

様々な種類と品質の サンプルに対応する TruPath™ Genomeの 性能

血液、分離細胞、唾液、乾燥血液スポット、
口腔スワブを含む、幅広い種類のサンプル
に対応

標準および高分子量用の抽出キット
から得られたDNAを含む、幅広い
サンプル品質から高品質な結果を取得

175 ngから550 ngのDNAインプット
量でのロバストな性能

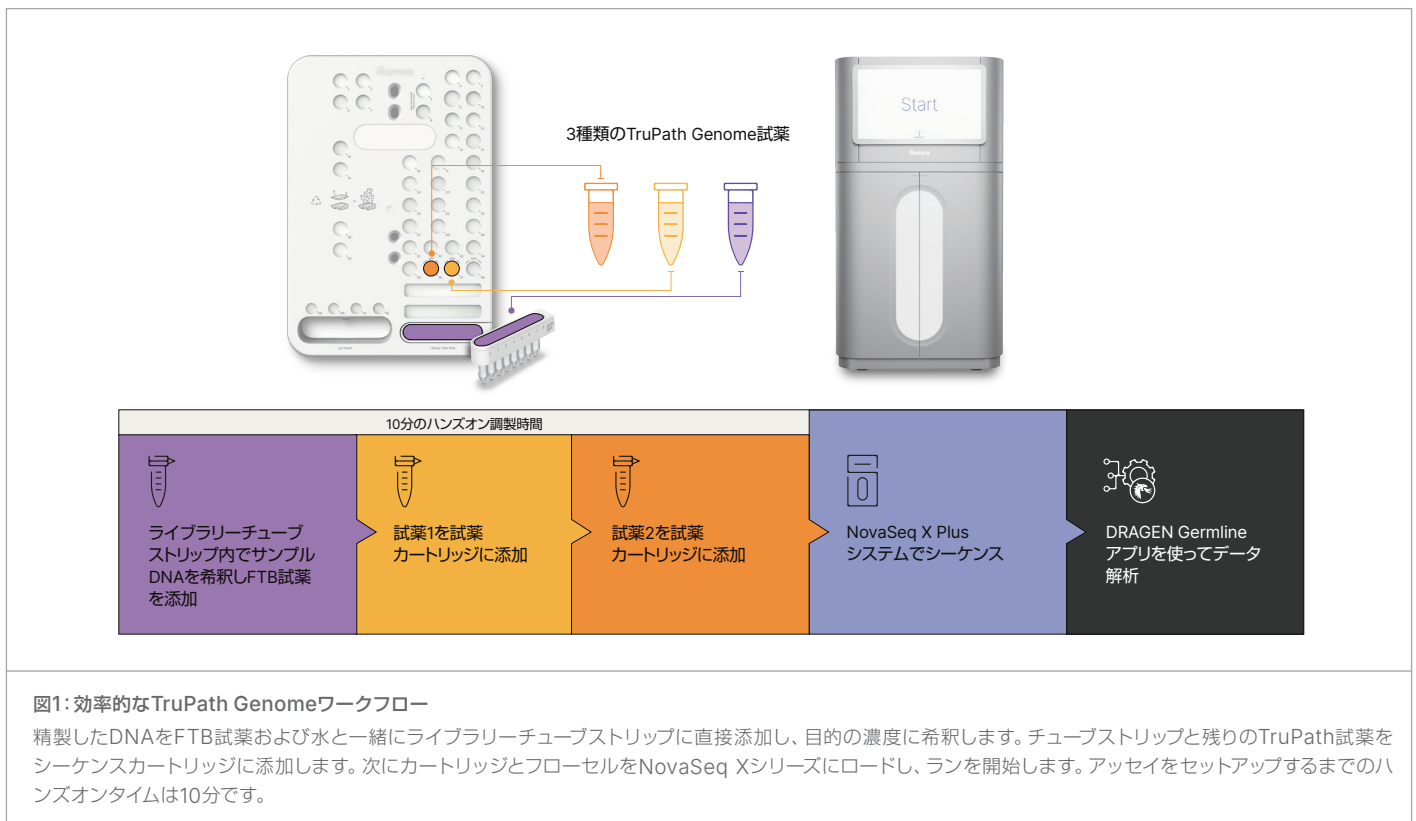
はじめに

ショートリードシーケンスは、高精度の全ゲノムシーケンス (WGS) を実施するための柔軟性の高い信頼できる方法です。しかし、ヒトゲノムのごく一部 (例: 配列の相同性が高い領域や反復配列、および構造バリエーション (例: 反転、転座、挿入/欠失および複雑な再配列) などの一部のバリエーションの種類) のマッピングは未だに困難です。ロングリードシーケンス法は、これらの領域やバリエーションの種類の解明に役立ちますが、多量のDNAインプット量が必要、インプットの品質要件が厳しい、ワークフローが複雑、および結果がばらつくなどの制約を受けます。¹⁻⁴

Illumina TruPath Genomeは、次世代シーケンス (NGS) ワークフローに革新的な変化をもたらし、非常に簡単に包括的な全ゲノムシーケンスを提供します。⁵ 近接マッピングリードテクノロジーを採用したTruPath Genomeは、従来のライブラリー調製ステップを基本的に必要としない非常に簡単なワークフローを使い、精製DNAからシーケンスシステムへのローディングまで約10分で完了する、効率的なワークフローを実現します (図1)。

WGSワークフローパラダイムの変更に加え、TruPath Genomeは先進のインフォマティクスを使用して、高い精度のショートリードデータと、フローセル上のDNAテンプレートからのナノウェル近接情報を統合します。この近接情報により、最大数百万塩基離れた配列の長距離ゲノムについての洞察を得ることができるようになります。これらの長距離ゲノム洞察とショートリードシーケンスの強みを組み合わせることで、TruPath Genomeは包括的なゲノム解析を実現します。

本テクニカルノートでは、これまでマッピングが難しかったゲノム領域を解明し、さまざまなサンプルの種類、DNA品質およびDNAインプット量にわたる包括的なバリエーション検出を実施するTruPath Genomeの非常にロバスタな性能を示します。



検証したサンプルの種類

手法

サンプル

血液、分離細胞、唾液、口腔スワブ、乾燥血液スポット (DBS)、を含む幅広いサンプルの種類を用いて TruPath Genome の性能を評価しました (表1)。DNA抽出は、高分子量 (HMW) 抽出法および標準抽出法を含む、複数の精製法 (例: シリカスピンカラム、磁気ビーズ、アルコール沈殿法) を用いて実施しました (表2)。

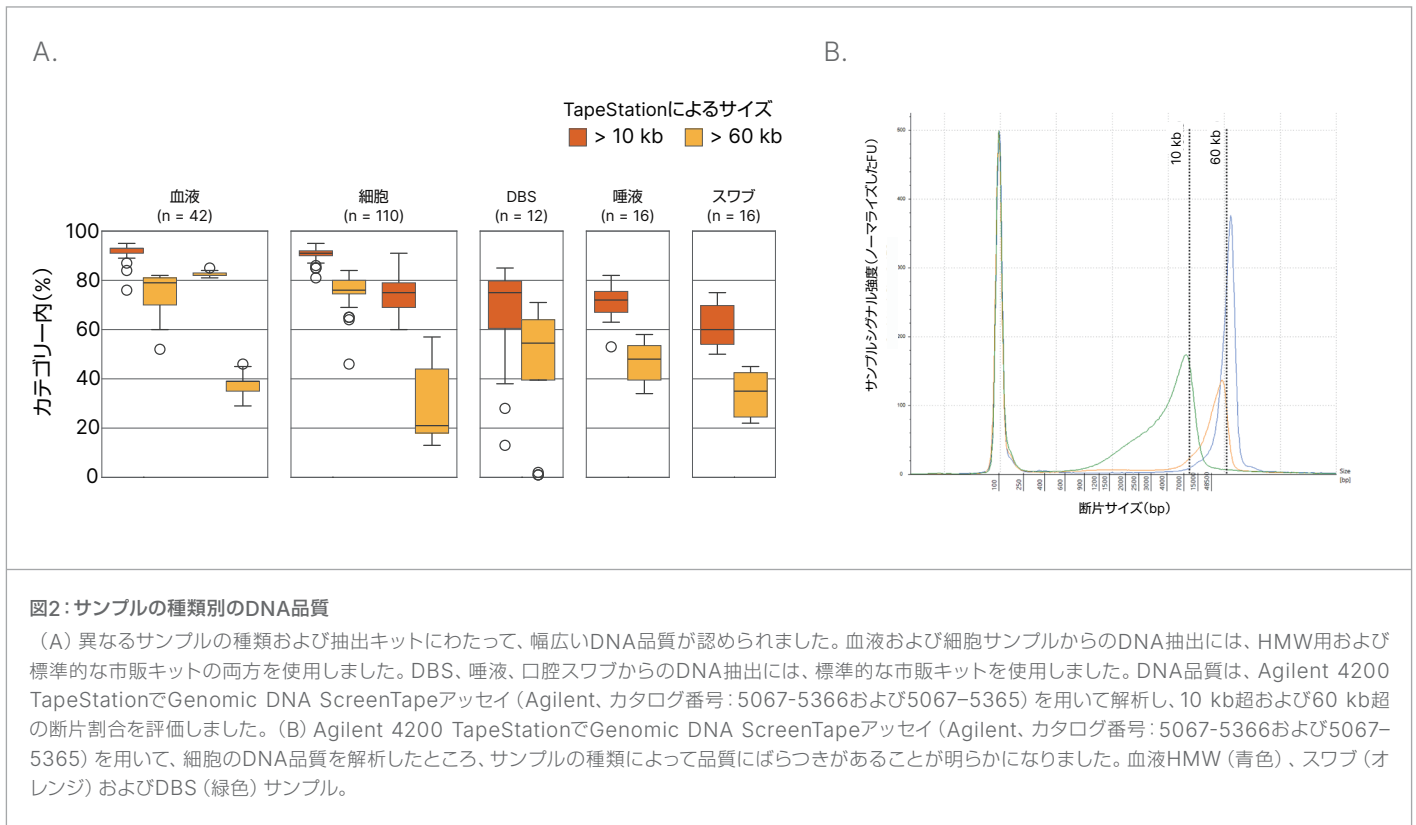
DNA量の測定には、Qubit 4 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific、カタログ番号: Q32851) の Qubit dsDNA High Sensitivity Assay を使用しました。DNA品質は 4200 TapeStation システムで評価しました (Agilent、カタログ番号: G2991BA) (図2)。

表1: TruPath Genomeアッセイで使用したサンプル

サンプルの種類	入手元
全血	健康ドナー由来のK ₂ EDTA保存血液サンプル。Research Donors (英国、ロンドン) より購入
細胞ペレット	リンパ芽球細胞株または線維芽細胞株の複数培養株。Coriell Institute for Medical Researchから入手 HMWおよび標準DNAサンプルには、Genome in a Bottle Consortium (GIAB) の以下のリファレンスサンプルを含む。HG001、HG002、HG003、HG004、HG005、HG006およびHG007 (Coriell Institute for Medical Research、米国、ニュージャージー州)
唾液	健康ドナー由来の唾液サンプル。Research Donors (英国、ロンドン) より購入
口腔スワブ	健康ドナー由来の口腔スワブサンプル。Research Donors (英国、ロンドン) より購入
DBS	DBSは、Research Donors (英国、ロンドン) から入手した採血後3日未満のK ₂ EDTA全血50 µLを用いて、Whatman 903 Protein Saver Cardsから調製

表2: TruPath Genomeアッセイで使用したDNA抽出キット

サンプルの種類: 収集法	抽出キット
血液: K ₂ EDTA	Monarch HMW DNA Extraction Kit for Cells & Blood (NEB、カタログ番号: T3050S)
	Wizard HMW DNA Extraction Kit (Promega、カタログ番号: A2920)
	MagAttract HMW DNA Kit (48) (Qiagen、カタログ番号: 67563)
	chemagic Prepito DNA Universal Kit. (Revvity、カタログ番号: CMG-2034)
	Mag-Bind Blood & Tissue DNA HDQ 96 Kit (OmegaBiotek、カタログ番号: M6399)
	QIAamp DNA Blood Mini Kit (50) (Qiagen、カタログ番号: 51104)
細胞: 乾燥ペレット	Monarch HMW DNA Extraction Kit for Cells & Blood (NEB、カタログ番号: T3050S)
	QIAamp DNA Blood Mini Kit (50) (Qiagen、カタログ番号: 51104)
DBS: Whatman 903	chemagic Prepito DNA Universal Kit. (Revvity、カタログ番号: CMG-2034)
	sparQ Lysis Kit (Quantabio、カタログ番号: 95220)
	MagMAX DNA Multi-Sample Ultra 2.0 Kit (Thermo Fisher Scientific、カタログ番号: A36570)
唾液: GFX-02	GeneFix Saliva-Prep 2 DNA Isolation Kit (Isohelix、カタログ番号: GSPN)
	chemagic Prepito DNA Universal Kit. (Revvity、カタログ番号: CMG-2034)
唾液: OGD-600	prepiT•L2P DNA extraction reagent (DNA Genotek、カタログ番号: PT-L2P)
	chemagic Prepito DNA Universal Kit. (Revvity、カタログ番号: CMG-2034)
	MagMAX Saliva gDNA Isolation Kit (Thermo Fisher Scientific、カタログ番号: A39059)
スワブ: OCR-100	prepiT•L2P DNA extraction reagent (DNA Genotek、カタログ番号: PT-L2P)
	chemagic Prepito DNA Universal Kit. (Revvity、カタログ番号: CMG-2034)
Whatman 903, Protein saver cards (Millipore Sigma、カタログ番号: WHA10534612)、GFX-02、GeneFix Saliva DNA/RNA Collector GFX-02 (Isohelix、カタログ番号: GFX-02)、Oragene•Dx saliva collection device (DNA Genotek、カタログ番号: OGD-600)、OCR100, ORACollect•DNA (DNA Genotek、カタログ番号: OCR-100)	



ランセットアップとシーケンス

製造元の指示に従って、サンプルライブラリーチューブストリップにDNAとTruPath Genome試薬 (イルミナ, カタログ番号: 20157406) を一緒に添加しました。DNAの標準インプット量は350 ngでしたが、DBSサンプルには抽出した全量を使用しました。最小のDNAインプット量は175 ngでした。ユーザーマニュアルに従い、ライブラリーチューブストリップ、TruPath Genome試薬、およびNovaSeq™ C8フローセルをNovaSeq X Plusシステム (イルミナ, カタログ番号: 20084804) にロードし、シーケンスしました。

解析

シーケンス後、DRAGEN™ Germlineパイプラインを使用して、ショートリードシーケンスデータとナノウェル近接情報を統合しました。フェージングしたリードからのバリエーションコールには、GRCh38 リファレンスゲノムを使用しました。

結果

TruPath Genomeは、品質が異なるサンプルからも高品質な結果を取得

TruPath Genomeによって達成される、標準的な全ゲノムメトリクス (常染色体カバレッジ、ベースコール精度など) に関して、DNA品質の影響を受けず、すべてのサンプルの種類に対してロバストな性能が観察されました (図3)。常染色体の平均カバレッジは約64 ×であり、平均Q30は92%でした。一部の唾液およびスワブサンプルでは、サンプル中に自然に存在する細菌のリードにより、ヒトゲノムのマッピングリード率が低下し、それによるカバレッジの減少が認められました。

DNAサンプル品質とTruPath Genome近接メトリクスには強い関連性が認められました (図4)。ほとんどのサンプルの種類では、10 kbを超えるDNA断片の割合は近接率性能の強力な予測因子であることが認められ、10 kbを超える断片割合が高いほど、より高いQ25の近接率 (クオリティスコアQ25* 以上で近接する別のリードを少なくとも1本有するリードの割合) を生み出すことが認められました。

*近接クオリティスコアとは、同一ゲノム領域由来の2本のリードが偶然同じフローセル近傍領域に配置される確率を、DRAGEN近接モデルを用いてPhredスケールで算出したスコアです。近接クオリティスコアが高いほど、ゲノム上およびフローセル上で近接している2本のリードが、同一インプットDNA分子に由来すると判断できる信頼度がより高いことを示します。

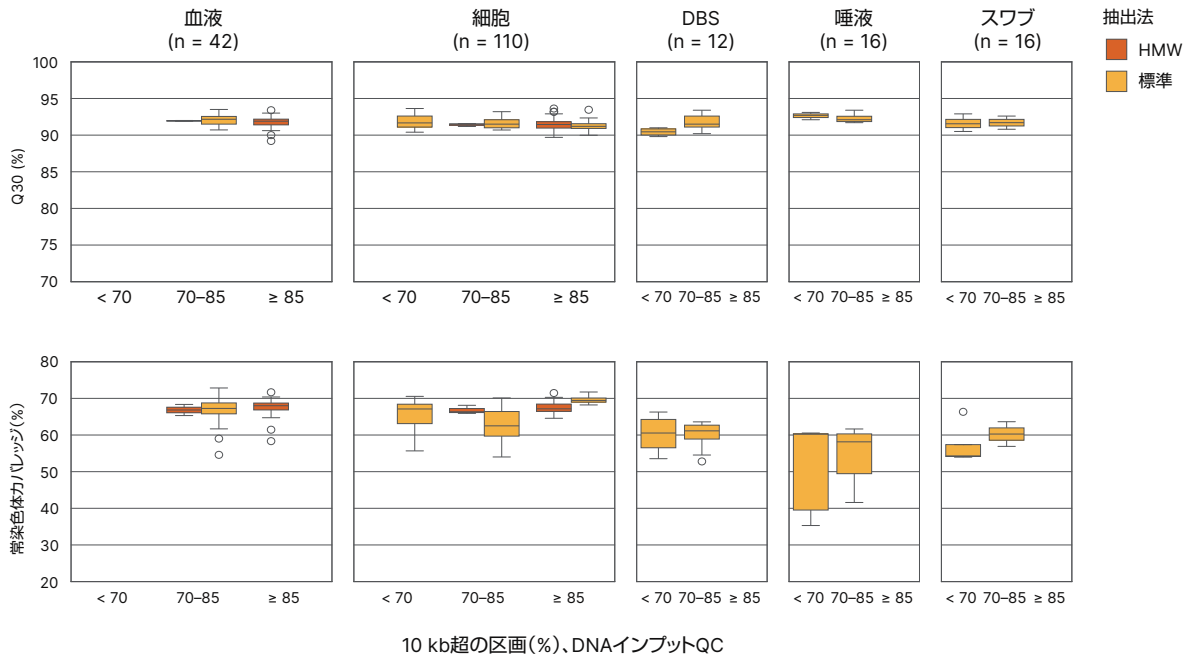


図3: 常染色体カバレージおよび平均Q30の割合は、サンプルの種類を問わずDNA品質による影響を受けません。

血液および細胞のDNA抽出には、HMWおよび標準的な手法を用いました。DBS、唾液、口腔スワブのDNA抽出には、標準的な手法を用いました。DNA精製法に関わらず、カバレージおよびクオリティスコアに対する優れた性能がすべてのサンプルで観察されました。DNAの完全性は、Agilent 4200 TapeStationを用いて測定し、X軸に沿って区画化した後、10 kb超の断片割合を領域解析として評価しました。

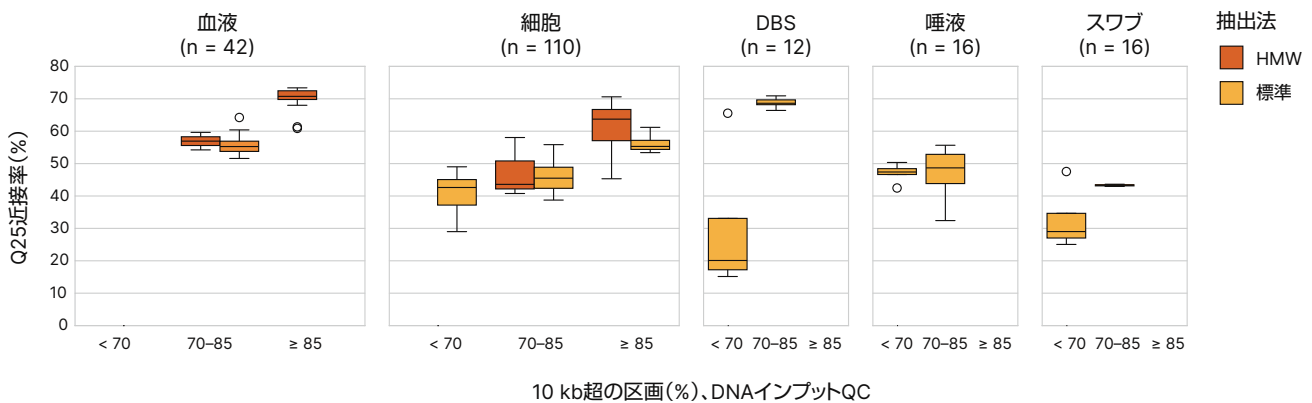


図4: Q25近接率に関するDNA品質の影響

血液および細胞のDNA抽出には、HMW用および標準的な手法を用いました。DBS、唾液、口腔スワブのDNA抽出には、標準的な手法を用いました。Q25近接率は、DNA品質と強く関連しており、特にAgilent 4200 TapeStationで測定し、X軸に沿って区画化した10 kb超のDNA断片と強い関連性を示します。

TruPath Genomeはフェージングシーケンスに対応

より大きなDNA断片の存在は、フェージング性能の強力な予測因子であり、60 kb超のDNA断片の割合が高いほど、フェーズブロックNG50[†]はより大きく、スモールバリエントコール性能も高くなります。TruPath Genomeでは完全長のDNAテンプレートの解析が可能のため、ヒトゲノムのフェージング研究に最適です (図5)。

TruPath Genomeは高品質かつ新鮮なサンプルで最良の性能を発揮

サンプル保存期間がTruPath Genomeの性能に及ぼす影響を評価するため、血液およびDBSサンプルから2つの特定の時点でDNAを抽出しました。血液サンプルは、採血3日以内にDNAを抽出したものと、4℃で7日間保管した後にDNAを抽出したものを使用しました。DBSサンプルは、室温で1カ月または1年間保管したものを使用しました。

† フェーズブロックNG50は、ターゲット領域 (ゲノムまたはその他) の50%がフェージングされた際のフェーズブロックの長さのことです。

血液サンプルとDBSサンプルのいずれも、フェーズブロックNG50のサイズは、60 kb超のDNA断片の割合に関連して変化しました (図6)。いずれのメトリクスも、新鮮なサンプルよりも時間経過したサンプルで低下することが認められました。血液サンプルでは、HMW法を用いてDNAを抽出した場合、DNAを1週間後に分離したサンプルであっても、40%以上の断片が60 kbを超える長さを維持していました。

TruPath Genomeによる幅広いDNAインプット量にわたるロバストな性能

TruPath Genomeアッセイ性能について、175、200、350および550 ngの幅広いDNAインプット量で評価しました。175 ngのインプット量を用いたシーケンス結果では、高品質な標準の全ゲノムメトリクス (例: 常染色体カバレッジおよびQ30超の割合) および近接メトリクス (例: Q25近接率およびフェーズブロックNG50) を示しました。推奨インプット量は350 ngですが、それよりも少ないインプット量での使用も可能です (図7)。

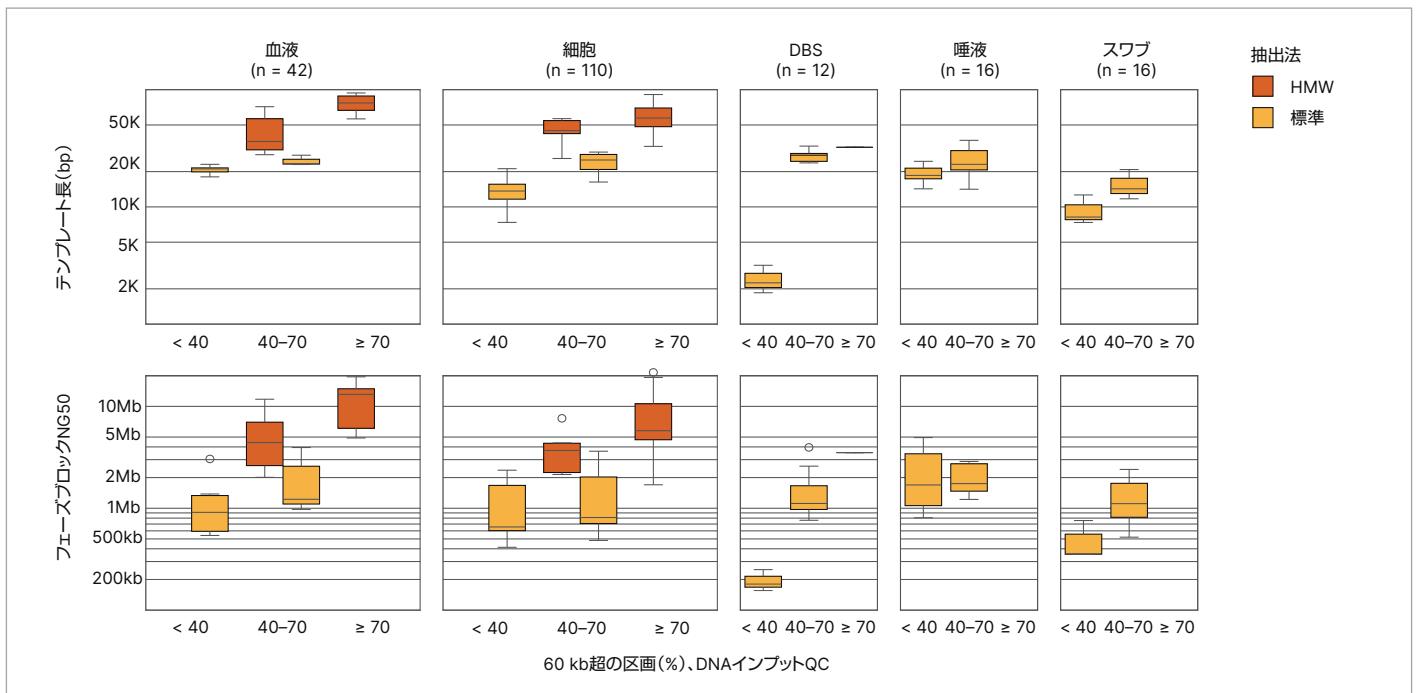


図5: さまざまなサンプルの種類に対して優れたロバスト性を示す、TruPath Genomeフェージング性能

血液および細胞のDNA抽出には、HMW用および標準的な手法を用いました。DBS、唾液、口腔スワブのDNA抽出には、標準的な手法を用いました。DNAの完全性は、Agilent 4200 TapeStationを用いて測定し、X軸に沿って区画化した60 kb超の断片割合を領域解析として評価しました。Y軸のテンプレート長は、テンプレート分子サイズの第3四分位値を表します。60 kb超の断片割合が大きい高品質なDNAでは、テンプレート長およびフェーズブロックNG50の増加との関連性が認められます。

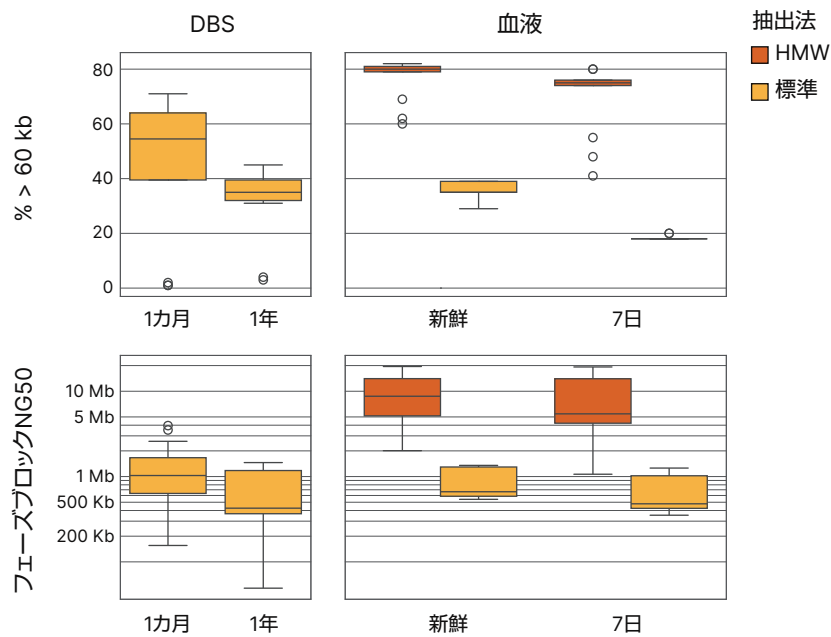


図6: DNA品質とフェーズブロックNG50に関する血液サンプル保管の影響

血液サンプルは、4℃で3日未満（新鮮）または7日間保管されたものを使用しました。DBSサンプルは、室温で30日未満または約1年間保管されたものを使用しました。血液のDNA抽出には、HMW用および標準的な手法を用いました。DBSサンプルのDNA抽出には、標準的な手法を用いました。一次サンプルの保管期間は、DNA品質（60 kb超の割合）およびフェーズブロックNG50に影響を及ぼします。60 kb超の割合は、Agilent 4200 TapeStationでGenomic DNA ScreenTapeアッセイを用いて測定しました。両サンプルの種類について、抽出前の保管期間が長いサンプルでは、60 kb超の断片割合およびフェーズブロックNG50サイズはいずれも低下しました。

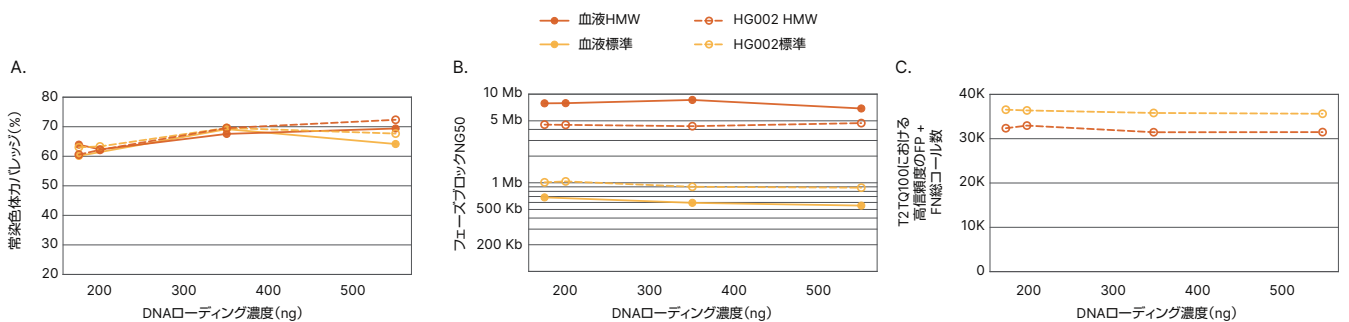


図7: 幅広いインプット量にわたるTruPath Genomeの優れた性能

175、200、350、550 ngのインプット量で調製したTruPath Genomeのシーケンス結果は、標準的な全ゲノム解析およびTruPath Genomeの近接メトリクス（(A) 常染色体カバレッジ、(B) フェーズブロックNG50、(C) スモールバリエントコール性能 (FP + FNコールの総数)）において、同等のデータ品質を生成します。血液および細胞のDNA抽出には、HMW用および標準的な手法を用いました。スモールバリエントコール性能 (SNP + Indel) については、T2T-Q100 V1.1 V0.019 Truthセットに対するベンチマーク評価を実施しました。

まとめ

TruPath Genomeは、近接マッピングリードテクノロジーを使用し、非常に簡単に包括的な全ゲノムシーケンスソリューションを提供します。この独自のワークフローは、ショートリードシーケンス法の利点にフローセル上の近接情報を組み合わせることで、長距離の洞察を明らかにします。本テクニカルノートでは、さまざまな種類、量、品質、保管条件のサンプルからTruPath Genomeが達成した高品質かつロバストな性能を示しました。

参考文献

1. Pacific Biosciences. Preparing DNA for PacBio HiFi sequencing—Extraction and quality control. pacb.com/wp-content/uploads/Technical-Note-Preparing-DNA-forPacBio-HiFi-Sequencing-Extraction-and-Quality-Control.pdf. Published 2022. Accessed December 8, 2025.
2. Pacific Biosciences. Preparing whole genome and metagenome libraries using SMRTbell prep kit 3.0. pacb.com/wp-content/uploads/Procedure-checklist-Preparing-whole-genomeand-metagenome-libraries-using-SMRTbell-prep-kit-3.0.pdf. Published 2022. Accessed December 8, 2025.
3. Oxford Nanopore Technologies. Ligation Sequencing Kit. store.nanoporetech.com/us/ligation-sequencing-kit-v14.html. Accessed December 8, 2025.
4. Pacific Biosciences. Low Yield Troubleshooting Guide. pacb.com/wp-content/uploads/Guide-Low-Yield-Troubleshooting.pdf. Published 2018. Accessed December 8, 2025.
5. Illumina. TruPath Genome data sheet. illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trupath-genome-data-sheet-m-gl-03931/trupath-genomedata-sheet-m-gl-03931.pdf. Published February 2026. Accessed February 24, 2026.

イルミナ株式会社

〒108-0014 東京都港区芝 5-36-7 三田ベルジュビル 22 階
Tel (03) 4578-2800 Fax (03) 4578-2810
jp.illumina.com

 www.facebook.com/illuminakk

販売店

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。 販売条件 : jp.illumina.com/tc

© 2026 Illumina, Inc. All rights reserved.
すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc. または各所有者に帰属します。
商標および登録商標の詳細は jp.illumina.com/company/legal.html をご覧ください。
予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。

