

Twist 96-Plex Library Preparation Kit

Low-pass シーケンシングやプラスミド QC 用のハイスループットライブラリの調製

主な利点

ハイスループット

- 1キットあたり最大 960 サンプル
- チューブ1本で最大 96 サンプル

効率の最大化

- 高い費用対効果 (1 サンプルあたりわずか 10 ドル程度)
- 断片化、修復、A-tailing ステップが不要

様々な生物に対応可能

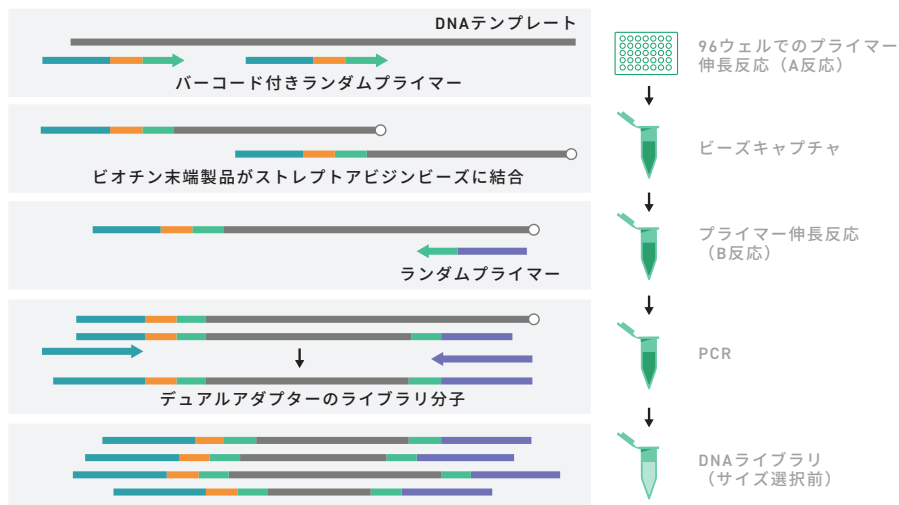
- 高/低 GC 含量サンプルの最適化が可能

ライブラリ調製は、多くのラボの NGS ワークフローにおいて、運用および費用の面で最も大きな課題となっています。規模の大きな NGS 検査を実施する場合、または広範なゲノムマッピングを実施する場合、効率的なシーケンシングツールが極めて重要となります。現在使用されているシーケンシングライブラリ調製法の多くは、ハイスループット環境に最適化されておらず、分析サンプルの処理におけるボトルネックになっています。

Twist 96-Plex Library Preparation kit は、一度に 96 サンプルを処理することができるハイスループット型の調整キットとして設計されています。ワークフローのほとんどのステップを1本のチューブで実施するため、効率的な試薬の使用と無駄のない処理が実現できます。各ランは、インプットするサンプルの GC プロファイルに合わせて調整でき、作物の low-pass シークエンシングや薬剤デザイン研究のプラスミド QC のどちらにも適したツールとなっています。最終ライブラリは、Illumina シーケンサーに適合し、デマルチプレックス用にバーコードが付いています。

ケミストリー

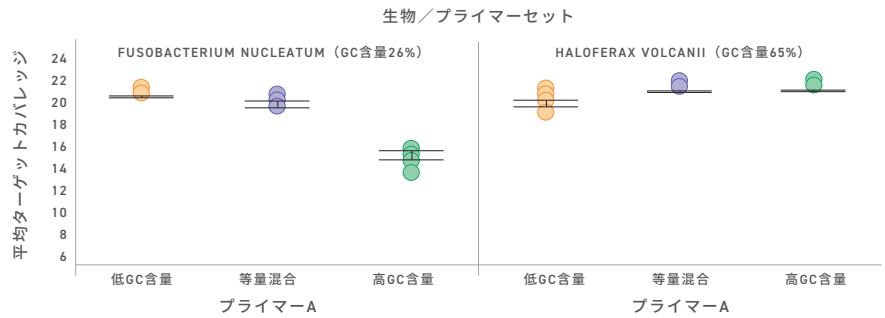
1. 96 ウェルプレートの変性 DNA テンプレートに、5' バーコードアダプターがランダムにプライミングします。ポリメラーゼによりプライマーが伸長して DNA テンプレートのコピーを作成します。ビオチン標識 ddNTP で反応が停止します。
2. すべてのサンプルを1本のチューブにプールし、ストレプトアビジン磁気ビーズでキャプチャします。また、洗浄して過剰な反応物質を除去します。
3. 2つ目の 5' アダプターテールプライマーと鎖置換ポリメラーゼにより、キャプチャしたテンプレートをデュアルアダプターのライブラリに変換します。磁気ビーズの最も近くに結合したプライマーは伸長し、ビーズ下流のプライマー配列まで合成されます。
4. ビーズを洗浄して過剰な反応物質を除去し、デュアルアダプターのライブラリを保持します。少ない PCR サイクル数で同時にライブラリを増幅し、インデックスリードポジションに任意のプレートバーコードを組み込みます。



対象生物のプロファイルに合わせてカスタマイズ

各 Twist 96-Plex Library Preparation Kit には、高 GC 含量用 1 枚、低 GC 含量用 1 枚の計 2 枚のプライマープレートが入っています。インプットするサンプルのプロファイルに応じて、使用するプレートを選択し、カバレッジが最も均一となる最適なライブラリを生成することができます。

TWIST 96-PLEX LIBRARY PREP による GC 含量が異なる生物の比較

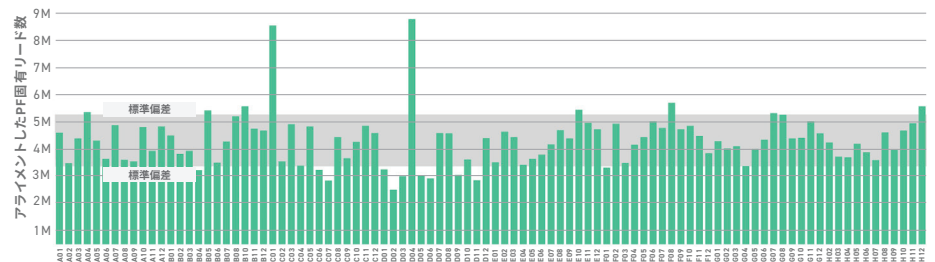


高 GC 含量または低 GC 含量の 2 種類の生物で、Twist 96-Plex Library Preparation Kit を用いて調製しました。いずれの生物でも、高 GC プライマー、低 GC プライマー、および両方のプライマーを 1:1 で混合したプライマーで調製しました。表示したデータセットは、30X のカバレッジで解析するためダウンサンプリングしています。いずれの場合も、最適なプライマーセットを用いることによりターゲットカバレッジが向上しました。

スケールが均一のライブラリ

Twist 96-Plex Library Preparation Kit で調製したシーケンシング用ライブラリでは、各プレートリード数が均一になります。磁気ビーズベースのサイズ選択で、特定の範囲内の断片をむらなくキャプチャします。

TWIST 96-PLEX のアライメントされたユニークリード数

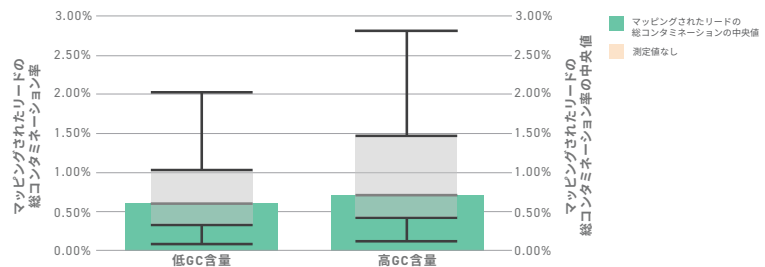


Twist 96-Plex Library Preparation Kit を用いて、*E. coli* から 96 の NGS ライブラリを作成しました。レプリケートサンプル各 50 ng を同じワークフローで調製し、その後、NextSeq 550 シーケンサーで配列を決定しました。データをプレートレベルのバーコード、次にサンプルのバーコードでデマルチプレックスし、リファレンスゲノムとのアライメントによりサンプルあたりのリード数を得ました。ドロップアウトを除外したこの結果からは、ほとんどのサンプルがアライメントされたリード数の平均値の 20% 以内に収まることが示されました。

コンタミネーションの最小化

Twist 96-Plex Library Preparation kit では、クロスコンタミネーションを起こすことなく、一度に多くのサンプルをプールすることができます。各ウェルのサンプルは固有のバーコードが付加され、シークエンス時にはウェルからウェルへのコンタミネーションを最小に抑えられます。

TWIST 96 PLEX LIBRARY PREP の総コンタミネーション率



Twist 96-Plex Library Preparation Kit を使用して 384 の NGS ライブラリを作成しました。これらのライブラリでインプットした DNA は、2 名のオペレーターが高 GC 含量および低 GC 含量プライマープレートで調製した 96 種類のプラスミドのセットです。ライブラリを 1 つにプールし、NextSeq 550 シーケンサーで配列を決定しました。コンタミネーションは、プラスミドあたりのコンタミネーションリードとコンタミネーションではないリードとの比率で評価されました。すべてのプラスミドについて、両オペレーターのコンタミネーション率の中央値は、各 GC プライマープレートで 1% 未満でした。

Twist 96-Plex Library Preparation Kit は、NGS ライブラリ調製の Twist Bioscience ポートフォリオ製品の一部です。

詳しくは、
twistbioscience.com/ngs
sales@twistbioscience.com をご覧ください。

注文情報

104950: Twist 96-Plex Library Preparation Kit, 960 サンプル用 10x96 キット (各 96 サンプルで 10 回調製)

104951: Twist 96-Plex Library Preparation Kit, 384 サンプル用 4x96 キット (各 96 サンプルで 4 回調製)