

TruSeq® PCRフリーDNAサンプル調製キット

バイアスのないデータと最高のカバレッジを提供する新たなスタンダード

特長

• より迅速なサンプル調製

PCRフリーのプロトコルにより、最も広く採用されているケミストリーを使った迅速なサンプル調製

• 卓越したカバレッジ

ライブラリーのバイアスおよびギャップが顕著に低減され、より広いゲノム領域をカバー

• かつてない柔軟性

2種類のリード長およびアプリケーションに対応できるように最適化

• 実験を効率化するインデックス

信頼性の高い96種類のインデックスにより最大限の実験効率を提供

図1：TruSeq PCRフリーDNAサンプル調製キット



TruSeq PCRフリーDNAキットはサンプルのライブラリー調製とインデックス化キットを含む効率的なソリューションです。低スループット研究向けのTruSeq DNA PCRフリー-LTキットは、(Set AとSet B合わせて)最大24種類のインデックスを用意しています。一方、高スループット研究向けのTruSeq DNA PCRフリー-HTキットは、96種類のデュアルインデックスを用意しています。

はじめに

TruSeq PCRフリーDNAサンプル調製キットは、業界で最も広く採用されているサンプル調製ワークフローを全面的に改良した製品であり、全ゲノムシーケンスアプリケーション向けに最適化された、包括的なサンプル調製キットです。PCR増幅のステップをなくした、PCRフリーのプロトコルは、PCRに起因する典型的なバイアスを大幅に低減し、実績あるTruSeqのワークフローをより効率化しました。その結果、従来解読が困難だったゲノム領域においても、優れた品質のデータおよび詳細なシーケンス情報が得られるようになりました。様々な研究デザインに対応するため2種類のキットを用意しており、24サンプル分試薬を含む低スループット研究向けのキットと、96サンプルに対応した高スループット向けのキットから選択できます (図1)。

サンプル調製を迅速化

PCRステップの削減と、サイズ選択をゲルからビーズに変更することにより、実績あるTruSeq DNAサンプル調製ワークフローがさらに効率化されました (図2)。本キットはかつてない柔軟性を実現しており、ロング (550bp) またはショート (350bp) の2種類のインサート作製用のプロトコルで様々なアプリケーションのサポートが可能です。また、MiSeq®やHiSeq® 2500システムのようにリード長が伸び続けているシステムにも対応可能です。マスターミックスに調製された試薬、キットに付属のサンプル精製用ビーズ、および最適化されたプロトコルによりライブラリー調製ワークフローが簡素化され、最小限のハンズオンタイムおよびわずかな洗浄ステップで多数のサンプルを処理することができます。TruSeq PCRフリーDNAサンプル調製キットは、ライブラリー調製に要する時間を短縮し、細菌ゲノムのシーケンスからヒト全ゲノムシーケンスまでアプリケーションをより強力なものにします¹。

革新的なサンプル調製ケミストリー

TruSeq PCRフリーDNAサンプル調製キットはシングル、ペアエンド、およびインデックスシーケンス用のDNAライブラリーを調製できます。本プロトコルはCovarisを用いた超音波による断片化を行い、平均インサートサイズが350bpの場合は1µgのDNAスタート量、平均インサートサイズが550bpの場合は2µgが必要になります。ライブラリーの調製は断片化したgDNAからスタートします (図2A)。フィルイン反応およびエキソヌクレアーゼ活性によりDNA断片の末端を平滑化し (図2B)、キットに付属のサンプル精製用ビーズによりサイズ選択を行います (図2C)。両方のDNA鎖の平滑末端にA塩基を付加した後、インデックスを含むアダプターとライゲーションさせます (図2D)。アダプターにはT塩基が1塩基余分に付加されており、Aが付加されたDNA断片とライゲーションします。これらのアダプターには、シングルリード、ペアエンドリードおよびインデックスリード用のシーケンスプライマーがハイブリダイズする相補的な配列全てが含まれています。PCR増幅反応なしで、シングルインデックスまたはデュアルインデックスアダプターがDNA断片に結合し、クラスター形成用のサンプルが調製されます (図2E)。

卓越したカバレッジ

TruSeq PCRフリーDNAサンプル調製キットは高品質なシーケンスデータを産出し、解読が困難なゲノム領域においても深い知見を得られます。PCRフリーのサンプル調製はライブラリーにおけるバイアスおよびギャップを低減し (図3)、卓越したデータ品質をもたらします。TruSeqのワークフローからPCR増幅をなくすことで、増幅バイアスが低減し、全ゲノムに対するカバレッジ均一性が向上します (図4)。

