

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:** 断片化試薬入りの“完璧”なDNA-Seq用ライブラリー調製キット「ThruPLEX® HV PLUS Kit」は、他社同タイプキットと比べて、操作性、信頼性のいずれにおいても優れています。

**【キーワード】** 断片化酵素、DNA-Seq用ライブラリー調製キット、均一なライブラリーカバレッジ

## ThruPLEX® HV PLUS Kitと他社同タイプキットとの比較

(TB USA社取得データ)

### ThruPLEX® HV PLUS Kitの概要

ThruPLEX® DNA-Seq HV PLUS Kitは、断片化試薬「ThruPLEX® HV PLUS Enzymatic Fragmentation Module」とライブラリー調製関連試薬が含まれる“完璧”な製品です。最初のエンドリペアのステップと並行して、ThruPLEX® HV PLUS Enzymatic Fragmentation Moduleに含まれる酵素により、サンプルDNAのサイズ調整可能な断片化を行うため(図1)、機械的あるいは酵素による断片化を別反応で行っていた時間を省略することができます。ThruPLEX® Tag-Seq HV PLUS Kitは、ThruPLEX® DNA-Seq HV PLUS Kitと同様の優れたワークフローと利点を持ちながら、分子バーコード(UMI)を搭載した製品です。



図1. ThruPLEX® DNA-Seq HV PLUS Kitのシングルチューブでのライブラリー調製ワークフロー

### 他社同タイプキットとのワークフロー比較

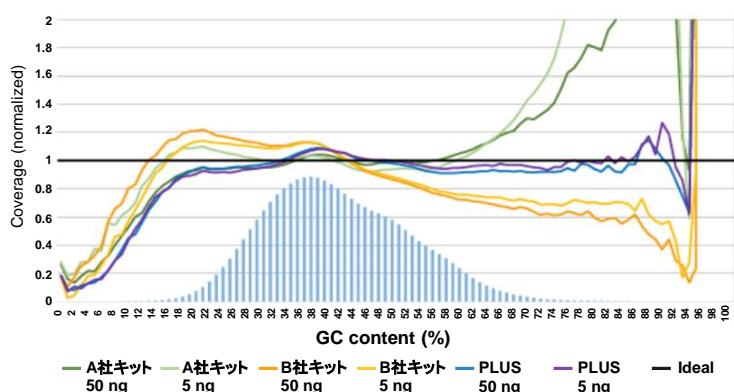
	ThruPLEX® HV PLUS	A社キット	B社キット
Hands-on time	15 min	20 min	20 min
Total time	2.4-2.6 hr	2.5-2.7 hr	3.1-3.2 hr
Single-tube workflow	Yes	No	No
Adapter dilution	No	Yes	Yes
Intermediate cleanup	No	Yes	Yes
Post-ligation size selection	No	No	Yes (>100ng)

Total timeは、5 ngおよび200 ngのサンプルからイルミナ社NGS装置用デュアルインデックスライブラリーの調製に必要な時間である。



ThruPLEX® DNA-Seq HV PLUS Kitは、アダプターの希釈、途中のクリーンアップ、ライゲーション後のサイズセレクションを必要としないため、操作性が非常に優れています。

## ■ 他社同タイプキットとの比較



5 ngおよび50 ngのNA12878 gDNAを使用し、ThruPLEX® DNA-Seq HV PLUS Kit、A社キット、B社キットそれぞれのプロトコールに従い3回に分けてライブラリーを調製した。NextSeq® 500/550 Mid Output Kit v2.5(150 Cycles)を用いてペアエンドシーケンスを行い、総リード数は500万リードにダウンサンプリングした。青色の棒グラフは、100 bp領域において予想されるGC含量分布を表している。

他社キットと比較して、ThruPLEX® DNA-Seq HV PLUS Kitで調製したライブラリーは理想的な正規化カバレッジにより近いカバレッジを示しており、均一性が高いことが示されました。

	Input	Total reads aligned	%reads aligned	%chimera	%duplicate
ThruPLEX DNA-Seq HV PLUS	5 ng	4.83E+06	96.69%	0.49%	0.75%
	50 ng	4.84E+06	96.73%	0.50%	0.80%
B社キット	5 ng	4.78E+06	95.86%	1.38%	0.89%
	50 ng	4.79E+06	96.16%	1.68%	1.06%
A社キット	5 ng	4.76E+06	95.55%	1.71%	1.24%
	50 ng	4.71E+06	94.80%	1.06%	1.47%

%reads alignedは、参照ゲノム配列にアラインメントされたリードの割合を示す。%chimeraは、ゲノムの二つの異なる部位にアラインメントされたリードの割合を示す。%duplicateは、PCRによるライブラリー調製の際に生じる、1つのDNAフラグメントを由来とするリードの割合を示す。

A社およびB社キットと比較した結果、ThruPLEX® DNA-Seq HV PLUS Kitは少量(5 ng)から比較的多め(50 ng)のDNAでも安定的な結果が得られ、より高いマッピング率(%reads aligned)、低いキメラ率(%chimera)および複製率(%duplicate)を示しました。

## ■ まとめ

ThruPLEX® HV PLUS Kitは、シングルチューブプロトコールで、反応時間は約2.5時間、ハンズオンタイムはわずか15分という短時間でNGSライブラリーを調製することが可能です。A社およびB社キットとの直接比較実験において、GC含量に関わらずカバレッジの均一性が優れていることを示しました。

また、他社製品より高いマッピング率と低い重複率での解析ができ、間違った方向へのライゲーションや1個以上のインサートが含まれるキメラ分子の割合が1%以下であり、他社製品より信頼性の高い結果が得られました。

ThruPLEX® DNA-Seq HV PLUS Kitは、操作性・信頼性に優れた1チューブのワークフローを提供しており、難易度の高い全ゲノムシーケンス実験に適しています。

製品名	概要	容量	製品コード	価格(税別)
ThruPLEX® DNA-Seq HV PLUS Kit	操作が簡単で価格も安い	24回	R400782	¥110,000
		96回	R400783	¥390,000
ThruPLEX® Tag-Seq HV PLUS Kit	UMI入りなので、低頻度変異の検出はこれ	24回	R400784	¥156,000
		96回	R400785	¥546,000

・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2021年6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。

2021年6月作成G

# タカラバイオ株式会社

首都圏支店・東日本支店・西日本支店 TEL 03-3271-8553  
 関西支店・営業第2部 TEL 077-565-6969  
 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>

Facebook <https://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店