



NGSライブラリー増幅の 新しいスタンダード

Equinox Library Amplification Kitsは、優れた忠実度、均一なシーケンスカバレッジ、高いライブラリー複雑性を実現し、希少バリエーション検出、血中セルフリーDNA (cfDNA) 分析、シングルセル分析、ハイブリダイゼーションキャプチャーなどのアプリケーションの厳しい要求に特に対応します。キットは、高効率で低バイアスなNGSライブラリー増幅のために最適化されたホットスタートPCRマスターミックスに、独自に設計された超高忠実度のDNAポリメラーゼを含みます。

特徴と利点

- 超高忠実度増幅により、アッセイ全体の感度を向上させ、ポリメラーゼエラーの発生を最大40%削減できます
- 抗体ベースのホットスタート処方で低インプットアプリケーションと自動化されたワークフローをサポートします
- 幅広いインプット (0.1 pg~500 ng) とGC含量 (15%~85%) から効率よくライブラリーを増幅します
- 均一性の高いシーケンスカバレッジでシーケンスの経済性を最適化します
- 常磁性ビーズとの相性により、ハイブリダイゼーションキャプチャーのワークフローで強固なパフォーマンスを発揮します
- Equinox Uracil Tolerant Library Amplification Kitsを使用して、Equinox DNA Polymeraseの性能メリットを生かし、バイサルファイト変換されたDNAに対応します

アプリケーション

- FFPE, cfDNA等の困難なサンプルからの低頻度バリエーション検出
- ハイブリダイゼーションキャプチャーワークフロー
- シングルセル解析
- 全ゲノムシーケンス
- RNA-Seq
- アンプリコンシーケンス
- ChIP-Seq, ATAC-Seq, 及び関連するエピジェネティックアプリケーション
- イルミナ / 非イルミナワークフロー

Equinox Uracil Tolerant Library Amplification Kits

- バィサルファイト処理したDNA
- 損傷したDNAサンプルや修飾塩基を含むテンプレート

Equinox Library Amplification Kitsは、次世代シーケンサー (NGS) ライブラリーの高効率、高忠実度増幅のために設計されています。Ready-to-useのミックスには、最適化されたPCRバッファーとホットスタート酵素の処方が含まれており、幅広いインプット量とGC含量率においてバイアスとエラーを最小限に抑えたライブラリー増幅を可能にし、様々な常磁性ビーズの存在下でも性能が維持されます。

3種類のEquinox Library Amplification Kitを用意し、それぞれ増幅用プライマー有り / 無しで提供されます：

2X

Equinox Library Amplification Kit は超高忠実度ポリメラーゼにより高感度なアプリケーションを実現、便利な2Xマスターミックスフォーマットで提供します。

4X

Equinox HC (High Concentration) Library Amplification Kitは、より希薄なインプットを用いたライブラリー増幅反応用に、より高濃度の4Xバージョンで提供されます。

U+

Equinox Uracil Tolerant Library Amplification Kitは、バイサルファイト変換、脱アミノ化、損傷DNA (例：FFPE) を含むウラシルを含むテンプレートの増幅に使用します。

Equinoxを用いたライブラリー増幅により、希少変異検出アプリケーションを実現します

超高忠実度のライブラリー増幅は、繊細なアプリケーションにとって非常に重要です。Equinoxは、KAPA HiFi HotStartと比較して、全体のポリメラーゼエラー率を40%削減することを実現しました。これにより、全体的なエラー率を最小限に抑え、偽のバリエーションコールを減らすことで、高感度なバリエーション検出が可能になります。

低インプットアプリケーションにおけるバリエーションコールをさらに改善すべく、PCRの重複リードを正確に識別するために、ライブラリー増幅の前にUnique Molecular Indices (UMI)が追加されます。少数の分子が優先的に増幅される偏った増幅では、UMIファミリーの表現が不均一になり、エラー訂正ができないシングルトンUMI (1つのリードのみで表現されるファミリー) が大量に生成されます。Equinoxは、均一なUMIファミリー増幅を可能にし、平均ファミリー深度の3倍以内で、全リードファミリーの75%以上 (およびGC含量が25~75%のリードファミリーでは90%以上) のカバレッジをサポートします。

超高忠実度

がんにおいて最も一般的な変異型の1つであるC>T置換を中心に、誤ったバリエーションコールを減らすことで、感度の高いバリエーション検出が可能になります。

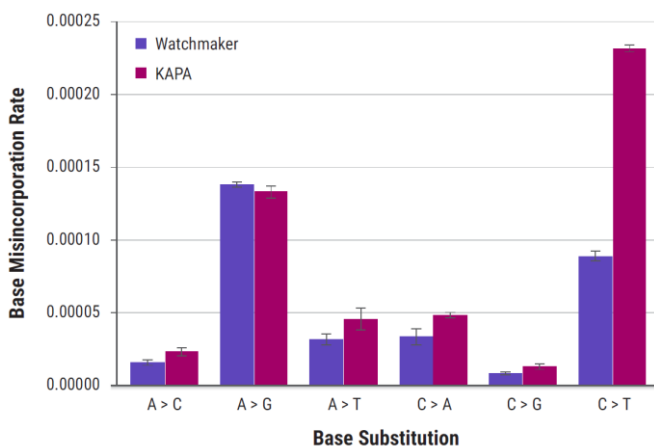


Fig.1 全体のポリメラーゼエラー率を最大40%減少させます。独自のNGSベースのアッセイを使用して、3回の独立した反応で900万以上の塩基組み込みを行った後にエラーレートを測定しました。Equinox Library Amplification Kitは、KAPA HiFi HotStart ReadyMixと比較して、全体のポリメラーゼエラー率を40%減少させました。

UMIファミリーの均一なカバレッジ

Equinoxは、UMIファミリー全体を均一にカバーし、低頻度のバリエーション検出に不可欠なパイオインフォマティックエラー補正を実現します。

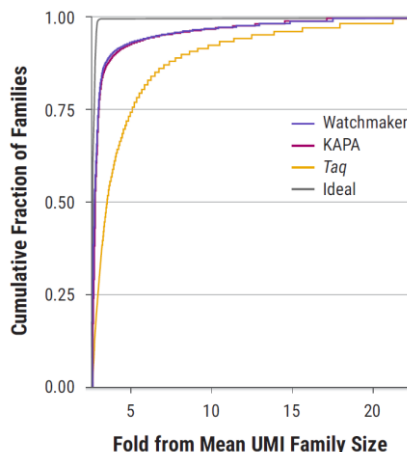


Fig.2 低バイアスのUMI増幅。UMIを含むアダプターを用いて、全ゲノムライブラリーを調製しました。80,000ライブラリー分子の限界希釈液を、図で示されるようにポリメラーゼ増幅し、シーケンスに使用しました。Equinoxは、平均ファミリー深度の3倍以内で、全リードファミリーの75%以上 (およびGC含量が25~75%のリードファミリーでは90%以上) のカバレッジをサポートします。Idealの曲線は、ポアソン分布でモデル化されたUMIファミリー全体が完全に均一なカバレッジの場合を示しています。

効果的なホットスタート処方

ポリメラーゼと3'→5'エキソヌクレアーゼの両方の活性を阻害してサンプルとプライマーの劣化を軽減し、自動ライブラリー構築を容易にします

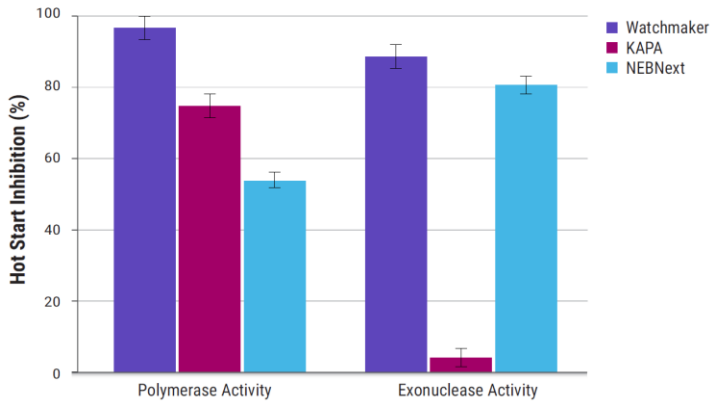


Fig. 3 改善されたホットスタート機能。Equinox Library Amplification polymerase、KAPA HiFi HotStart DNA Polymerase、NEB Q5 DNA Polymeraseのポリメラーゼ活性およびエキソヌクレアーゼ活性を、25°Cでのインキュベーション後、それぞれdNTPの取り込みまたはdNMP放出の検出により評価しました。阻害率は、抑制のない処方との相対値から得られています。

高い増幅効率

PCRのサイクル数を制限することで、ハイブリダイゼーションキャプチャーのような高収量が要求されるワークフローにおいても、関連するバイアスやアーティファクトを最小限に抑えることができます。

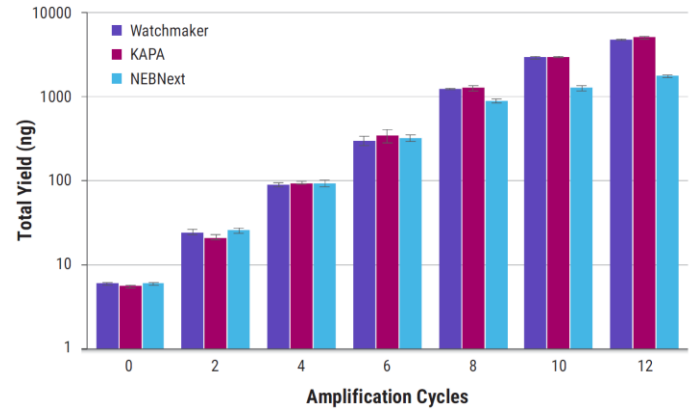


Fig. 4 高効率なライブラリー増幅。Equinox Library Amplification Kit、KAPA HiFi HotStart ReadyMix、NEBNext Ultra II Q5 Master Mixを用いて、ヒト全ゲノムライブラリー (10 ng) 増幅を3回実施した。収量は、2サイクル間隔でqPCRベースのライブラリー定量により決定した。

低バイアスの増幅

常磁性ビーズが存在する場合でも、複雑なゲノムで高いカバレッジ均一性を確保し、シーケンスの経済性を最適化します。

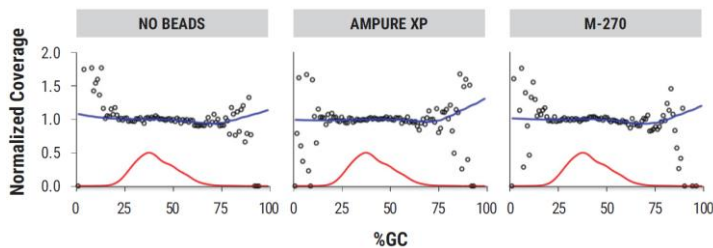


Fig. 5 常磁性ビーズ存在下での高いカバレッジ均一性。ヒト全ゲノムライブラリー (0.04 pg) を、常磁性ビーズの非存在下または存在下でEquinox Library Amplification Kitを使用して26サイクル増幅しました。常磁性ビーズはAMPure XP試薬 (100 μLスラリー、反応精製に関連) およびDynabeads™ M-270 Streptavidin (500μg、ハイブリダイゼーション捕捉に関連) を用いています。カバレッジプロットは、非増幅ライブラリーのカバレッジプロットを標準としています。青線はカバレッジプロットの平滑化曲線を、赤線はGC含有の濃度を示します。

ウラシルの堅牢な増幅

多くのproofreading Bファミリーポリメラーゼは、DNAテンプレート中のウラシル塩基に反応して複製を停止させます。Equinox Uracil Tolerant Polymeraseは、バイサルファイトシーケンスのためのウラシルを含むテンプレートを読み込むポリメラーゼとして設計されています。

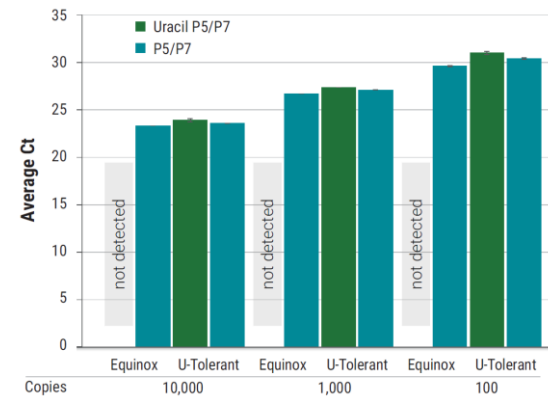


Fig. 6 Equinox Uracil Tolerant Library Amplification Kitはウラシルを含むテンプレートを効率的に増幅します。Equinox Library Amplification Kitでは予想の通りウラシルを含むプライマーによって阻害されましたが、Equinox Uracil Tolerant Library Amplification Kitは様々なインプットレンジで阻害を示しませんでした。

製品情報：

製品名	容量	型番
Equinox Library Amplification Kit With P5/P7 Primer Mix (10X)	24 反応	7K0014-024
	96 反応	7K0014-096
	384 反応	7K0014-384
Equinox Library Amplification Kit (Without Primers)	24 反応	7K0021-024
	96 反応	7K0021-096
	384 反応	7K0021-384
Equinox HC Library Amplification Kit With P5/P7 Primer Mix (10X)	96 反応	7K0094-096
	384 反応	7K0094-384
Equinox HC Library Amplification Kit (Without primers)	96 反応	7K0065-096
	384 反応	7K0065-384
Equinox Uracil Tolerant Library Amplification Kit With P5/P7 Primer Mix (10X)	24 反応	7K0023-024
	96 反応	7K0023-096
	384 反応	7K0023-384
Equinox Uracil Tolerant Library Amplification Kit (Without primers)	24 反応	7K0028-024
	96 反応	7K0028-096
	384 反応	7K0028-384

- ・本製品は研究用です。診断用途には使用頂けません。
- ・本カタログに記載の内容は2023年4月現在のものです。製品仕様につきましては予告なく変更する場合がございます。ご了承下さい。

(輸入販売元)

 **エア・ブラウン株式会社**

ライフサイエンス部
大阪:大阪市北区大深町3-1 グランフロント大阪タワーB 16階
TEL: 06-7739-7114 FAX: 06-7739-7115

URL: <http://www.arb-ls.com>
お問い合わせ: arb-lsdept1949@arbrown.com

(代理店)