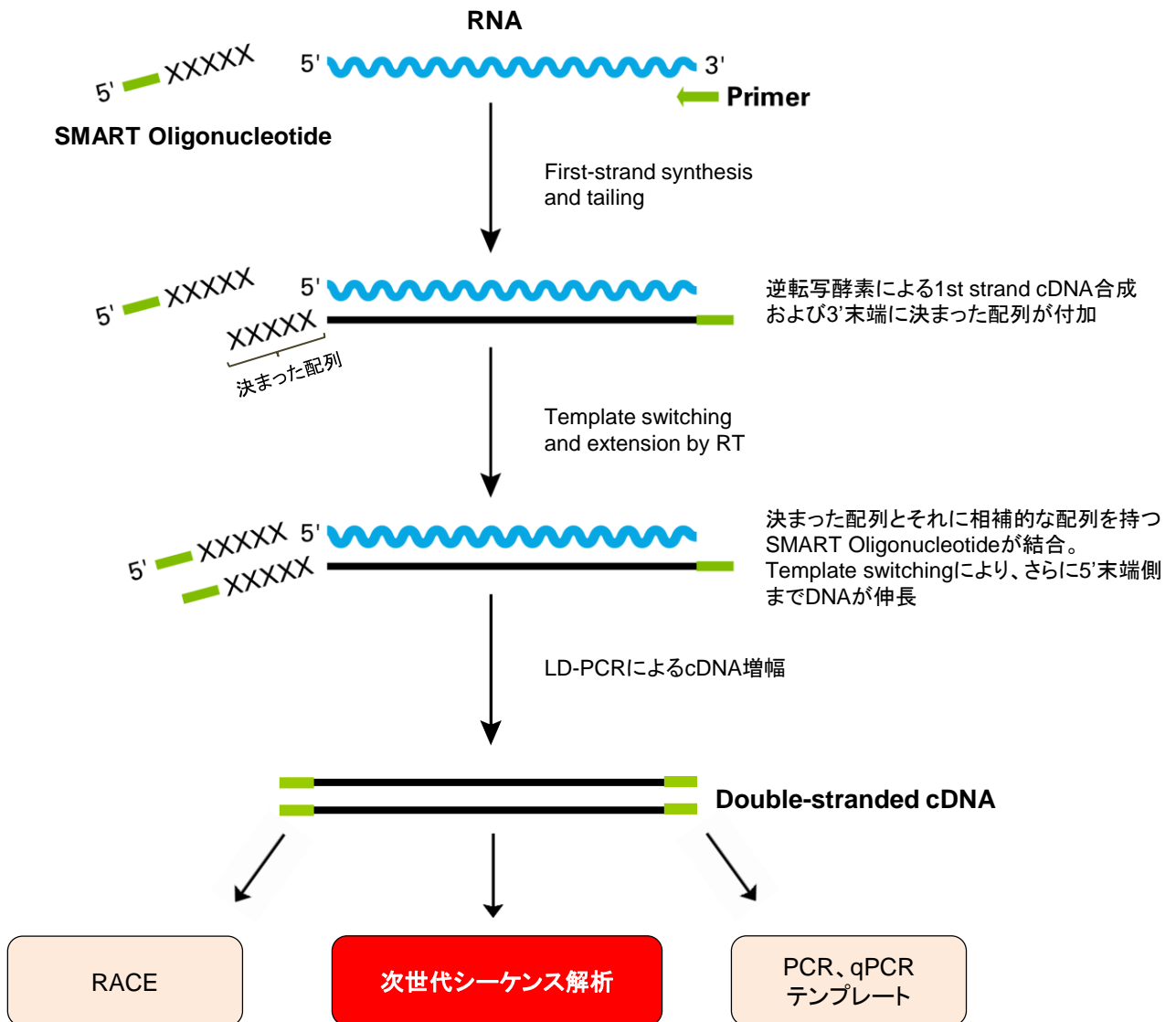
クラウドベースのデータ可視化ツール。CogentIPから出力したCSV fileも使用可能。



タカラバイオのRNA-Seq用ライブラリー調製キットには、独自技術「**SMARTテクノロジー**」が使われています。この技術により、微量なサンプルからでも簡単に、確実にサンプル調製ができます。

SMARTテクノロジーとは・・・

- ・ RNAからcDNAを合成する技術で、Full length cDNAを効率よく取得可能
- ・ pgオーダーの微量RNAからでも高品質なcDNAが調製可能
- ・ 調製したcDNAの両末端には既知配列が付加されるので、ライゲーションではなくPCRによるアダプター付加が可能



従来製品・リニューアル品対応表

本パンフレットで紹介しているRNA-Seq関連製品は、従来製品に変更を加えたりリニューアル品です。

■ 主な変更点

- ✓ 製品名を変更し、よりキットの特長を分かりやすく
- ✓ 価格を見直しコストパフォーマンスが向上
- ✓ インデックスを別売りにし、より柔軟に多くのマルチプレックスに対応

★ 仕様等に変更がある製品です。
詳細は各製品の紹介ページでチェック!

【 mRNAシーケンス用 】

従来製品	リニューアル品
SMART-Seq [®] HT Kit 製品コード 634455	SMART-Seq [®] mRNA HT 製品コード 634795
SMART-Seq [®] HT PLUS Kit 製品コード R400748	SMART-Seq [®] mRNA HT LP 製品コード 634792
SMART-Seq [®] Single Cell Kit 製品コード 634470	SMART-Seq [®] mRNA Single Cell 製品コード 634789
SMART-Seq [®] Single Cell PLUS Kit 製品コード R400750	SMART-Seq [®] mRNA Single Cell LP 製品コード 634786
SMART-Seq [®] v4 Ultra [®] Low Input RNA Kit for Sequencing 製品コード 634888	SMART-Seq [®] mRNA 製品コード 634772 ★
SMART-Seq [®] v4 PLUS Kit 製品コード R400752	SMART-Seq [®] mRNA LP 製品コード 634768 ★

【 total RNAシーケンス用 】

SMART-Seq [®] Stranded Kit 製品コード 634442	SMART-Seq [®] Total RNA Single Cell (ZapR [™] Mammalian) 製品コード 634360 ★
SMARTer [®] Stranded Total RNA-Seq Kit v3 - Pico Input Mammalian 製品コード 634485	SMART-Seq [®] Total RNA Pico Input with UMIs (ZapR [™] Mammalian) 製品コード 634354 ★
SMARTer [®] Stranded Total RNA-Seq Kit v2 - Pico Input Mammalian 製品コード 634411	SMART-Seq [®] Total RNA Pico Input (ZapR [™] Mammalian) 製品コード 634357 ★
SMARTer [®] Stranded RNA-Seq Kit 製品コード 634838	SMART-Seq [®] Total RNA Mid Input 製品コード 635049
SMARTer [®] Stranded RNA-Seq Kit HT 製品コード 634862	
SMARTer [®] Stranded Total RNA Sample Prep Kit - HI Mammalian 製品コード 634873	SMART-Seq [®] Total RNA High Input (RiboGone [™] Mammalian) 製品コード 635046

【 レパトア解析用 】

SMARTer [®] Human TCR a/b Profiling Kit 製品コード 635016	SMART-Seq [®] Human TCR (with UMIs) 製品コード 634780
SMARTer [®] Human TCR a/b Profiling Kit v2 製品コード 634478	
SMARTer [®] Human BCR IgG IgM H/K/L Profiling Kit 製品コード 634466	SMART-Seq [®] Human BCR (with UMIs) 製品コード 634777 ★
SMARTer [®] Mouse TCR a/b Profiling Kit 製品コード 634403	SMART-Seq [®] Mouse TCR (with UMIs) 製品コード 634815 ★
SMARTer [®] Mouse BCR IgG H/K/L Profiling Kit 製品コード 634422	SMART-Seq [®] Mouse BCR (with UMIs) 製品コード 634352 ★

簡単操作で低価格。初めてRNA-Seqする方に特におすすめ

SMART-Seq[®] mRNA HT LP

スタートサンプル	サンプル量	アプリケーション	NGS解析プラットフォーム	対象生物種	逆転写プライマー
total RNA	10 pg~1 ng	mRNA解析	Illumina	polyAを持つ生物	改変型Oligo dT
細胞ダイレクト	1~100細胞				

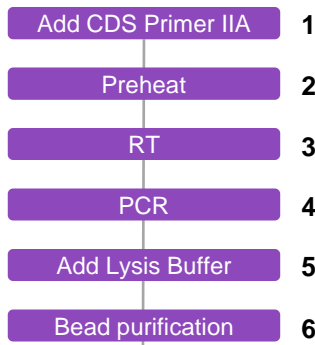
特長

- 1細胞またはtotal RNA 10 pgなどの超微量サンプルからライブラリー調製が可能
- シリーズ中最も高いコストパフォーマンス
- 3ステップのcDNA合成プロトコルで、バラツキが少ない安定した結果が得られる
- 低発現遺伝子でも安定した検出が可能

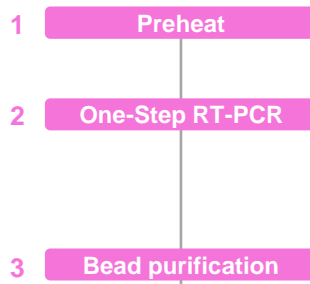
■ 簡単な操作ステップ：

SMART-Seq[®] mRNA LPに比べてステップを簡略化し、操作時間を大きく削減。多検体解析にも最適！

SMART-Seq[®] mRNA LP



SMART-Seq[®] mRNA HT LP



SMART-Seq[®] mRNA HT LPでは、One-Step RT-PCR Bufferを用いることで、逆転写反応とPCR反応の1ステップ化に成功しました。

SMART-Seq[®] mRNA LPでは6ステップの工程が必要なところ、SMART-Seq[®] mRNA HT LPは3ステップで調製でき、**ハンズオンタイムを大幅に削減**しました。

製品名	構成品	容量	製品コード
SMART-Seq [®] mRNA HT LP	・ cDNA合成試薬 ・ ライブラリー調製	24回	634792
		96回	634793
		96回 × 4	634794
SMART-Seq [®] mRNA HT	・ cDNA合成試薬	24回	634795
		96回	634796
		96回 × 4	634791

※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。

■ SMART-Seq® HTとSMART-Seq® v4の遺伝子発現解析の比較

SMART-Seq® HTとSMART-Seq® v4を用いてマウス脳 total RNA 10 pgからcDNAを合成後、イルミナ社 Nextera XT DNA Sample Prep Kitを用いてライブラリーを調製し、次世代シーケンサー NextSeqで解析した(2 x 75 bp)。情報解析には、CLC社/キアゲン社 CLC Genomics Workbenchを使用した。

A シーケンス結果

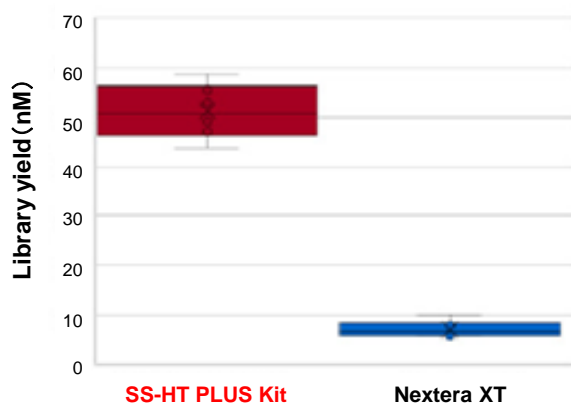
RNA source		10 pg Mouse Brain total RNA					
cDNA synthesis		SMART-Seq® v4			SMART-Seq® HT		
Yield (ng)		7.3	8.5	9.4	9.5	9.9	9.2
Number of transcripts	FPKM > 0.1	14,168	13,934	14,147	14,510	14,650	14,553
Average Pearson / Spearman		0.97 / 0.67			0.97 / 0.68		
		0.96 / 0.66					
Proportion of reads mapped (%):							
rRNA		0.7	0.6	0.5	1.1	1.1	1.1
Mitochondria		2.8	4.2	4.1	3.7	3.8	4.2
Genome		92.3	90.8	86.6	89.1	89	87.8
Exons		74.8	72.5	69	67.3	67.1	65.3
Introns		13.3	14.1	13.3	16.9	16.9	17.4
Intergenic regions		4.2	4.2	4.4	4.9	5.0	5.2

SMART-Seq® HTとSMART-Seq® v4を用いた場合で、シーケンス結果は同等の値を示した(パネルA)。SMART-Seq® HTは作業時間を大幅に短縮するOne-Step RT-PCR Bufferを採用しているが、この結果からSMART-Seq® v4と同等の性能であることが示された。

■ SMART-Seq® HT PLUS KitとNextera XTとの比較

SMART-Seq® HT Kitを使用して10 pgのマウス脳total RNAからcDNA合成を行った後、イルミナ社Nextera XTを使用してライブラリー調製を行う従来法と、SMART-Seq® HT PLUS Kit(SS-HT PLUS Kit)でライブラリー調製を行った場合を比較した。ライブラリーを4M paired-endリードにノーマライズし、NextSeq500でシーケンスを行った。

B ライブラリー収量の比較



C 遺伝子検出数の比較



従来のライブラリー調製法 (Nextera XT) と比較して、SMART-Seq® HT PLUS Kitの方が約5倍のライブラリーを調製できた(パネルB)。ライブラリーの収量が多いため、ハイスループットシーケンサー (NovaSeqなど) でのシーケンスも容易となり、必要に応じて追加のシーケンスにも対応可能である。

従来のライブラリー調製法 (Nextera XT) と比較して、SMART-Seq® HT PLUS Kitの方がより多くの遺伝子をキャプチャーできるため(パネルC)、同じサンプルでもより多くの情報を得ることができ、貴重なサンプルを有効に解析することができる。

※ 本ページ掲載データは、SMART-Seq® mRNA HT LPと同じ原理・性能のSMART-Seq® HT PLUS Kitを使用して取得しています。

微量解析で最高クラスの実績を誇るSMART-Seq® v4後継品。v4と同パフォーマンスを求めるならこれ!

SMART-Seq® mRNA LP

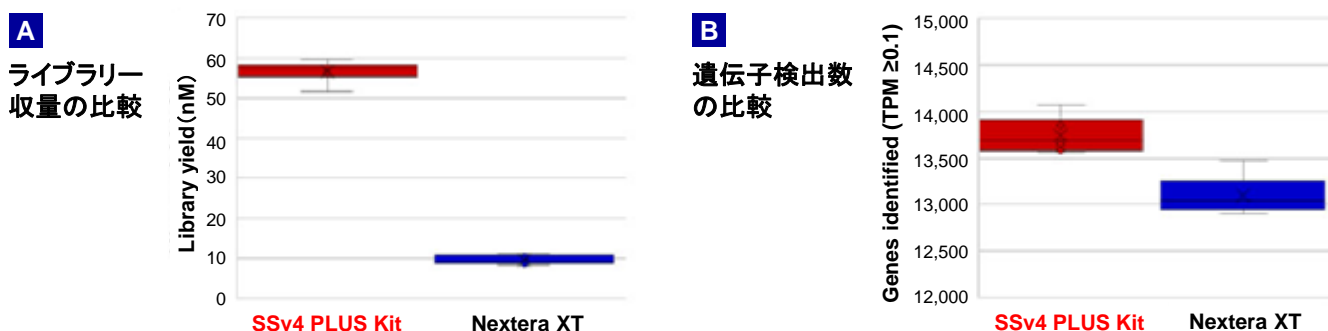
スタートサンプル	サンプル量	アプリケーション	NGS解析プラットフォーム	対象生物種	逆転写プライマー
total RNA	10 pg~100 ng	mRNA解析	Illumina	polyAを持つ生物	改変型Oligo dT
細胞ダイレクト	1~1,000細胞				

特長

- 1細胞またはtotal RNA 10 pgなどの超微量サンプルからライブラリー調製が可能
- シンプルなプロトコルでバラツキが少ない安定した結果が得られる
- SMART-Seq® v4の後継品でv4と同等のパフォーマンス

SMART-Seq® v4 PLUS KitとNextera XTとの比較

SMART-Seq® v4 Kit (SSv4) を使用して10 pgのマウス脳total RNAからcDNA合成を行った後、イルミナ社Nextera XTを使用してライブラリー調製を行う従来法と、**SMART-Seq® v4 PLUS Kit (SSv4 PLUS Kit)** でライブラリー調製を行った場合を比較した。ライブラリーを4M paired-endリードにノーマライズし、NextSeq500でシーケンスを行った。



従来のライブラリー調製法 (Nextera XT) と比較して、**SSv4 PLUS Kit**の方が約5倍のライブラリーを調製できた (パネルA)。ライブラリーの収量が多いため、ハイスループットシーケンサー (NovaSeqなど) でのシーケンスも容易となり、必要に応じて追加のシーケンスにも対応可能である。

従来のライブラリー調製法 (Nextera XT) と比較して、**SSv4 PLUS Kit**の方がより多くの遺伝子をキャプチャーできるため (パネルB)、同じサンプルでもより多くの情報を得ることができ、貴重なサンプルを有効に解析することができる。

※ 本ページ掲載データは、SMART-Seq® mRNA LPと同じ原理・性能のSMART-Seq® v4 PLUS Kitを使用して取得しています。

製品名	構成品	容量	製品コード
SMART-Seq® mRNA LP	・ cDNA合成試薬 ・ ライブラリー調製	24回	634768
		96回	634769
		96回 × 4	634771
SMART-Seq® mRNA	・ cDNA合成試薬	24回	634772
		96回	634773
		96回 × 4	634770

※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか) を別途ご購入ください。

★ リニューアルポイント ★

本製品は、SMART-Seq® v4 PLUS Kitおよび SMART-Seq® v4 Ultra Low Input RNA Kit for Sequencingの製品名が変更となった製品です。製品名以外に以下に記載されたマイナーチェンジがなされていますが、プロトコルや性能への影響はありません。

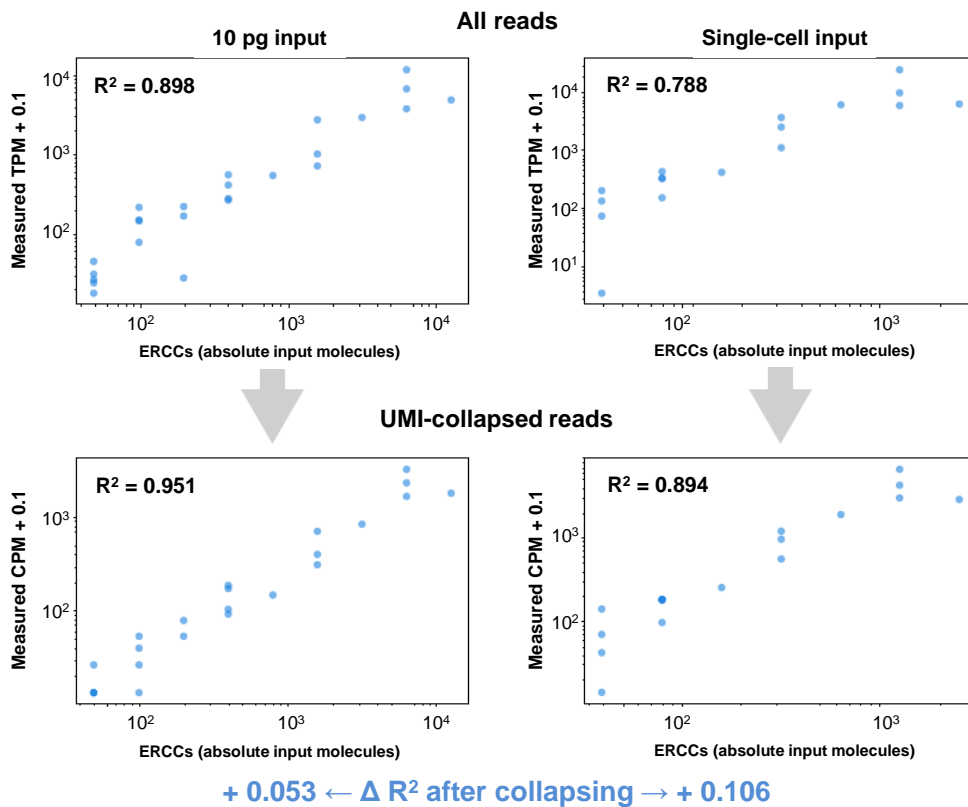
- SeqAmp PCR bufferが、SeqAmp CB PCR bufferになり、DNAクリーンアップ時のビーズのペレットリングおよび再懸濁の操作性が向上しています。
- Afal、10× Afal Buffer、0.1% BSAは含まれていません。
- Total RNAのインプット量の上限が、10 pg~10 ngから10 pg~100 ngとなっています。

分子バーコードによりさらに信頼性が向上したmRNA-Seq用ライブラリー調製キット SMART-Seq® mRNA LP (with UMIs)

スタートサンプル	サンプル量	アプリケーション	NGS解析プラットフォーム	対象生物種	逆転写プライマー
total RNA	10 pg~100 ng	mRNA解析	Illumina	polyAを持つ生物	改変型Oligo dT
細胞ダイレクト	1~1,000細胞				

- 特長**
- 1細胞またはtotal RNA 10 pgなどの超微量サンプルからライブラリー調製が可能
 - シンプルなプロトコールでバラツキが少ない安定した結果が得られる
 - 分子バーコード(UMI)の採用により高精度な遺伝子発現／転写産物カウントを実現。従来製品より信頼性が向上

UMIによるRNAカウントの正確性の向上



10 pgのインプットRNAまたはシングルセルから精製したRNAに、ERCC control RNAをスパイクし、SMART-Seq® mRNA LP (with UMIs)を用いてライブラリーを調製した。シーケンス後、CogentAPを用いて、ERCC spike-in転写産物のTPM (Transcripts per million)およびCPM (Count per million)をインプットした分子の絶対数に対しプロットした。UMIを使用した解析結果を組み合わせることで、回帰分析においてR²値が顕著に増加することが示された。

製品名	構成品	容量	製品コード
SMART-Seq® mRNA LP (with UMIs)	<ul style="list-style-type: none"> cDNA合成試薬 ライブラリー調製 	24回	634762
		96回	634765
		96回×4	634766

※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。

シングルセル解析に最適化されたmRNA-Seq用ライブラリー調製キット

SMART-Seq[®] mRNA Single Cell LP

スタートサンプル	サンプル量	アプリケーション	NGS解析プラットフォーム	対象生物種	逆転写プライマー
total RNA	2 pg~	mRNA解析	Illumina	polyAを持つ生物	改変型Oligo dT
細胞ダイレクト	1細胞				

特長

- シングルセル解析に最適、確実に完全長cDNAが合成可能なキット
- 優れた感度と再現性。末梢血単核細胞などRNA含量が少ない細胞や核のシングルセルRNA-Seqに最適
- プレートベースの簡単なワークフローで、セルソーターなどで単離されたシングルセルを直接使用可能
- 自動化装置に対応可能なハイスループット解析

■ 既存解析法に対する本キットのメリット

VS

ドロップレットベースの
シングルセル解析

➔

3' endのみを解析するドロップレットとは異なり、本キットは全長を解析するため、融合遺伝子、スプライシングバリエーションなど多くの情報が得られます。

VS

Smart-seq2 (Picelli et. al. 2013)[※]
SMART-Seq v4 (タカラバイオ)

➔

SMARTテクノロジーをさらに改良することにより、従来法や従来キットと比べて、遺伝子検出数や再現性が大幅にUpしました。

※ Picelli, S., Bjorklund, A. K., Faridani, O. R., Sagasser, S., Winberg, G., & Sandberg, R. Smart-seq2 for sensitive full-length transcriptome profiling in single cells. *Nat. Methods* **10**, 1096–1098 (2013).

製品名	構成品	容量	製品コード
SMART-Seq [®] mRNA Single Cell LP	<ul style="list-style-type: none"> • cDNA合成試薬 • ライブラリー調製 	24回	634786
		96回	634787
		96回 × 4	634788
SMART-Seq [®] mRNA Single Cell	<ul style="list-style-type: none"> • cDNA合成試薬 	24回	634789
		96回	634790
		96回 × 4	634785

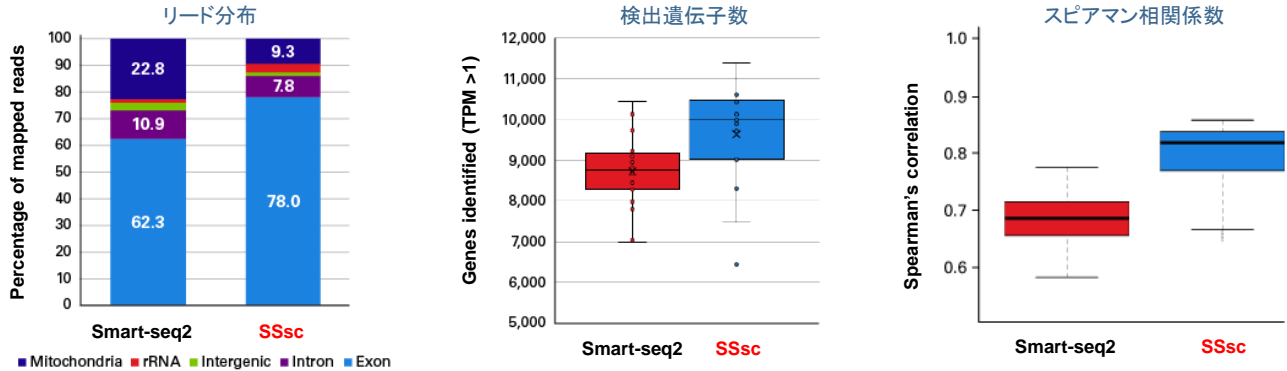
※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。

※ 次ページ掲載データは、SMART-Seq[®] mRNA Single Cell LPと同じ原理・性能のSMART-Seq[®] Single Cell PLUS Kitを使用して取得しています。

SMART-Seq® Single Cell KitとSmart-seq2もしくはSMART-Seq® v4とのデータ比較

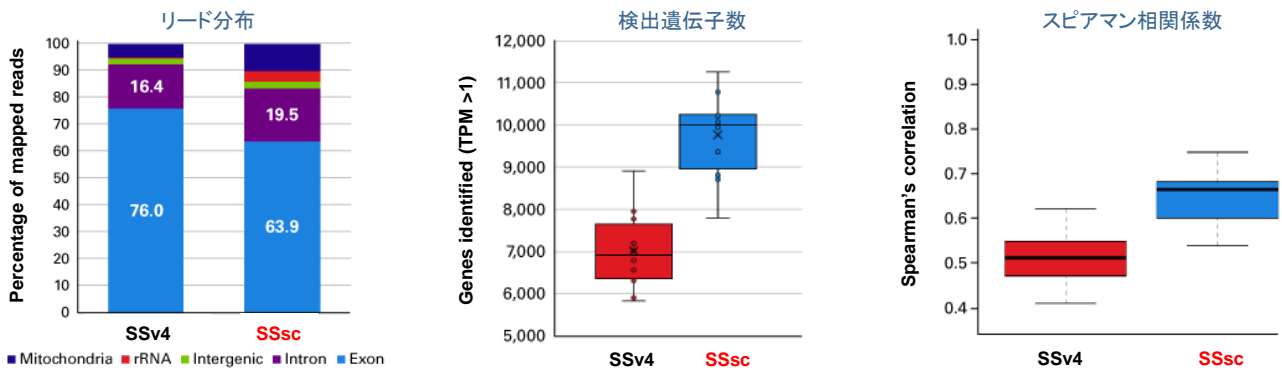
Bリンパ球系細胞GM12878、GM22601をCD81-FITC抗体、7-AAD(死細胞除去用)で染色後、セルソーターを用いて96ウェルプレートにシングルセルソーティングを実施した。その後、**SMART-Seq® Single Cell Kit(SSsc)**、Smart-seq2(論文手法)またはSMART-Seq® v4(SSv4)を用いてcDNA合成後、イルミナ社Nextera XT DNA Sample Prep Kitを用いてライブラリーを調製し、シーケンス解析を行った。

[1] Bリンパ球系培養細胞GM12878を用いた本キットとSmart-seq2の性能比較



Smart-seq2の手法はSSscと比較すると、ミトコンドリアへのマッピングリードが高いため、遺伝子同定のためのリード数が少なくなり、検出遺伝子数も低い。また、スピアマン相関係数からSSscの方が再現性の高いデータが得られ、Smart-seq2より高い性能であることが示された。(SSsc: 18細胞、Smart-seq2: 20細胞、1.75 Mリードペア/細胞)

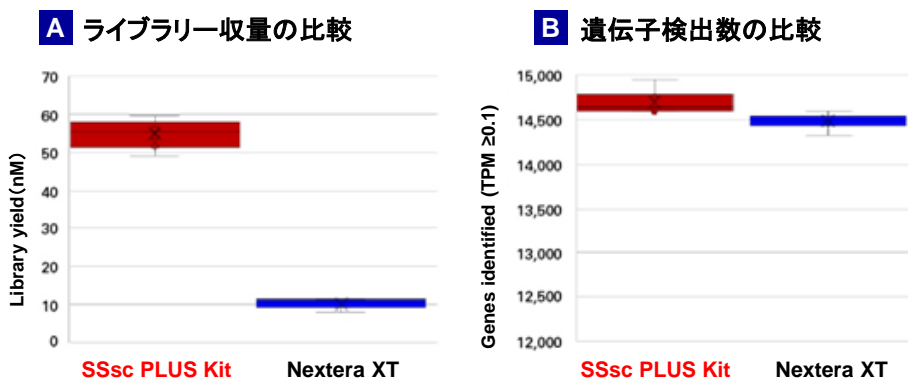
[2] Bリンパ球系培養細胞GM22601を用いた本キットとSSv4の性能比較



SSv4と比較して、SSscのリード分布は同等で、検出遺伝子数は約1.5倍高く検出された。また、スピアマン相関係数から再現性も高い結果が得られ、SSv4より高い性能であることが示された。(SSsc: 12細胞、SSv4: 12細胞、1.25 Mリードペア/細胞)

SMART-Seq® Single Cell PLUS KitとNextera XTとの比較

SSscを使用して10 pgのマウス脳total RNAからcDNA合成を行った後、イルミナ社Nextera XTを使用してライブラリー調製を行う従来法と、**SMART-Seq® Single Cell PLUS Kit(SSsc PLUS Kit)**でライブラリー調製を行った場合を比較した。ライブラリーを4M paired-endリードにノーマライズし、NextSeq500でシーケンスを行った。



従来のライブラリー調製法 (Nextera XT)と比較して、SSsc PLUS Kitは約5倍のライブラリーを調製できた(パネルA)。ライブラリーの収量が多いため、ハイスループットシーケンサー (NovaSeqなど)でのシーケンスも容易となり、必要に応じて追加のシーケンスにも対応可能である。

SSsc PLUS Kitは、従来のライブラリー調製法より多くの遺伝子をキャプチャーできるため(パネルB)、同じサンプルでもより多くの情報を得ることができ、貴重なサンプルを有効に解析することができる。

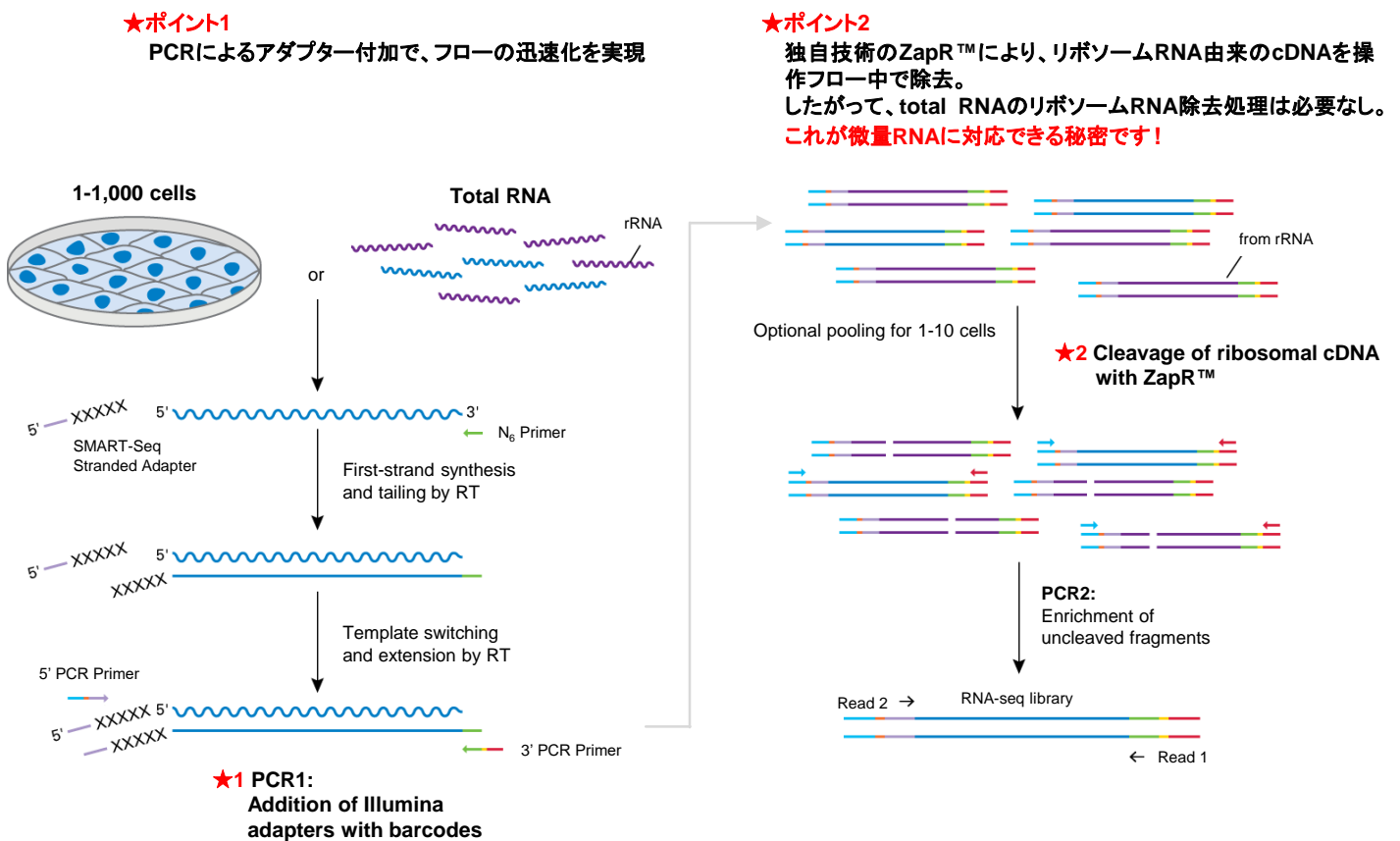
事前のリボソームRNA除去不要！シングルセルから様々なRNAの全長total RNA解析が可能
SMART-Seq® Total RNA Single Cell (ZapR™ Mammalian)

スタートサンプル	サンプル量	アプリケーション	NGS解析プラットフォーム	対象生物種	逆転写プライマー
total RNA	10 pg~10 ng	全トランスクリプトーム解析 (分解RNAを含む)	Illumina	ヒト、マウス、ラット	改変型ランダムプライマー
細胞ダイレクト	1~1,000細胞				

特長

- シングルセルから方向性情報を持ったライブラリーを7時間で調製
- 分解の進んだ低品質RNAでもOK
- コーディング／ノンコーディングのトランスクリプトを再現性高く正確に検出
- rRNA除去試薬の改良により、従来品よりrRNAのリード除去率が向上 ★(p.12データ参照)

■ 操作フロー：事前のリボソームRNA除去は必要なし。アダプター付加もライゲーションは不要で操作が簡単



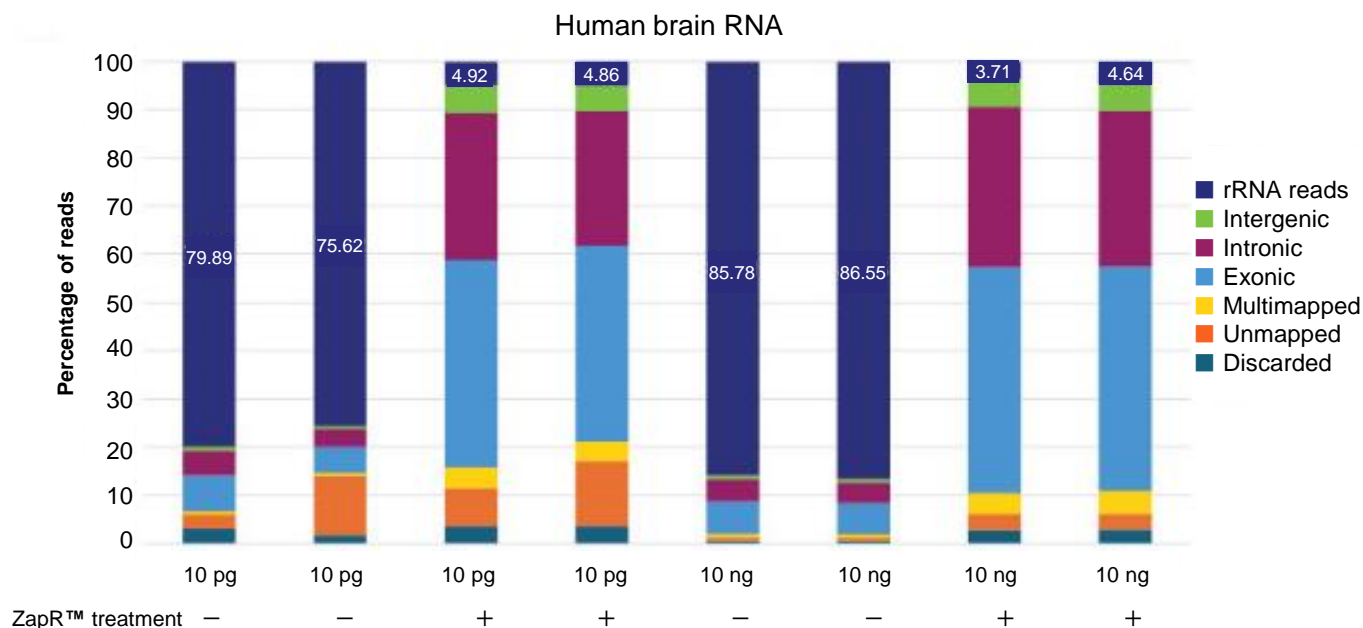
製品名	構成品	容量	製品コード
SMART-Seq® Total RNA Single Cell (ZapR™ Mammalian)	<ul style="list-style-type: none"> • cDNA合成試薬 • ライブラリー調製 • rRNA除去試薬 	24回	634360
		96回	634361
		96回×4	634362

※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。
 ※ シーケンスを行う際には、サンプルにControl DNA (PhiX)を加えて解析することをおすすめします。

★ リニューアルポイント ★

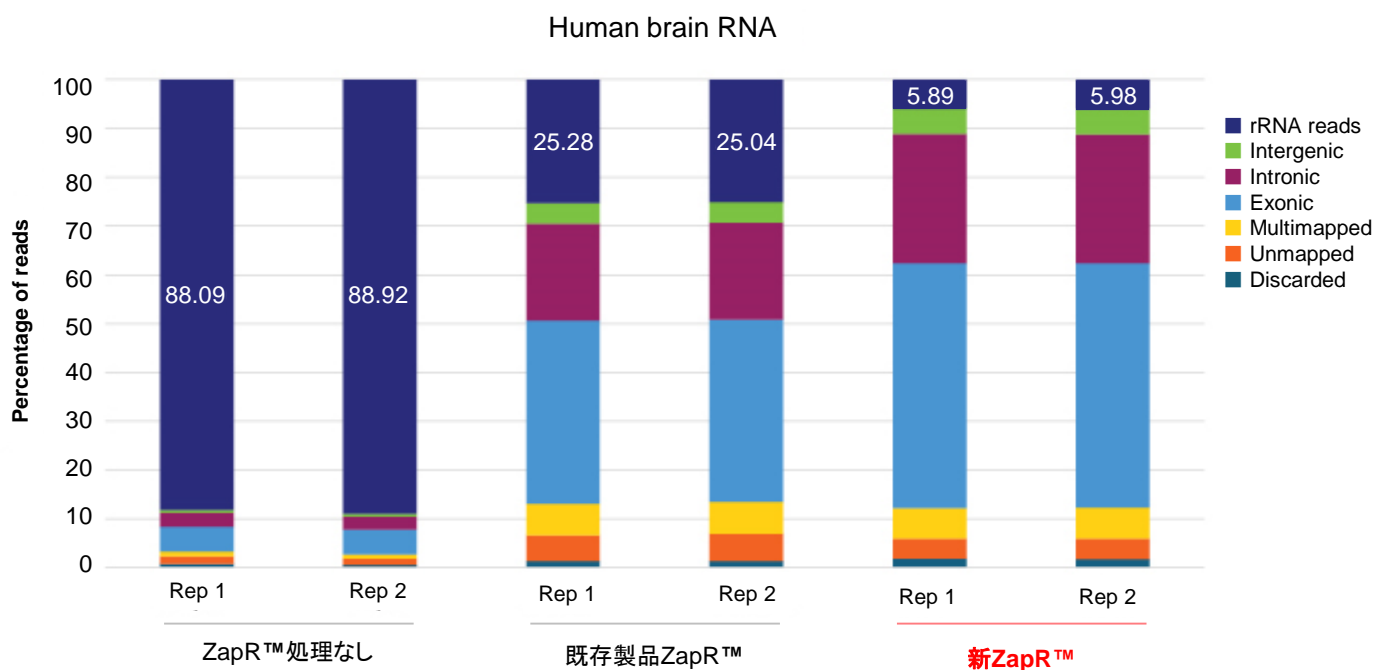
本製品は、従来品SMART-Seq® Stranded Kitから以下の点をリニューアルしています。
 ・ rRNA除去試薬ZapR™のrRNA除去効率が向上し、より再現性の高いデータ取得が可能

異なるRNAインプット量から調製したライブラリーのrRNA由来cDNA除去効果



本製品を用いて10 pgおよび10 ngのヒト脳total RNAからライブラリーを調製後、キットに含まれるZapRTM Mammalian rRNA Depletion KitによるrRNA由来cDNA除去処理(ZapRTM treatment)を実施したものと実施しないもので比較した。10 pg、10 ngのいずれのインプット量でも、ZapRTM treatment処理後のrRNA readsの割合は5%以下となっており、幅広いレンジでrRNA由来cDNAが効率よく除去されることが示された。

★ リニューアルポイント: rRNA除去試薬ZapRTMの性能向上 ★



ヒト脳RNAからライブラリー調製後、既存製品のZapRTMと本製品の新しいZapRTMでrRNA除去処理をしたライブラリーのリード分布を比較した。

本製品のZapRTMで処理したライブラリーではrRNAリードの割合が少なく、rRNA除去性能の向上が示された。

rRNA除去効率が向上したZapRTMは以下の製品に含まれています。

- ・ SMART-Seq[®] Total RNA Single Cell (ZapRTM Mammalian)
- ・ SMART-Seq[®] Total RNA Pico Input (ZapRTM Mammalian)
- ・ SMART-Seq[®] Total RNA Pico Input with UMIs (ZapRTM Mammalian)

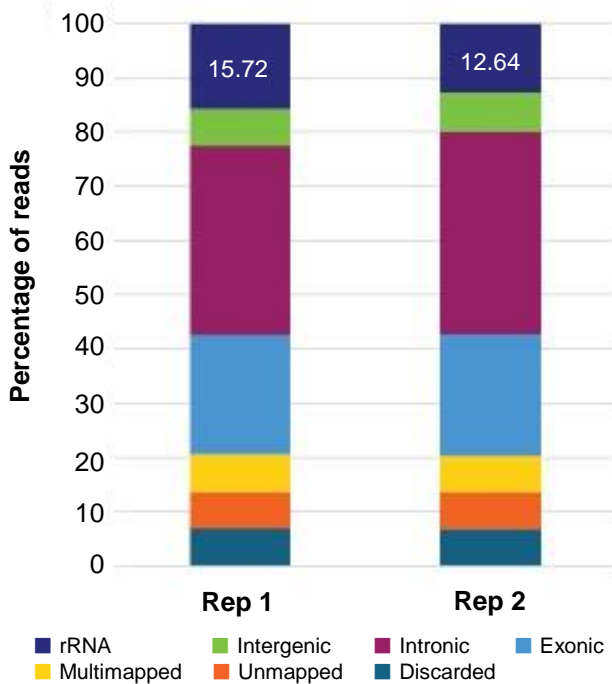
UMI付き、微量total RNAから方向性情報を持ったライブラリー調製が可能

SMART-Seq[®] Total RNA Pico Input with UMIs (ZapR[™] Mammalian)

スタートサンプル	サンプル量	アプリケーション	NGS解析プラットフォーム	対象生物種	逆転写プライマー
total RNA	250 pg~10 ng	全トランスクリプトーム解析 (分解RNAを含む)	Illumina	ヒト、マウス、ラット	改変型ランダムプライマー
細胞ダイレクト	10~1,000細胞				

- 特長**
- UMI (分子バーコード) により、PCR増幅バイアスの影響とシーケンスエラーが軽減され、より正確なNGS解析が可能
 - FFPEやLCM由来の分解を受けたRNAやcell-free RNAを含むあらゆる品質のRNAから信頼性の高い結果を取得
 - バッファーの改良により、6.5時間で方向性情報を保持したRNA-Seqライブラリーを調製可能
 - rRNA除去試薬の改良により、従来品よりrRNAのリード除去率が向上 ★(p.12データ参照)

■ 分解を受けたFFPE RNAサンプルから調製したライブラリーの評価



	FFPE RNA	Replicate 1	Replicate 2
Discarded reads (%)		6.97	6.94
Unmapped reads (%)		6.68	6.68
Multimapped reads (%)		6.97	6.75
Exonic reads (%)		22.01	22.38
Intronic reads (%)		34.86	37.37
Intergenic reads (%)		6.79	7.23
rRNA reads (%)		15.72	12.64
No. of UMIs		65,007	65,511
Strand specificity (%)		94.4	94.1
Gene count		19,672	19,652
TPM≥0.1		31,173	31,126
TPM≥1		30,464	30,433

SMART-Seq[®] Total RNA Pico Input with UMIs (ZapR[™] Mammalian) を用いて、10 ngのFFPE RNA (RIN=3、DV200=77%) からduplicateでライブラリーを調製し、 3×10^6 ペアエンドリードをCogentAPで解析し、結果を棒グラフと表に示した。この結果から、**分解を受けたサンプルからでもレプリケート間で高い再現性が示された。**

製品名	構成	容量	製品コード
SMART-Seq [®] Total RNA Pico Input with UMIs (ZapR [™] Mammalian)	<ul style="list-style-type: none"> cDNA合成試薬 ライブラリー調製 rRNA除去試薬 	24回	634354
		96回	634355
		96回×4	634356

- ※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか) を別途ご購入ください。
- ※ シーケンスを行う際には、サンプルにControl DNA (PhiX) を加えて解析することをおすすめします。

★ リニューアルポイント ★

- 本製品は、従来品SMARTer[®] Stranded Total RNA-Seq Kit v3 - Pico Input Mammalianから以下の点をリニューアルしています。
- ・ rRNA除去試薬ZapR[™]のrRNA除去効率が向上し、より再現性の高いデータ取得が可能

rRNAを除去したあらゆる生物種のRNAから方向性の情報を持つライブラリー調製が可能

SMART-Seq[®] Total RNA Mid Input

スタートサンプル	サンプル量	アプリケーション	NGS解析プラットフォーム	対象生物種	逆転写プライマー
total RNA (rRNA除去済み)	100 pg~100 ng	全トランスクリプトーム解析 (分解RNAを含む)	Illumina	全生物	改変型ランダムプライマー

特長

- あらゆる生物のrRNA除去済み微量RNAから質の高いRNA-Seq解析データを取得可能
- 99%以上の精度でトランスクリプトをカバーするライブラリー調製が可能
- PCR増幅ステップでインデックスとアダプターを組み込むシームレスなワークフロー
- 4時間以内に方向性情報を保持したRNA-Seqライブラリーを調製

製品名	構成	容量	製品コード
SMART-Seq [®] Total RNA Mid Input	・ cDNA合成試薬 ・ ライブラリー調製	24回	635049
		96回	635050
		96回 × 4	635048

※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。

※ シーケンスを行う際には、サンプルにControl DNA (PhiX)を加えて解析することをおすすめします。

RiboGone[™]技術とSMART技術の採用により約5時間でライブラリー調製が可能

SMART-Seq[®] Total RNA High Input (RiboGone[™] Mammalian)

スタートサンプル	サンプル量	アプリケーション	NGS解析プラットフォーム	対象生物種	逆転写プライマー
total RNA	100 ng~1 µg	全トランスクリプトーム解析 (分解RNAを含む)	Illumina	ヒト、マウス、ラット	改変型ランダムプライマー

特長

- ヒト、マウス、ラットのtotal RNAに対応。最大1 µgのInputも可能
- 5時間で方向性情報を保持したRNA-Seqライブラリーを調製
- RIN値3~10のtotal RNAから高品質で再現性の高いデータを取得可能
- RiboGone[™]技術により、rRNAを除去

製品名	構成	容量	製品コード
SMART-Seq [®] Total RNA High Input (RiboGone [™] Mammalian)	・ cDNA合成試薬 ・ ライブラリー調製	24回	635046
		96回	635047
		96回 × 4	635045

※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。

※ シーケンスを行う際には、サンプルにControl DNA (PhiX)を加えて解析することをおすすめします。

ヒトTCR α 鎖/ β 鎖 V(D)J可変領域の完全長シーケンスが可能SMART-Seq[®] Human TCR (with UMIs)

サンプル量		アプリケーション	NGS解析プラットフォーム	対象生物種	逆転写プライマー
total RNA	T細胞				
<ul style="list-style-type: none"> 末梢血白血球由来: 10 ng~1 μg T細胞由来: 1~100 ng 全血由来: 20~200 ng 	1,000~10,000細胞	TCRレパトア解析	Illumina	ヒト	TCR用 dTプライマー

特長

- ヒトT細胞受容体(TCR)のレパトア解析用ライブラリー調製キット
- V(D)J可変領域の完全長シーケンスやCDR3配列のみのシーケンスが可能
- 分子バーコード(UMI)により、PCRエラー、duplicate、シーケンスエラーに由来するリードの補正

製品名	構成	容量	製品コード
SMART-Seq [®] Human TCR (with UMIs)	<ul style="list-style-type: none"> cDNA合成試薬 ライブラリー調製 	24回	634780
		96回	634781
		96回×4	634779

- ※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。
- ※ シーケンスを行う際には、サンプルにControl DNA (PhiX)を加えて解析してください。

ヒトBCR H鎖/L鎖 V(D)J可変領域の完全長シーケンスが可能

SMART-Seq[®] Human BCR (with UMIs)

サンプル量	アプリケーション	NGS解析プラットフォーム	対象生物種	逆転写プライマー
<ul style="list-style-type: none"> PBMC由来total RNA: 10 ng~1 μg B細胞由来total RNA: 1~100 ng 	BCRレパトア解析	Illumina	ヒト	BCR用 dTプライマー

特長

- ヒトB細胞受容体(BCR)レパトア解析用ライブラリー調製キット
- 同一サンプルから全てのアイソタイプ(IgG、IgM、IgA、IgD、IgE、IgK、IgL)を高感度に検出★
- 分子バーコード(UMI)により、PCRエラー、duplicate、シーケンスエラーに由来するリードの補正

製品名	構成	容量	製品コード
SMART-Seq [®] Human BCR (with UMIs)	<ul style="list-style-type: none"> cDNA合成試薬 ライブラリー調製 	24回	634777
		96回	634778
		96回×4	634776

- ※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。
- ※ シーケンスを行う際には、サンプルにControl DNA (PhiX)を加えて解析してください。

★ リニューアルポイント ★

- 本製品は、従来品SMARTer[®] Human BCR IgG IgM H/K/L Profiling Kitから以下の点をリニューアルしています。
- 従来品では検出できなかったIgAとIgDの検出が可能になり、完全なBCRプロファイリングが可能
 - アイソタイプごとに分かれていたPCRプライマーを集約し、PCRフローを簡略化

マウスTCR α 鎖/ β 鎖 V(D)J可変領域の完全長シーケンスが可能SMART-Seq[®] Mouse TCR (with UMIs)

サンプル量		アプリケーション	NGS解析プラットフォーム	対象生物種	逆転写プライマー
total RNA	T細胞				
<ul style="list-style-type: none"> ・脾臓、T細胞由来: 1 ng~1 μg ・全血、骨髄、胸腺由来: 10 ng~1 μg 	100~10,000細胞	TCRレパトア解析	Illumina	マウス	TCR用 dTプライマー

- 特長**
- ・ マウスT細胞受容体 (TCR) のレパトア解析用ライブラリー調製キット
 - ・ V(D)J可変領域の完全長シーケンスやCDR3配列のみのシーケンスが可能
 - ・ 分子バーコード (UMI) により、PCRエラー、duplicate、シーケンスエラーに由来するリードの補正★

製品名	構成	容量	製品コード
SMART-Seq [®] Mouse TCR (with UMIs)	<ul style="list-style-type: none"> ・ cDNA合成試薬 ・ ライブラリー調製 	24回	634815
		96回	634816
		96回 × 4	634814

- ※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。
- ※ シーケンスを行う際には、サンプルにControl DNA (PhiX)を加えて解析してください。

★ リニューアルポイント ★

- 本製品は、従来品SMARTer[®] Mouse TCR a/b Profiling Kitから以下の点をリニューアルしています。
- ・ UMI搭載により、さらに正確な解析が可能

マウスBCR H鎖/L鎖 V(D)J可変領域の完全長シーケンスが可能

SMART-Seq[®] Mouse BCR (with UMIs)

サンプル量		アプリケーション	NGS解析プラットフォーム	対象生物種	逆転写プライマー
<ul style="list-style-type: none"> ・脾臓、骨髄、PBMC、リンパ節由来total RNA: 10 ng~1 μg ・全血由来total RNA: 100 ng以上 					

- 特長**
- ・ マウスB細胞受容体 (BCR) レパトア解析用ライブラリー調製キット
 - ・ 同一サンプルから全てのアイソタイプ (IgG、IgM、IgA、IgD、IgE、IgK、IgL) を高感度に検出★
 - ・ 分子バーコード (UMI) により、PCRエラー、duplicate、シーケンスエラーに由来するリードの補正

製品名	構成	容量	製品コード
SMART-Seq [®] Mouse BCR (with UMIs)	<ul style="list-style-type: none"> ・ cDNA合成試薬 ・ ライブラリー調製 	24回	634352
		96回	634353
		96回 × 4	634351

- ※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。
- ※ シーケンスを行う際には、サンプルにControl DNA (PhiX)を加えて解析してください。

★ リニューアルポイント ★

- 本製品は、従来品SMARTer[®] Mouse BCR IgG H/K/L Profiling Kitから以下の点をリニューアルしています。
1. 従来品では検出できなかったIgA、IgD、IgE、IgMの検出が可能になり、完全なBCRプロファイリングが可能
 2. アイソタイプごとに分かれていたPCRプライマーを集約し、PCRフローを簡略化
 3. UMI搭載により、さらに正確な解析が可能

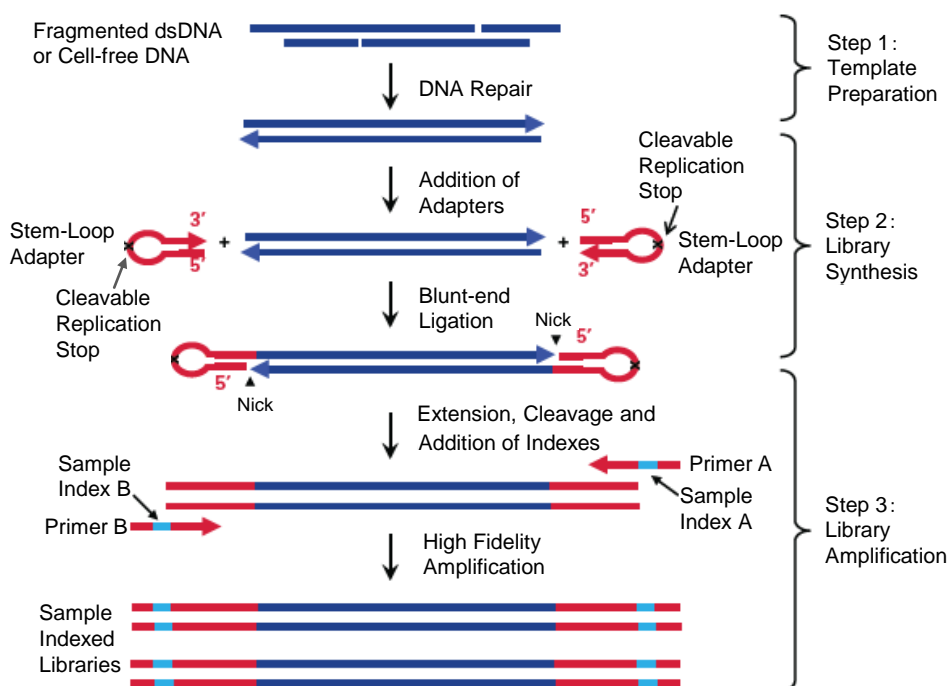
■ 微量サンプルからのDNA-Seq用、ChIP-Seq用のライブラリー調製キット

製品名	特長	解析アプリケーション ／解析キーワード	DNA量	掲載ページ
ThruPLEX® DNA-Seq Kit ※	断片化微量DNAからでも確実にライブラリーを調製。 ハンズオンタイムは15分、 1チューブ・3ステップの簡単操作	・ChIP-Seq解析 ・ゲノムシーケンス ・ターゲットシーケンス ・エキソームシーケンス ・メタゲノム解析	50 pg~50 ng	p. 19
ThruPLEX® DNA-Seq HV	Input液量が30 µlまでOKのHigh Volumeタイプ。濃縮不要でチャレンジサンプルに最適	・ゲノムシーケンス ・ターゲットシーケンス ・エキソームシーケンス ・メタゲノム解析	5~200 ng	p. 21
ThruPLEX® DNA-Seq HV PLUS Kit	ThruPLEX® DNA-Seq HVと断片化酵素がセットになったキット			
ThruPLEX® Tag-Seq HV	分子バーコード(UMI)により低頻度変異解析に有用			
ThruPLEX® Tag-Seq HV PLUS Kit	ThruPLEX® Tag-Seq HVと断片化酵素がセットになったキット			

※ Index Kit (Indexプライマー) は含まれていませんので、別途ご購入ください。

ThruPLEXテクノロジーとは...

- ・断片化微量DNAからでも確実なライブラリー調製を可能にする技術
- ・アダプター同士の結合を防ぐ独自のステムループアダプターを使用することで、バックグラウンドを低減
- ・シンプルなワークフローで操作時間が短く、手技によるバラツキも抑制



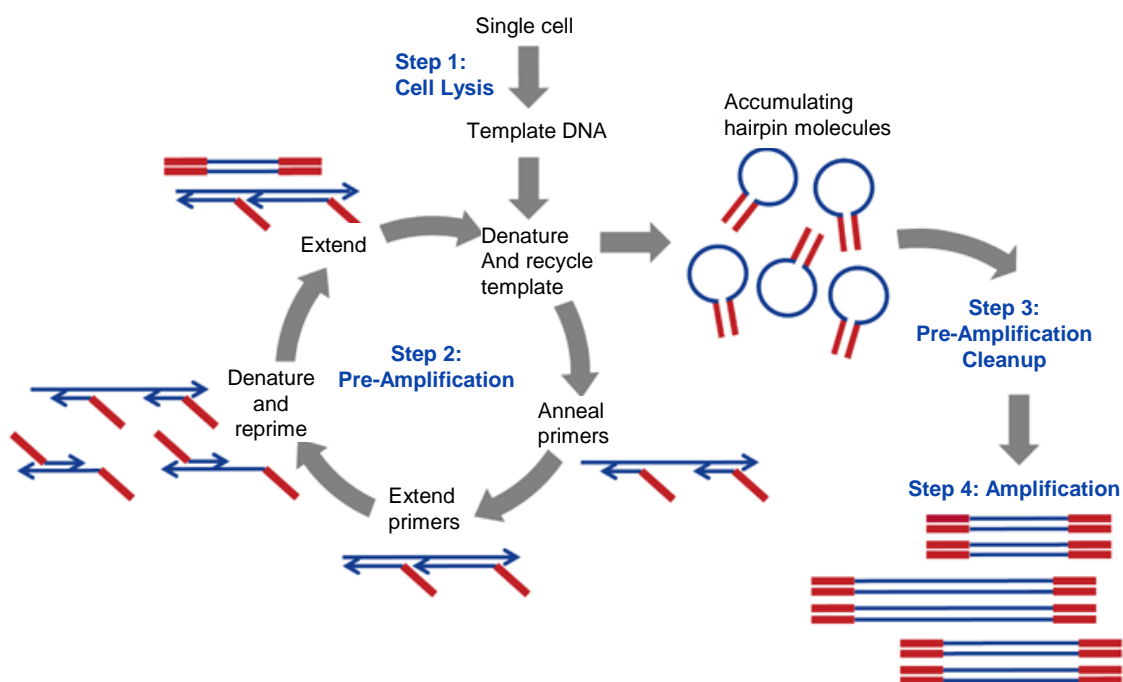
■ シングルセルからの全ゲノム増幅(WGA)、ライブラリー調製キット

製品名	特長	解析アプリケーション ／解析キーワード	サンプル量		掲載ページ
			ゲノムDNA	細胞	
PicoPLEX® Gold Single Cell DNA-Seq Kit ※	シングルセルやpgオーダーのゲノムDNAから全ゲノム増幅し、ライブラリーを調製。MDA法よりも均一な全ゲノム増幅が可能	<ul style="list-style-type: none"> ・ SNV ・ CNV ・ 染色体異数性 	15~30 pg	1~5	p. 23

※ Index Kit (Indexプライマー)は含まれていませんので、別途ご購入ください。

PicoPLEX テクノロジーとは…

- ・ シングルセルやpgオーダーの微量DNAからでも**確実なライブラリー調製**を可能にする技術
- ・ 改良型ランダムプライマーとリニア増幅から成り、**MDA法に比べ均一で再現性の高い全ゲノム増幅**が可能
- ・ シンプルなワークフローで操作時間が短く、手技によるバラツキも抑制



pgの断片化微量DNAに対応。ChIP-Seqに最適 ThruPLEX® DNA-Seq Kit

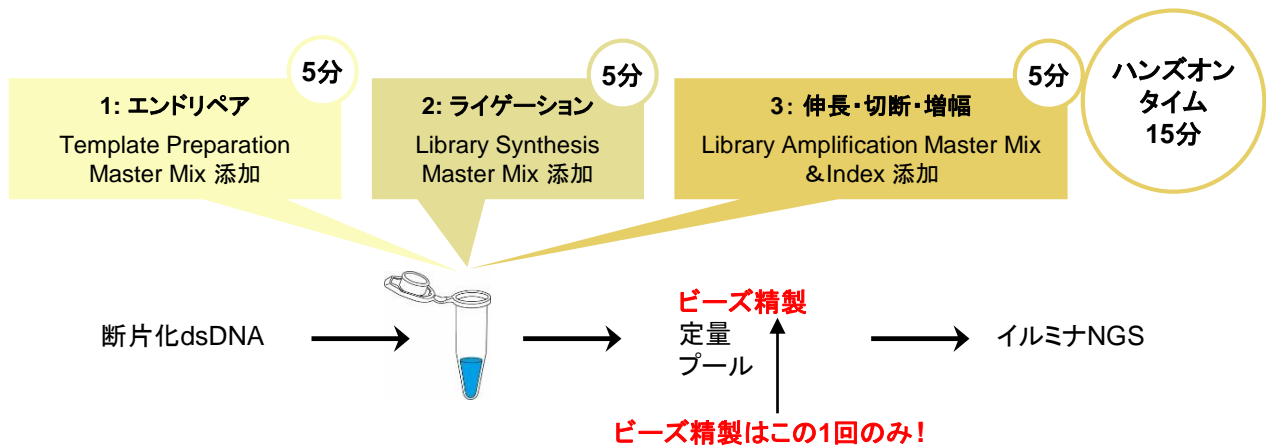
解析アプリケーション ／解析キーワード	解析可能なサンプル	スタートDNA量
・ChIP-Seq解析 ・ゲノムシーケンス ・ターゲットシーケンス ・エクソームシーケンス ・メタゲノム解析	ChIP DNA Cell-free DNA FFPE DNA ゲノムDNA	50 pg ~50 ng

注) 本キットには断片化DNAをお使いください。

特長

- ・ **わずか50 pgのDNA**からでも確実にライブラリー調製が可能
- ・ 面倒なビーズ精製は1回のみ、ハンズオンタイムはたったの15分
- ・ 1チューブ、3ステップで反応完了の超簡単操作

■ シンプルなプロトコール：操作ストレスとサンプルロスを減らし、手技によるバラツキを抑えます



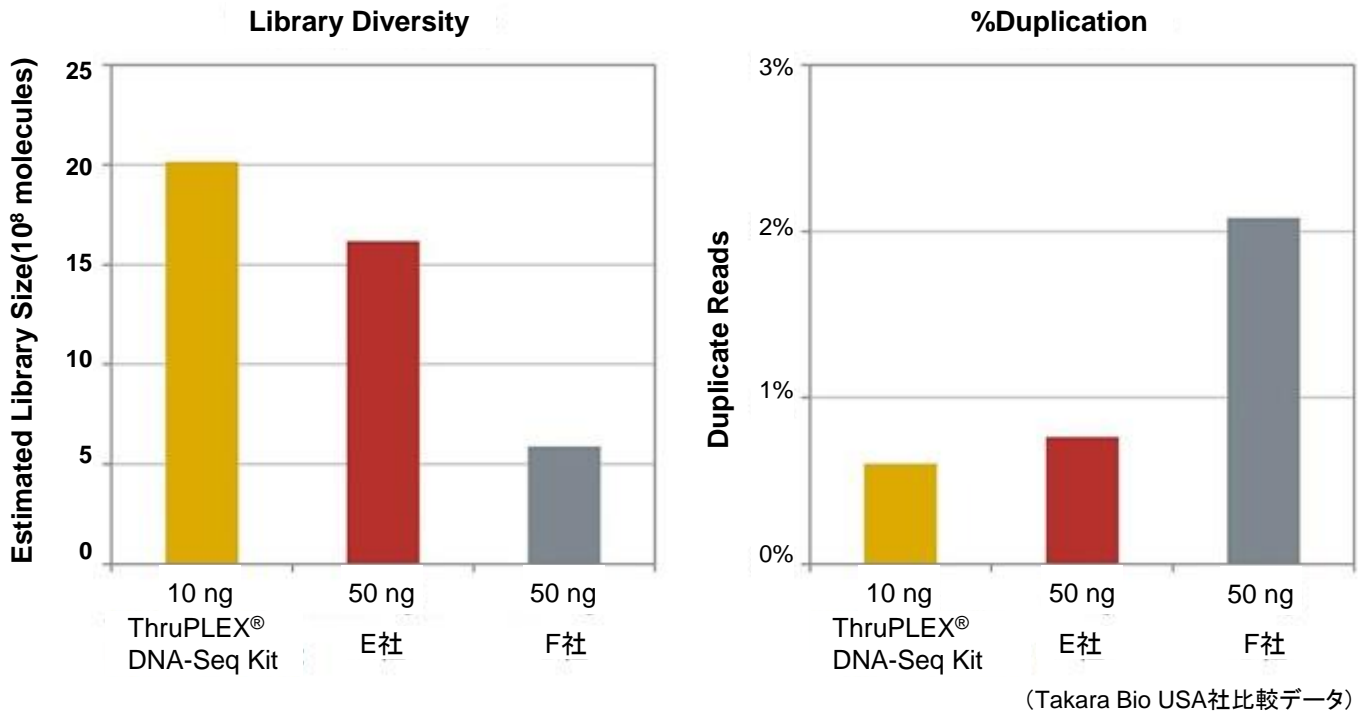
■ 他社同タイプキットとのフロー比較：圧倒的に短いハンズオンタイムとステップ数で、初めての方にもおすすめ

	ThruPLEX® DNA-Seq		A社製品		B社製品		C社製品	
	ハンズオン	時間	ハンズオン	時間	ハンズオン	時間	ハンズオン	時間
エンドリペア	5分	50分	10分	40分	10分	70分	10分	70分
タグメンテーション	X		X		X		X	
クリーンアップ	X		25分	55分	X		X	
アデニル化	X		5分	50分	X		X	
アダプターライゲーション	5分	45分	10分	20分	10分	40分	15分	30分
クリーンアップ	X		30分	70分	25分	50分	20分	45分
PCR増幅	5分	22分	5分	22分	5分	22分	5分	17分
	15分	117分	85分	257分	50分	182分	50分	162分
	3ステップ		6ステップ		4ステップ		4ステップ	

製品名	容量	製品コード
ThruPLEX® DNA-Seq Kit	24回	R400674
	48回	R400675
	96回	R400676
	480回	R400677

※ 上記製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit (製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。

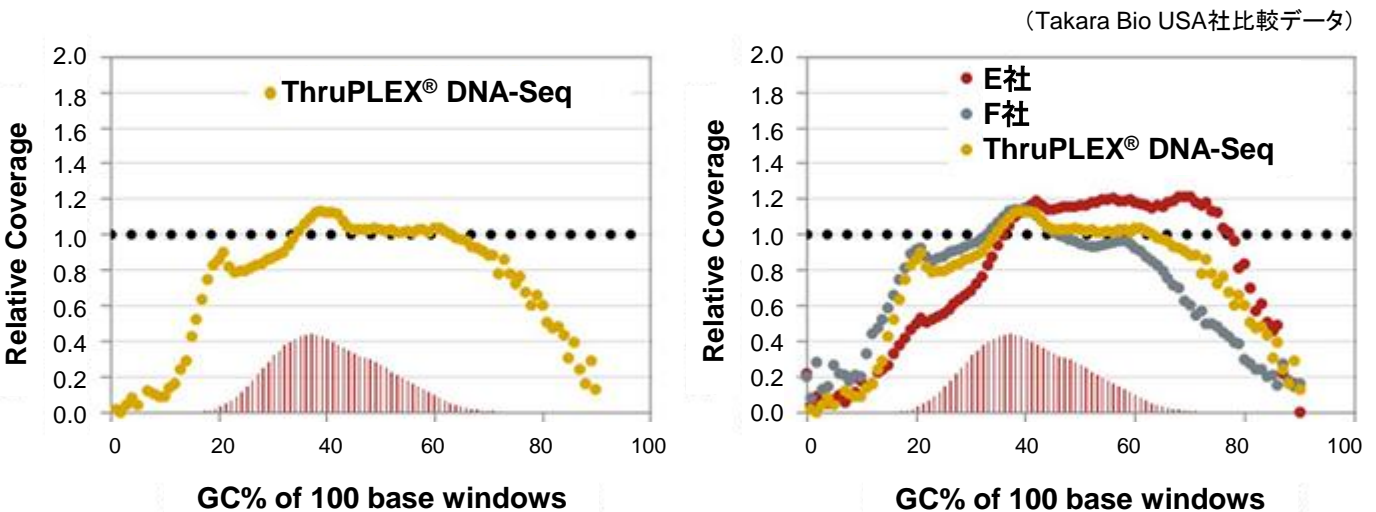
■ ライブラリーの多様性とduplicateの割合



各社ライブラリー調製キットを用いてライブラリーを調製し、MiSeq v3 Reagent Kitを用いてライブラリーの多様性とduplicateの割合を比較した。

ThruPLEX® DNA-Seq Kitは少ないinput量からライブラリーが調製でき、多様性が高く(左図)、duplicateの割合も低かった(右図)。

■ GCカバー率の比較



各社ライブラリー調製キットを用いてヒトゲノムDNA 50 ngよりライブラリーを調製し、GCカバー率を調べた。

ThruPLEX® DNA-Seq Kit(左図)は広い範囲で優れたGCカバー率を示した(右図)。赤の縦線はヒトゲノムDNAのGC含量分布を示している。

FFPE由来DNA、cfDNA解析に最適な High Volumeタイプ ThruPLEX® DNA-Seq HV

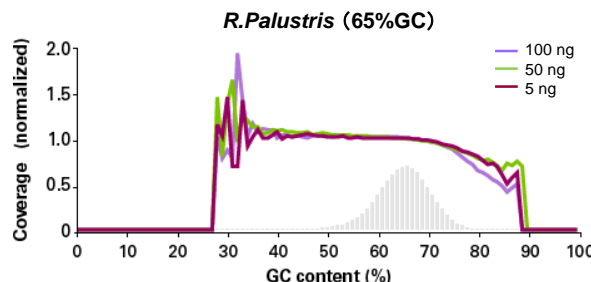
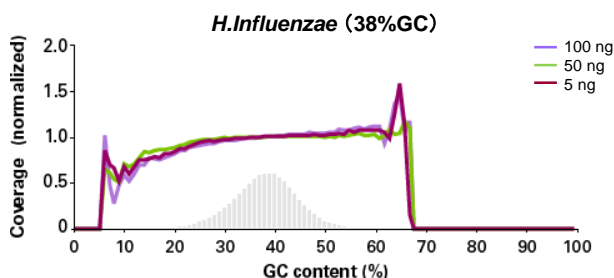
Input液量	おすすめサンプル	スタートDNA量	分子バーコード (UMI)
~30 µl	<ul style="list-style-type: none"> FFPE DNA Cell-free DNA ゲノムDNA 	5 ~ 200 ng	なし

注) 本キットには断片化DNAをお使いください。

特長

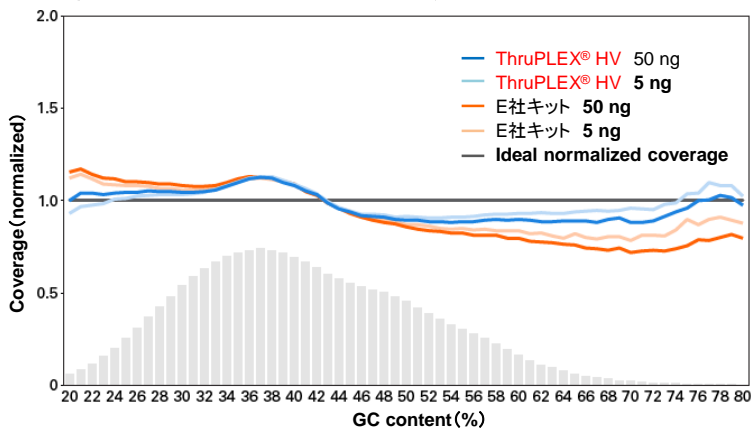
- Input液量が30 µlまでOKで、濃縮操作を回避。FFPE由来DNA、cfDNAに最適
- インプット量やGC含量によらず再現性が高く、均一なカバレッジ

GC含量の異なるサンプルのカバレッジ比較



H. Influenzae (インフルエンザ)、*R. Palustris* (ロドプソドモナス) の各DNAから100、50、5 ngを用いて、ThruPLEX® DNA-Seq HVでライブラリーを調製した。イルミナ社次世代シーケンサー (2 x 75 bp) で解析後、正規化されたカバレッジの解析を行った。GC含量の異なるサンプルにおいても均一なGCカバレッジを示した。

他社キットとのGCカバレッジ比較



HCT116、RKO および SW48 細胞プールの gDNA (Horizon Discovery社) から5 ngまたは50 ngを用いて、ThruPLEX® DNA-Seq HV (ThruPLEX® HV) または E社キットでライブラリーを調製した。イルミナ社次世代シーケンサー (2 x 75 bp) で解析後、800万リードにダウンサンプリングしてGCカバレッジの解析を行った。灰色のバーはGC含量分布を示している。本キットは、E社キットより均一なカバレッジを示した。

(Takara Bio USA社比較データ)

製品名	容量	製品コード
ThruPLEX® DNA-Seq HV	24回	R400741
	96回	R400740

コンポーネントの単品売りもご用意

製品名	構成品	容量	製品コード
ThruPLEX® DNA-Seq HV Core Components	ライブラリー調製試薬	24回	R400737
		96回	R400736
ThruPLEX® HV UDI 1-24	インデックス	24回	R400739
ThruPLEX® HV UDI SetA		96回	R400738

DNA断片化酵素付きはこちら

ThruPLEX® DNA-Seq HV PLUS Kit	• ThruPLEX® DNA-Seq HV • 断片化酵素	24回	R400782
		96回	R400783

注) インデックスキットは専用の上記キットをご使用ください。他のインデックスキットは使用できません。

UMIが低頻度変異解析の精度を上げます ThruPLEX® Tag-Seq HV

Input液量	おすすめサンプル	スタートDNA量	分子バーコード (UMI)
~ 30 µl	<ul style="list-style-type: none"> FFPE DNA Cell-free DNA ゲノムDNA 	5 ~ 200 ng	あり (144種類)

注) 本キットには断片化DNAをお使いください。

特
長

- 分子バーコード(UMI)入りで、高感度で信頼性の高い低頻度変異の検出可能
- Input液量が30 µlまでOKで、濃縮操作を回避。FFPE由来DNA、cfDNAに最適
- インプット量やGC含量によらず再現性が高く、均一なカバレッジ

正確な低頻度変異の検出

Input	Total reads	% reads mapped to hg19	% reads on or near baits	% PCR duplicate	Average target coverage before deduplication	Average target coverage after deduplication by coordinates	Average target coverage after UMI collapse
0%	30M	99%	79%	71%	2,935	594	506
1%	30M	99%	79%	67%	2,879	694	578
5%	30M	99%	79%	67%	2,899	683	583

Gene	Amino acid change	Expected allele frequency 0%		Expected allele frequency 1%		Expected allele frequency 5%	
EGFR	G719S	0.0%	0.0%	1.4%	1.5%	6.2%	5.9%
EGFR	L858R	0.0%	0.0%	1.0%	1.6%	5.5%	6.1%
EGFR	L861Q	0.0%	0.0%	0.7%	1.6%	2.2%	2.2%
KRAS	G12D	0.0%	0.0%	1.3%	0.5%	4.1%	3.7%
NRAS	Q61K	0.0%	0.0%	2.9%	1.9%	6.3%	4.8%
PIK3CA	E545K	0.0%	0.0%	0.4%	1.0%	4.2%	6.3%

10 ngのcfDNA標準サンプル(アレル頻度0%、1%、5%)と本キットを用いてライブラリーを調製後、xGen Pan Cancer Panel (IDT社)でターゲット遺伝子を濃縮した。シーケンスは2 x 75 bpで行い、fgbio toolでUMIを解析した。各アレル頻度のサンプルのオンターゲット率はおおの79%であり、UMIによるターゲットのカバレッジは506~583の範囲であった。アレル頻度1%、5%のサンプルでは予想された頻度の変異が検出され、0%のサンプルでは変異は検出されず、cfDNA標準サンプルで検証済み置換バリエーションのみが検出された。

UMIを用いることで、低頻度の変異を正確に検出できることが示された。

製品名	容量	製品コード
ThruPLEX® Tag-Seq HV	24回	R400742
	96回	R400743

コンポーネントの単品売りもご用意

製品名	構成品	容量	製品コード
ThruPLEX® Tag-Seq HV Core Components	ライブラリー調製試薬	24回	R400734
		96回	R400735
ThruPLEX® HV UDI 1-24	インデックス	24回	R400739
ThruPLEX® HV UDI SetA		96回	R400738

DNA断片化酵素付きはこちら

ThruPLEX® Tag-Seq HV PLUS Kit	<ul style="list-style-type: none"> ThruPLEX® Tag-Seq HV 断片化酵素 	24回	R400784
		96回	R400785

注) インデックスキットは専用の上記キットをご使用ください。他のインデックスキットは使用できません。

シングルセルから均一に全ゲノムを増幅

PicoPLEX® Gold
Single Cell DNA-Seq Kit

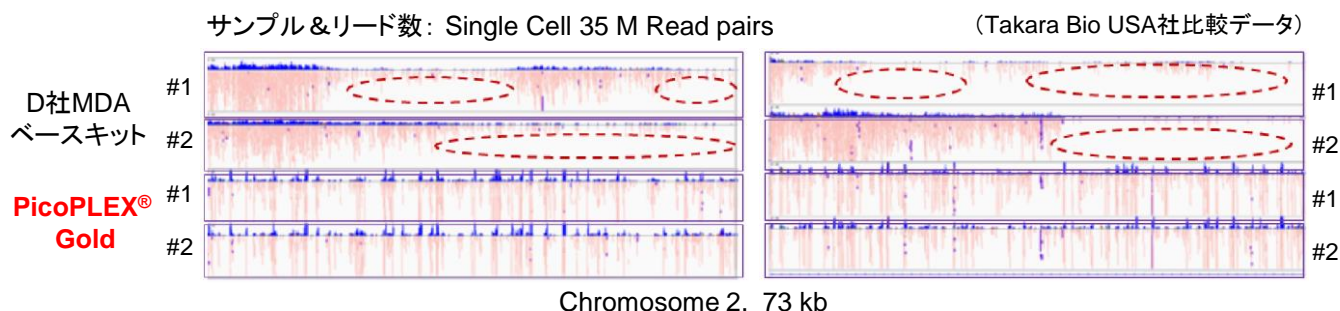
解析アプリケーション ／解析キーワード	解析可能なサンプル	スタートDNA量	
		ゲノムDNA	細胞
・SNV ・CNV ・染色体異常性	真核細胞 ゲノムDNA	15～30 pg	1～5細胞

- 特長**
- ・ PicoPLEX技術によりMDA法より均一に全ゲノムを増幅するため、正確なSNV(一塩基変異)検出が可能
 - ・ シングルセルや15 pg DNAから全ゲノム増幅&ライブラリー調製が可能
 - ・ 固定した細胞も使用可能。断片化操作必要なし

MDA法よりも均一に全ゲノムを増幅。漏れのない、真のSNV検出をお届けします!

MDA (multiple displacement amplification) 法に比べ、バイアスの少ない全ゲノム増幅が可能ですので、より正確で再現性の高いSNV (single nucleotide variant) 検出ができます。特に、がんゲノムを研究されている方におすすめです。

■ D社MDAベースキットと本キット(PicoPLEX® Gold)の均一性の比較



D社MDAベースキットでは読めていない領域(赤点線部分)があるが、PicoPLEX® Goldでは均一にリードが得られた。

製品名	容量	製品コード
PicoPLEX® Gold Single Cell DNA-Seq Kit ※	24回	R300669
	96回	R300670
	384回	R300698

WGAだけならこちら

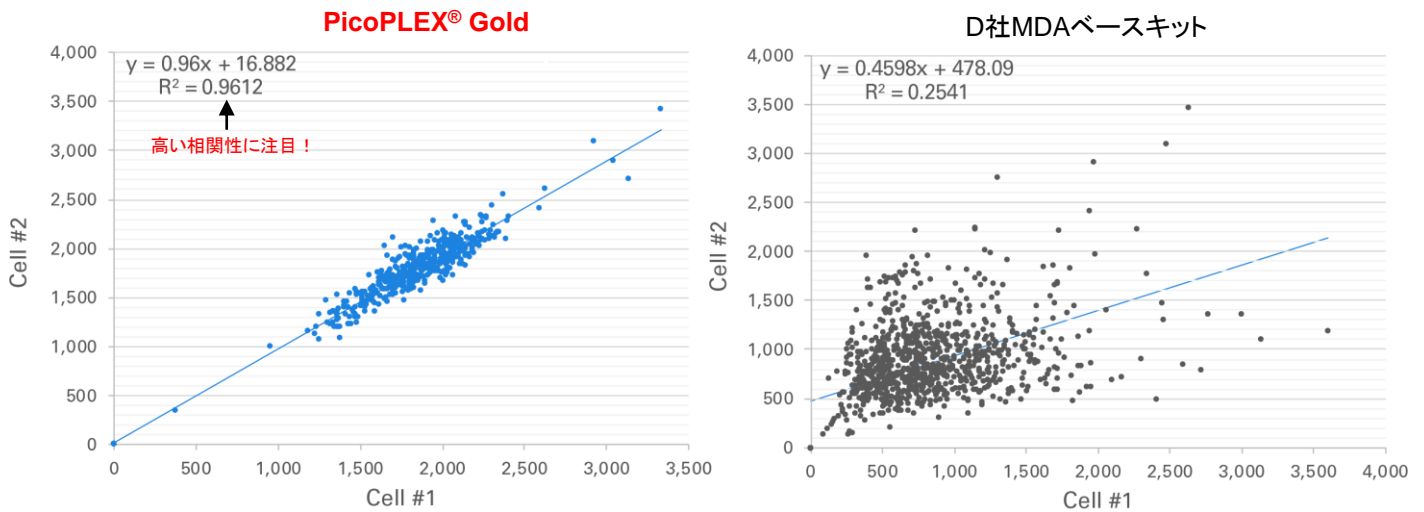
PicoPLEX® Single Cell WGA Kit v3	24回	R300718
	96回	R300722
	480回	R300723

※ 本製品にはIndexが含まれていません。Unique Dual Index Kit(製品コード 634756 ほか)を別途ご購入ください。

■ D社MDAベースキットと本キット(PicoPLEX® Gold)の比較

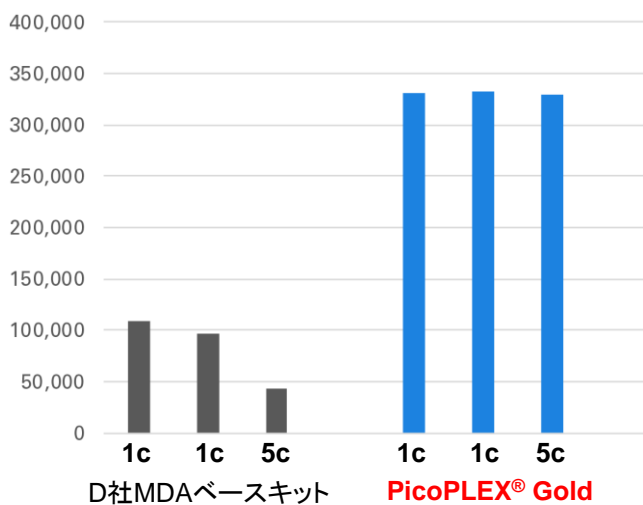
(Takara Bio USA社比較データ)

【A】100 kb binのtotal read数におけるカバレッジ再現性の比較

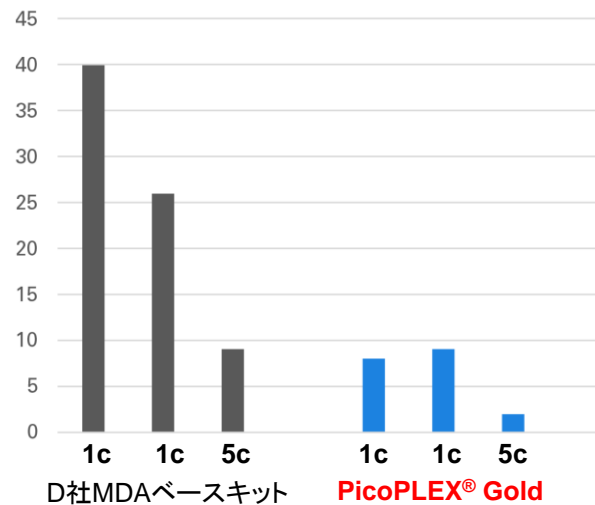


【A】2種類のシングルセルライブラリーからの各ウィンドウ(100 kb bin)のtotal read数の再現性は、D社MDAベースキット(右)や他社の技術(データ未表示)と比較してPicoPLEX® Goldは非常に高い結果となった。

【B】SNV検出数の比較



【C】Allele Drop-out率の比較



【B】1細胞(1c)、5細胞(5c)を用いてD社MDAベースキットとPicoPLEX® GoldのSNV検出数の比較を行った。1細胞および5細胞は~35 M read pairでシーケンスを行ったところ、PicoPLEX® Gold(青)は、D社MDAベースキット(グレー)と比べてより多くのSNVを検出した(2~9倍)。

【C】PicoPLEX® Goldは、D社MDAベースキットより低いAllele Drop-out(偽陰性)率を示し、MDA法より偏りなく増幅できることが分かった。

MDA法に比べ、PicoPLEX® Goldは再現性と正確性の高いSNV検出が可能なが示されました。
 MDAベースキットをお使いの方で、より漏れのない確実なSNV検出をしたい方はぜひその違いをご体感ください!

菌数の絶対定量が可能に！細菌叢解析用16S rRNA人工核酸標準物質

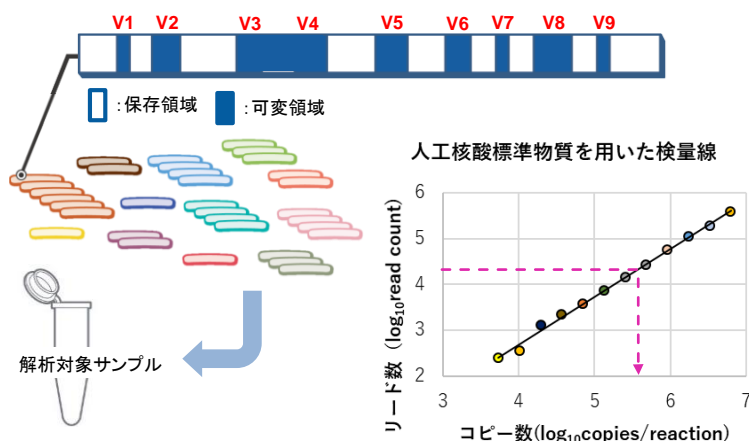
16S DNA Quantitative Standard for Microbiome

■ 人工核酸標準物質の特長

- ✓ 12種類の配列既知の核酸が異なる存在比率で混合
- ✓ 可変領域(V1~V9)は自然界に存在しない人工配列
- ✓ V1-V2、V3-V4等、どの可変領域についても定量解析可能
- ✓ 解析サンプルの菌叢解析結果に影響を与えない
- ✓ 多様な生体/環境サンプルにスパイクイン可能

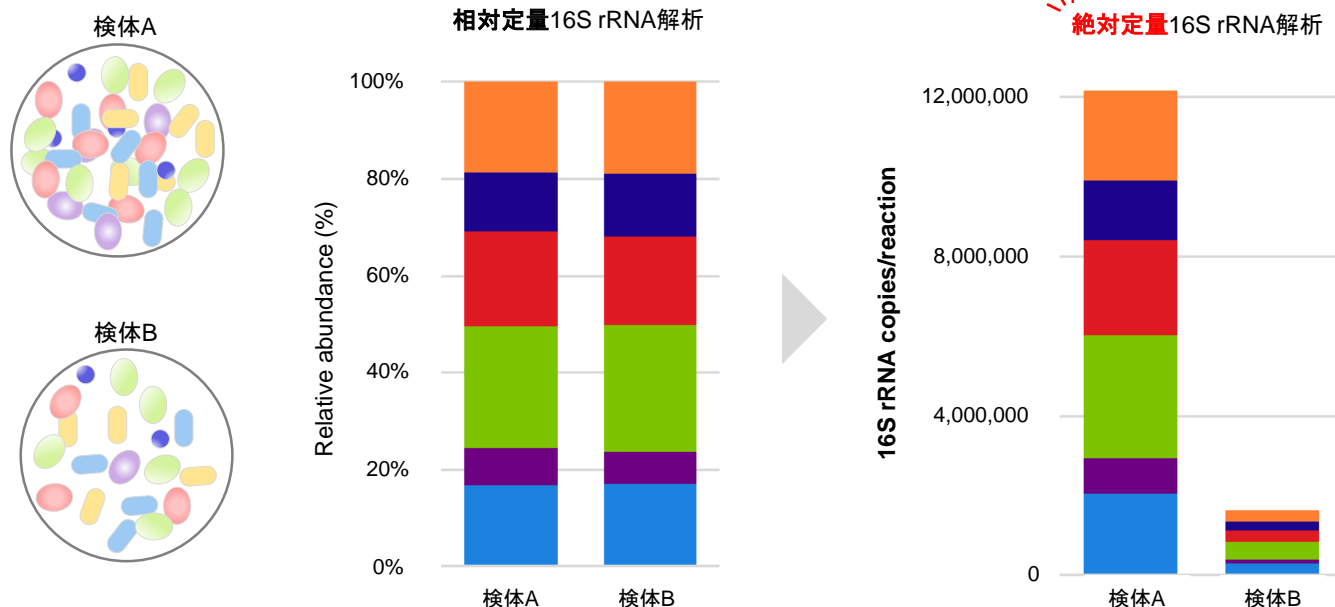
標準物質の組成^[1]

Identifier	GenBank accession number	16S rDNA (copies/μl)	16S rDNA copies(%)
Std_01	LC140931	6.31×10^7	47.39
Std_02	LC140932	3.32×10^7	24.93
Std_03	LC140933	1.75×10^7	13.14
Std_04	LC140934	9.20×10^6	6.91
Std_05	LC140935	4.84×10^6	3.63
Std_06	LC140936	2.55×10^6	1.91
Std_07	LC140937	1.34×10^6	1.01
Std_08	LC140938	7.06×10^5	0.53
Std_09	LC140939	3.72×10^5	0.28
Std_10	LC140940	1.96×10^5	0.15
Std_11	LC140941	1.03×10^5	0.08
Std_12	LC140942	5.42×10^4	0.04



[1] 本製品は国立研究開発法人産業技術総合研究所の研究成果を活用して開発しました。Nucleic Acids Res. 2017 Feb 28; 45(4): e23.

■ 従来の相対定量16S rRNA菌叢解析と絶対定量16S rRNA菌叢解析の違い



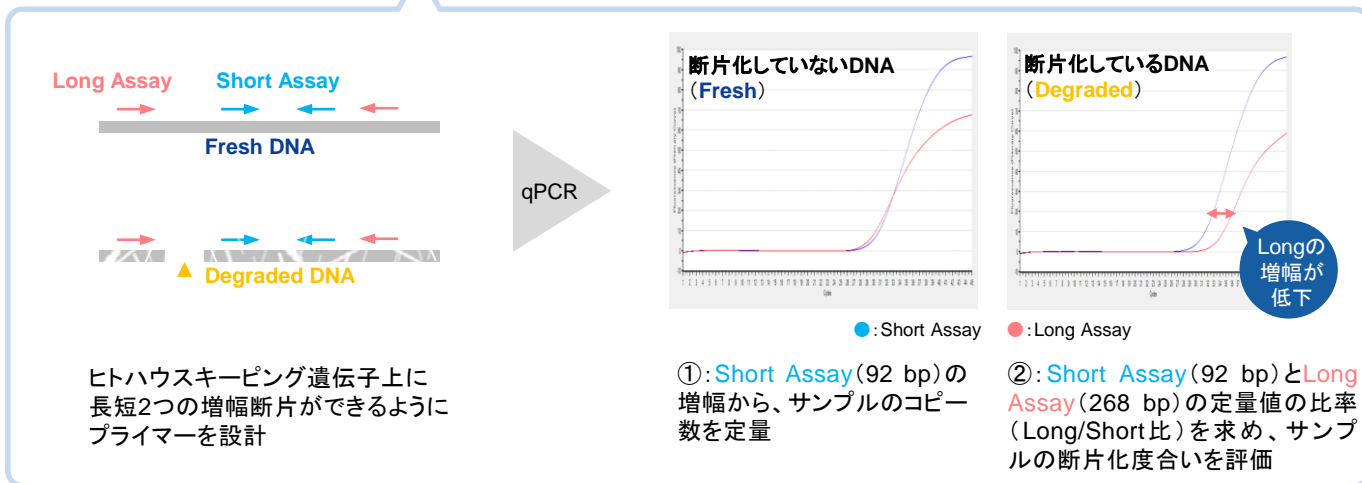
従来の16S rRNAシーケンスは相対的な存在比しか算出できないが、本製品をスパイクインすることで、サンプル中の菌のコピー数を絶対定量することが可能となる。菌叢全体に占める割合が等しくてもコピー数が異なる場合があり、コピー数を定量することで菌の多い/少ないがわかる。

製品名	容量	製品コード
16S DNA Quantitative Standard for Microbiome	200回	NN0002

ライブラリー調製の成功率UP! FFPE由来DNAの定量と断片化をqPCR法により評価

Takara FFPE DNA QC All-in-One Kit

■ 製品概要・原理

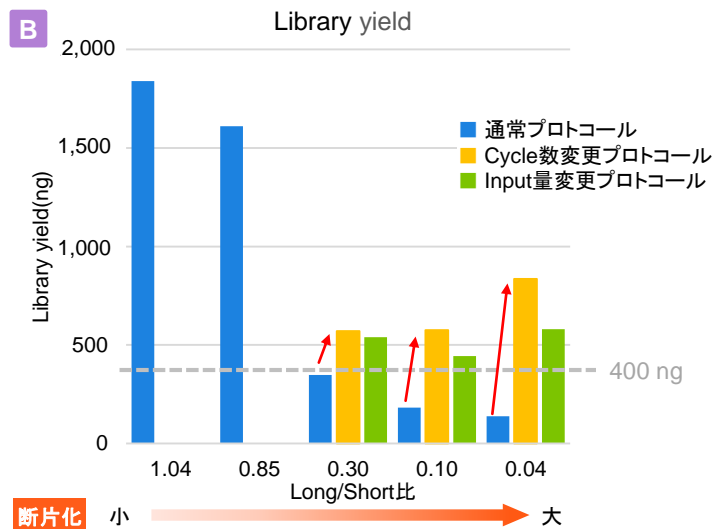


■ 本製品で得られたデータをもとに増幅条件を変更しライブラリー収量を改善

A ThruPLEX® Tag-Seq HV通常プロトコル
Input量: 10 ng、PCR cycle数: 9-10 cycles

Cycle数変更プロトコル		
Long / Short比	input DNA	Recommended number of cycles
1.00	10 ng	9-10
0.30	10 ng	10-11
0.10	10 ng	11-12
0.05	10 ng	12-14
<0.02	10 ng	15-16

Input量変更プロトコル		
Long / Short比	Recommended input amount	Number of cycles
1.00	10 ng	10
0.50	15 - 30 ng	10
0.10	40 - 60 ng	10
0.05	80 - 100 ng	10
<0.02	> 140 ng	10



本製品により得られたLong/Short比をもとに、ThruPLEX® Tag-Seq HV (ライブラリー調製キット: 製品コード R400742) の通常プロトコル (Input量 10 ng、PCR Cycle 9-10 cycles) からInput量またはCycle数の条件変更プロトコルを示した (パネルA)。Long/Short比の異なる3種類のFFPE由来DNA (0.30, 0.10, 0.04) を用いて、Input量またはCycle数の条件を変更してライブラリーを調製したところ、シーケンスに十分な量のライブラリーを得られることを確認した (パネルB)。

製品名	容量	製品コード
Takara FFPE DNA QC All-in-One Kit	100回	NN0001

■ Indexプライマー

【 RNA-Seq / DNA-Seq兼用 】

ユニークデュアルインデックス (“IDT for Illumina TruSeq DNA and RNA UD” ユニークデュアルインデックス配列)

・634752~634755は異なるIndexで構成されており、最大384サンプルのマルチプレックスが可能です。634756と634752は一部配列が同じです。

製品名	Index種類	容量	製品コード
Unique Dual Index Kit (1-24)	24	24回	634756
Unique Dual Index Kit (1-96)	96	96回	634752
Unique Dual Index Kit (97-192)	96	96回	634753
Unique Dual Index Kit (193-288)	96	96回	634754
Unique Dual Index Kit (289-384)	96	96回	634755

【 DNA-Seq用 】

シングルインデックス (イルミナ社 TruSeq DNA シングルインデックス配列)

・A、Bは異なるIndexで構成されており、同時に使用すると最大24種類のIndexに対応します。

製品名	Index種類	容量	製品コード
DNA Single Index Kit - 12S Set A	12	96回	R400695
DNA Single Index Kit - 12S Set B	12	96回	R400697

ユニークデュアルインデックス (“IDT for Illumina UD” ユニークデュアルインデックス配列)

・A、B、C、Dは異なるIndexで構成されており、同時に使用すると最大96種類のIndexに対応します。

製品名	Index種類	容量	製品コード
DNA Unique Dual Index Kit - 24U Set A	24	48回	R400665
DNA Unique Dual Index Kit - 24U Set B	24	48回	R400666
DNA Unique Dual Index Kit - 24U Set C	24	48回	R400667
DNA Unique Dual Index Kit - 24U Set D	24	48回	R400668



Index豆知識

・シングルインデックスとデュアルインデックスの違い

ライブラリー中に1つのIndex配列を持つものをシングルインデックス、ライブラリー中に2つのIndex配列を持つものをデュアルインデックスといいます。デュアルインデックスは、2つのIndexの組み合わせでバリエーションを出しますので、シングルインデックスに比べ効率よく多サンプル解析を行うことができます。

・インデックスホッピングとユニークデュアルインデックス

複数サンプルの同時解析を行う場合で、ライブラリー間でIndexの組み換えが起こり、Demultiplexing後のライブラリーに別のライブラリー由来のリードが含まれてしまう現象をインデックスホッピングといいます。特に、HiSeq X/HiSeq 3000/HiSeq 4000/NovaSeq 6000などのPatterned Flow Cellを採用しているシステムにおいて高い頻度で発生するといわれています。他とは一切重複しない固有(ユニーク)な2つのインデックスから成る“ユニークデュアルインデックス”を使用することで、インデックスホッピングの影響を軽減できます。

- ・イルミナ社とは、Illumina, Inc.(本社:米国カリフォルニア州サンディエゴ)の日本法人であるイルミナ株式会社(本社:東京都港区)をいいます。
- ・本パンフレット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。
- ・本パンフレットに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

2024年11月作成G

タカラバイオ株式会社

営業部(東京) TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282

営業部(本社) 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 <https://www.takara-bio.co.jp>

公式X @Takara_Bio_JP / https://x.com/Takara_Bio_JP

取扱店