

イルミナ社次世代シーケンサー用ライブラリー定量キット

GenNext™ NGS Library Quantification Kit

NEW

イルミナ社次世代シーケンサー用ライブラリーを低バイアスかつ正確に定量できます。

GenNext™ NGS Library Quantification Kitはイルミナ社次世代シーケンサー用のライブラリー定量キットです。

イルミナ社次世代シーケンサーではロードするライブラリー量がデータの量および質に大きな影響を与えます。ライブラリー量が少ないとクラスター密度が低くなり、得られるシーケンスデータ量が少なくなります。逆に、ライブラリー量が多すぎると、クラスター解像度が悪くなりデータの質が下がります。このため、ライブラリーを正確に定量することが大変重要となります。

ライブラリーを定量する方法として分光光度測定や蛍光測定がありますが、これらの測定法では、すべてのDNAを測定するため、シーケンスに有効なP5、P7配列が付加したDNAの濃度を正確に求めることができません。

GenNext™ NGS Library Quantification Kitは、イルミナ社が採用している P5、P7配列にアニーリングするように設計されたプライマーを用いるqPCR法によって解析するため、フローセル上に結合する有効なライブラリーの濃度を正確に定量できます。また、KOD SYBR® qPCR Mix (p.3掲載)を採用しているため、長鎖やGCリッチターゲットにおいても、安定したライブラリー定量が可能です。



特長1 低バイアスで正確な定量

KOD SYBR® qPCR Mixを採用しており、ライブラリーのGC含量やサイズに影響を受けにくく、どのようなライブラリーにおいても正確な定量値を得ることができます。本製品で定量した値を用いることで、安定したクラスター密度を実現することができます。

特長2 幅広いレンジで定量可能

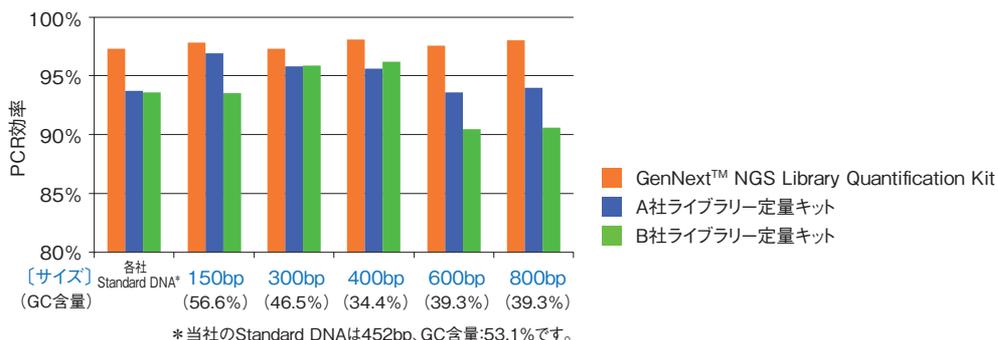
20pMから50.0002pMまでの6種類の濃度のStandard DNAを用意しており、幅広いレンジで正確に定量することができます。

特長3 簡便

本製品はライブラリー定量に必要なすべての試薬 (qPCR試薬、Primer Mix、Standard DNA、およびライブラリーの希釈バッファー) を含み、容易にライブラリーの定量を行うことができます。

実施例1 さまざまなサイズのターゲットにおけるPCR効率

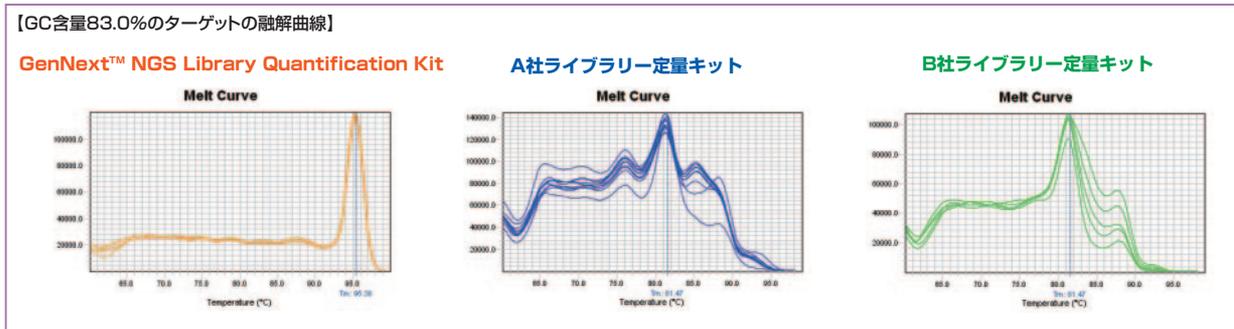
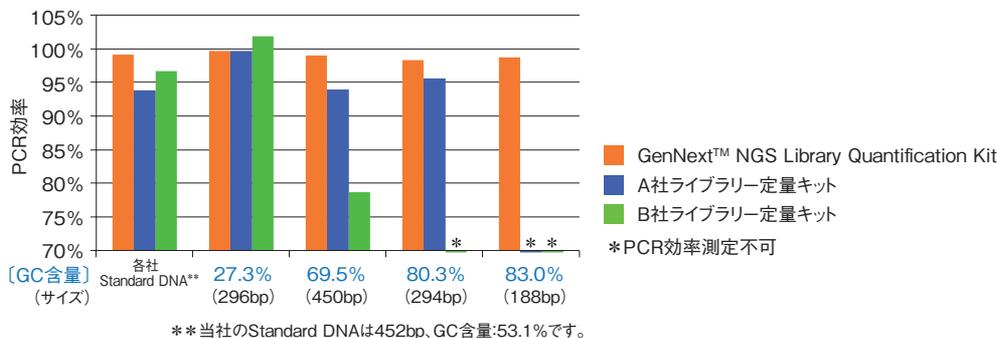
アダプター配列を有する150~800bpのターゲットについて各社ライブラリー定量キットを用いて解析し、PCR効率を比較しました。その結果、他社ライブラリー定量キットではターゲットサイズが長くなるに伴いPCR効率の低下がみられましたが、本製品ではターゲットサイズによるPCR効率の低下は認められませんでした。



実施例2 さまざまなGC含量のターゲットにおけるPCR効率の比較

アダプター配列を有する、さまざまなGC含量のターゲットについて各社ライブラリー定量キットでPCR効率を比較しました。その結果、他社ライブラリー定量キットではGC含量の高いターゲットに関して下図の融解曲線のように目的ターゲットが増幅せず、PCR効率を測定できませんでした。一方、本製品ではすべてのターゲットを特異的に増幅することができ、PCR効率のバラツキが最も小さい結果となりました。

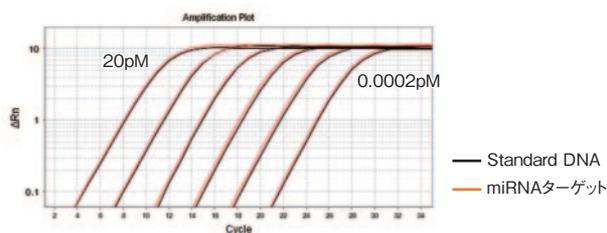
一般的にCpGを含むプロモーター領域や好熱菌などのバクテリアではGC含量が高いことが知られています。そのようなライブラリーの定量には、GCの影響を受けにくい本製品を用いることで正確に定量することができます。



実施例3 2次構造を形成しやすい短鎖ターゲットを用いた検討

アダプター配列を付加したmiRNA (human 1et-7a) 配列 (144bp) と Standard DNA をテンプレートとした解析で得られた増幅曲線を比較しました。miRNAターゲットは20pMまで希釈した後、10倍で段階希釈し、キット添付のStandard DNAと同時に解析を行いました。

その結果、miRNAターゲットとStandard DNAの増幅曲線は各希釈水準でほぼ一致し、PCR効率も97.8% (miRNA) と97.1% (Standard DNA) とほぼ同等でした。本検討により、miRNAのような短鎖のターゲットにおいても本製品を使用することで正確に定量できることがわかりました。



品名および内容	包装	保存温度	Code No.	価格
イルミナ社次世代シーケンサー用ライブラリー定量キット GenNext™ NGS Library Quantification Kit <KOD SYBR® qPCR Mix> ** ・ KOD SYBR® qPCR Mix ・ 50×ROX reference dye <Standard & Primer Set> ・ Standard DNA 1~6*** ・ 5×Primer mix ・ 50×Dilution Buffer	500回用*	-20℃	NLQ-101	¥68,000

*包装欄に記載の反応回数は、20μl反応時のものです。
 **KOD SYBR® qPCR Mix (Code No. QKD-201) が1セット含まれます。
 ***20pM, 2pM, 0.2pM, 0.02pM, 0.002pM, 0.0002pMの濃度のStandard DNAが含まれます。
 ※SYBR®はThermo Fisher Scientific K.K.の登録商標です。