illumina®

Illumina Rapid RNA Prep with EnrichmentおよびIllumina Custom Enrichment Panel v2

柔軟性の高い迅速なRNAシーケンスアプリケーション

6.5時間のライブラリー調製と1.5時間未満のハンズオンタイム

幅広いインプット量からRNA-Seqアプリケーションに適した高品質なデータを生成

FFPE組織など、さまざまなサンプルタイプに対応し、わずか1 ngのトータルRNAから高感度な解析を実現

Rapid（迅速な）RNAシーケンス

次世代シーケンサー（NGS）を用いたRNAシーケンス（RNA-Seq）は、細胞の種類や状態を動的に反映する指標として役立つRNA転写産物を、高精度にプロファイリングする強力な手法です。メッセンジャーRNA（mRNA）-Seqは、コード領域トランスクリプトームの包括的かつ定量的なリードアウトを提供し、アイソフォーム、遺伝子融合、アリル特異的発現の高感度な検出を実現します。しかし、mRNA-Seqのライブラリー調製には、長い時間と手間がかかるため、スループットは限定的です。

Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentは、迅速かつシンプルなワークフローで、少量のサンプルインプットおよび多様なサンプルタイプに対応します。Illumina Custom Enrichment Panel v2は、Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentと組み合わせることで、シンプルなタグメンテーションベースのワークフローにより、以下をはじめとするRNA-Seqアプリケーションに適した高精度のデータを生成します。

- 遺伝子発現差解析
- 転写産物の計測
- 遺伝子融合解析
- アイソフォーム/選択的スプライシング解析
- 1塩基多型（SNV）解析
- パスウェイ解析

迅速かつシンプルなRNA濃縮ワークフロー

Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentは、first-strandおよびsecond-strandのcDNA合成とビーズ上でのタグメンテーションを1回の反応に統合し、その後90分間のシンプルなハイブリダイゼーションステップを1回行うという、効率的な新しい手法を採用し、迅速なワークフローを実現しました（図1）。このアプローチでは、複数のピペッティング操作や精製ステップを行う必要がなくなり、RNAサンプルをハイブリッドキャプチャーに対応したインデックス付きライブラリーへ迅速かつ効率的に変換します。

ハイブリダイゼーション反応とさまざまな技術革新を組み合わせたことで、Rapid RNA Prep with Enrichmentのワークフローは、Illumina RNA Prep with Enrichmentプロトコールに比べてステップ数が少なく、インキュベート時間が短く、セーフストップポイントが多数あり、合計アッセイ時間が約30％短縮されています。またIllumina Rapid RNA Prep with Enrichmentは、マニュアル調製に加え、自動化ワークフロー対応の各種の自動分注機にも対応しているため、サンプルハンドリングの再現性が高まり、人的ミスのリスクが軽減され、ハンズオンタイムも短縮されます。

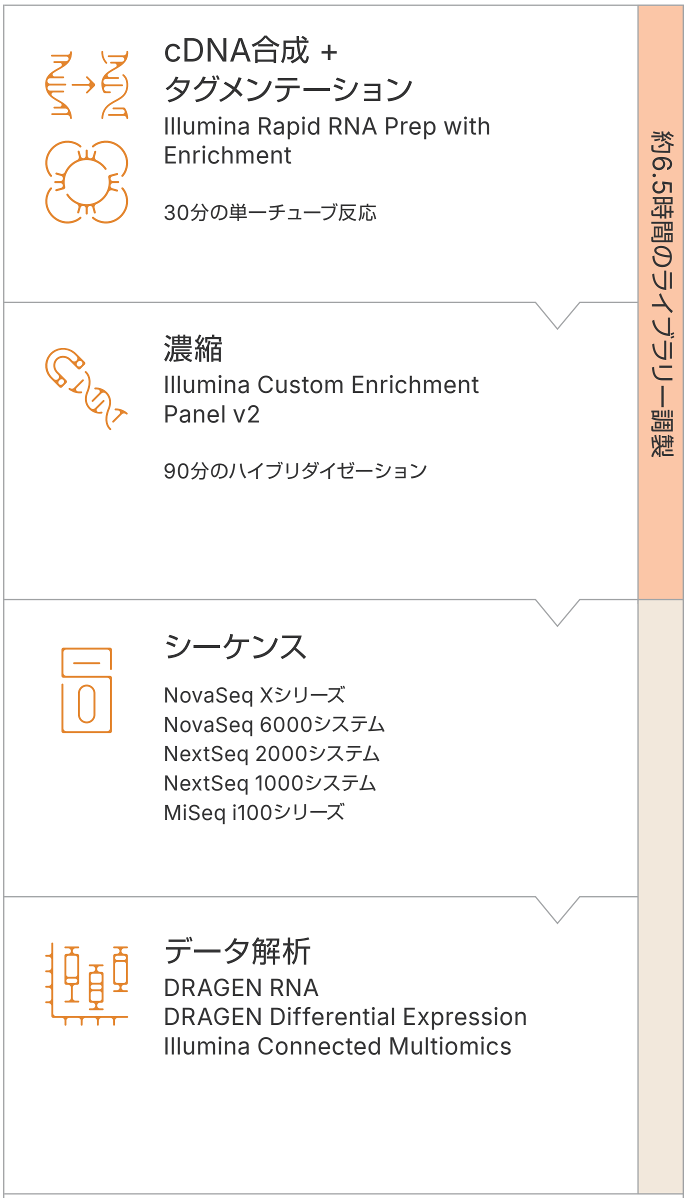

図1：Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentが提供する、迅速なライブラリー調製ワークフロー

Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentは、cDNA合成試薬とビーズ結合トランスポソームを1本のチューブ内で反応させ、first-strandおよびsecond-strand cDNAを合成し、このcDNAにアダプターをタグ付けします。この一連の反応に要するインキュベート時間は約30分であり、続いてcDNA断片の末端にインデックスアダプター配列を付加するPCRステップが行われます。その後、Illumina Custom Enrichment Panel v2によるターゲット濃縮により、選択したRNAターゲットにシーケンスを集中させます。ライブラリーは、イルミナのシーケンスシステムでシーケンスします。データは、DRAGEN EnrichmentおよびDRAGEN RNAアプリを使って解析し、Illumina Connected Multiomicsで視覚化します。

幅広いRNAアプリケーションに対応するモジュール設計

Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentは、優れたRNAライブラリー調製および濃縮性能に、実績のある独自のSequence by Synthesis（SBS）ケミストリー[1]を組み合わせることで、さまざまなサイズの固定パネルおよびカスタムパネルに対応しています。この柔軟性により、分解されたFFPEサンプルの使用を含む、腫瘍学や感染症研究などの幅広いアプリケーションにわたって、高度な研究デザインが可能になります。

イルミナは、最適な性能を確保するために、20遺伝子以上の濃縮パネルの設計を推奨しています。ヒトRNAアプリケーション用のカスタム濃縮パネルは、無料のイルミナDesignStudio™ポータルを使用して設計できます。プローブは、エクソン情報に基づいてエクソン間の接合部をまたがないように設計されているため、遺伝子発現解析と既知および新規のスプライスアイソフォームや融合遺伝子の検出に、同一のカスタムパネルを用いることができます。また、ヒト以外のコンテンツの設計サポートは、イルミナコンシェルジュデザインチームを通じてご利用いただけます。

カスタムパネル性能およびカバレッジ要件

性能評価には、20～109の遺伝子に対するプローブを含む4種類の濃縮パネル（表1）を使用し、Universal Human Reference（UHR）RNA、Seraseq Fusion RNA Mix v2（SeraCare、カタログ番号：0710-0127）およびSeraseq FFPE Tumor Fusion RNA Reference Material v2（SeraCare、カタログ番号：0710-0129）リファレンスサンプル由来の3種類のサンプルからライブラリーを調製しました。得られたライブラリーは、NovaSeq™ 6000システムを用いて151 bp × 1でシーケンスし、その後の解析用にデータを101 bp × 2にトリミングしました。データ解析は、DRAGEN™ RNAアプリおよびDRAGEN Enrichmentアプリv4.3で実施しました。

Illumina Rapid RNA Prep with Enrichment v2は、高品質なUHRサンプルおよび分解されたFFPEサンプルの両方から均一なインサートサイズ（図2）、リード濃縮（padded）（図3）、および重複リード性能において優れた結果を示しました。特に大規模なパネルおよび多様性の高いサンプルで性能が維持されました（図4）。このカバレッジ深度では、ターゲット領域全体で高い重複率が予想されます。これは、低頻度の体細胞バリアントの検出を可能とし、サンプル内の遺伝子発現のばらつきも考慮したものです。

Illumina Custom Enrichment Panel v2は、遺伝子融合、スプライスバリアントおよび1塩基多型（SNVs）を含む、RNAバリアントの濃縮に使用できます。がん細胞の割合が様々であるホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）サンプルにおいて、体細胞バリアントを検出するには、低コピー数で存在するバリアントを検出できる高いカバレッジ深度が必要です。

Seraseq Fusion RNA Mix v2およびSeraseq FFPE Tumor Fusion RNA Reference Material v2リファレンスサンプルについて、4種類のカスタムRNA濃縮パネルを使用してシーケンスしました。比較のため、データをBaseSpace™ Sequence HubのDRAGEN FASTQ Toolkit v2.0.3アプリを用いて、平均ターゲットカバレッジ400 ×にダウンサンプリングした結果、1遺伝子あたり平均4,000クラスター（RNA断片）となりました（表1）。

表1：性能評価のために使用したカスタムRNA濃縮パネル

パネル	プローブ数	パネルターゲットサイズ（bp）	カスタムパネルの説明	データ解析時のダウンサンプリング[a]	
				クラスター/サンプル[b]	クラスター/遺伝子[b]
20遺伝子	792	50,850	ストレス反応に関与する転写因子とスプライシング因子	68,000	3,000
42遺伝子	1,770	128,195	がん関連遺伝子（79遺伝子パネルおよび109遺伝子パネルに含まれる遺伝子の一部）	171,000	4,000
79遺伝子	3,302	247,951	がん研究と関連する遺伝子	331,000	4,000
109遺伝子	3,794	292,896	がんおよび融合遺伝子ターゲットと関連する遺伝子	391,000	4,000

a. 各パネルについて、平均ターゲットカバレッジのリード深度が400 ×となるようにダウンサンプリングして算出しました。
b. 値は1,000の位で四捨五入しています。

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。

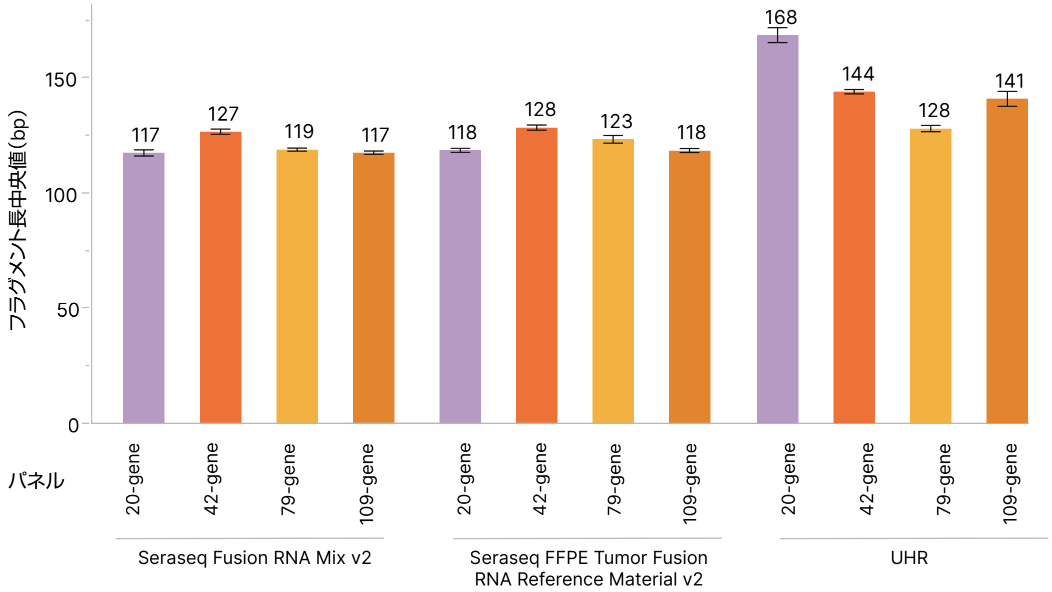

図2：Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentで観測された断片長の中央値

20～109の遺伝子を含む4種類のRNA濃縮パネルを評価しました（表1）。Seraseq Fusion RNA Mix v2（20 ng）、SeraSeq FFPE Tumor Fusion RNA Reference Material v2（20 ng）およびユニバーサルヒトリファレンス（UHR、10 ng）RNAサンプルを、NovaSeq 6000システムを用いて151 bp × 2のペアエンドリードでシーケンスし、データはDRAGEN解析用に101 bp × 2にトリミングしました。これらのサンプルの濃縮ハイブリダイゼーション時間は12時間（オーバーナイト）でした。データ解析は、DRAGEN Enrichmentアプリv4.3で実施しました。

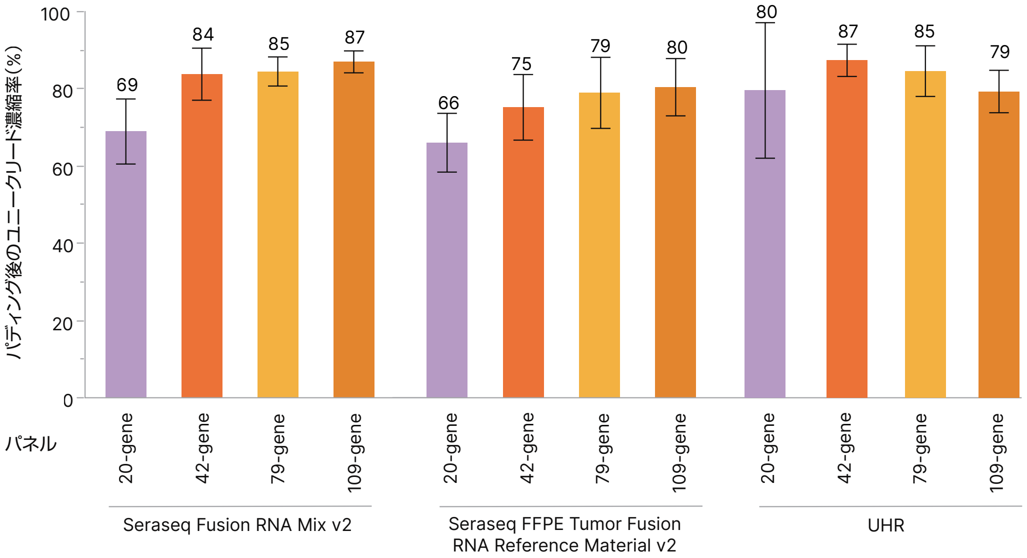

図3：Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentにおけるリード濃縮（padded）性能の評価

20～109の遺伝子を含む4種類のRNA濃縮パネルを評価しました（表1）。Seraseq Fusion RNA Mix v2（20 ng）、SeraSeq FFPE Tumor Fusion RNA Reference Material v2（20 ng）およびユニバーサルヒトリファレンス（UHR、10 ng）RNAサンプルを、NovaSeq 6000システムを用いて151 bp × 2のペアエンドリードでシーケンスし、データはDRAGEN解析用に101 bp × 2にトリミングしました。これらのサンプルの濃縮ハイブリダイゼーション時間は12時間（オーバーナイト）でした。データ解析は、DRAGEN Enrichmentアプリv4.3で実施しました。

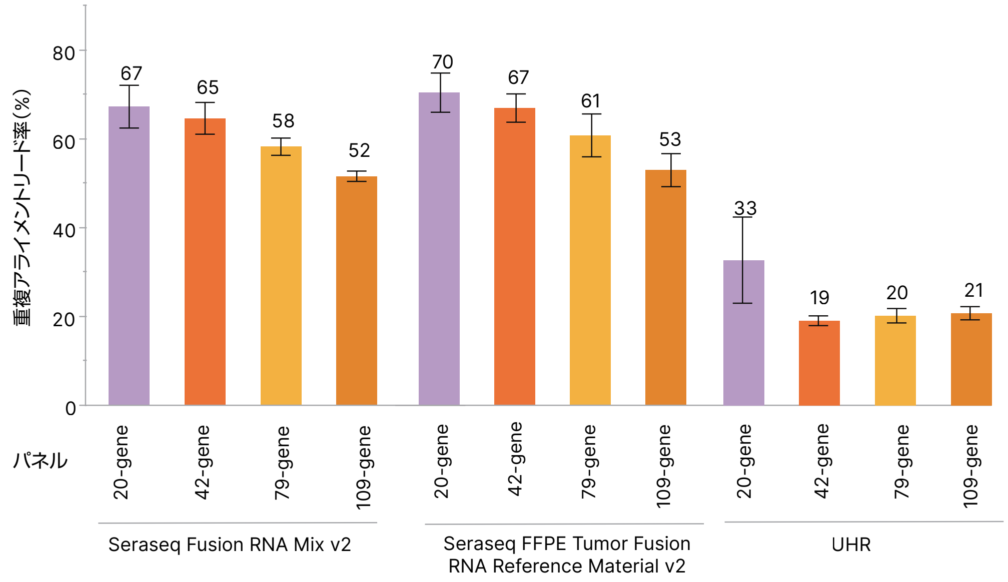

図4：Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentにおける重複リード濃縮性能の評価

20～109の遺伝子を含む4種類のRNA濃縮パネルを評価しました（表1）。Seraseq Fusion RNA Mix v2（20 ng）、SeraSeq FFPE Tumor Fusion RNA Reference Material v2（20 ng）およびユニバーサルヒトリファレンス（UHR、10 ng）RNAサンプルを、NovaSeq 6000システムを用いて151 bp × 2のペアエンドリードでシーケンスし、データはDRAGEN解析用に101 bp × 2にトリミングしました。これらのサンプルの濃縮ハイブリダイゼーション時間は12時間（オーバーナイト）でした。データ解析は、DRAGEN Enrichmentアプリv4.3で実施しました。

ターゲットカバレッジ

Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentは、RNA-Seq研究のニーズに応じて設計されたターゲット領域に、集中してカバレッジを提供します。FFPEサンプルにおいて平均カバレッジ400 ×を目標とした場合、パネルターゲットの70%以上が平均100 ×以上のカバレッジで、また80%以上が平均50 ×以上のカバレッジでカバーされました。これは、ターゲット間の遺伝子発現量の違いによって生じるカバレッジのばらつきを反映しています。

UHRコントロールは、10種類のヒト細胞株由来のトータルRNAを混合したサンプルであり、RNA-Seqアプリケーションにおいて広く使用されています。FFPEサンプルと異なり、UHRサンプルは多様な細胞タイプおよび遺伝子発現プロファイルを表し、ターゲットの80%以上で平均100 ×超のカバレッジ、さらに88%以上で平均50 ×超のカバレッジを達成しました（図5）。UHRリファレンスサンプルでは、パネル全体で平均400 ×のカバレッジをターゲットとした場合でも、平均100 ×以上のカバレッジを達成したターゲットは約80%のみでした。したがって、パネルのターゲット間およびサンプル内における遺伝子発現量のばらつきを考慮し、ほとんどのターゲットで期待する平均カバレッジを確保するには、それを上回るシーケンス深度を検討する必要があります。

イルミナでは、FFPEサンプルにおける体細胞バリアントの検出を目的としたカスタムRNA濃縮解析の場合は、1遺伝子あたり5,000以上のクラスター（または断片リード）を目標にすることを推奨しています。目標シーケンス深度要件を決定する際は、サンプル間の遺伝子発現のばらつきを考慮する必要があります。

発現RNAを特異的にターゲット

Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentは、Custom Enrichment Panel v2と組み合わせることで、RNA転写産物に対して高いオンターゲットの特異性を生み出します（図6）。本プローブの設計戦略では、新しいスプライスバリアントを検出できるよう、キャプチャープローブをスプライスジャンクションの直近に配置しています。その結果、スプライス前の転写産物に由来する、イントロン/エクソン境界を含むリードも捕捉されます。20～109の遺伝子を含むカスタムパネルでは、リードの85～90%がエクソン領域にマッピングされ、8～10%がイントロン/エクソン境界領域にマッピングされました。イントロンのみにマッピングされたリード、または遺伝子間領域にマッピングされたリードは、2～3%未満でした。イルミナでは、多様性の高いライブラリーと高いオンターゲット濃縮メトリクスを得るため、少なくとも20の遺伝子を含むカスタムパネルの設計を推奨しています。追加のターゲットを組み込んで、パネルの複雑性を高めることもできます。

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。

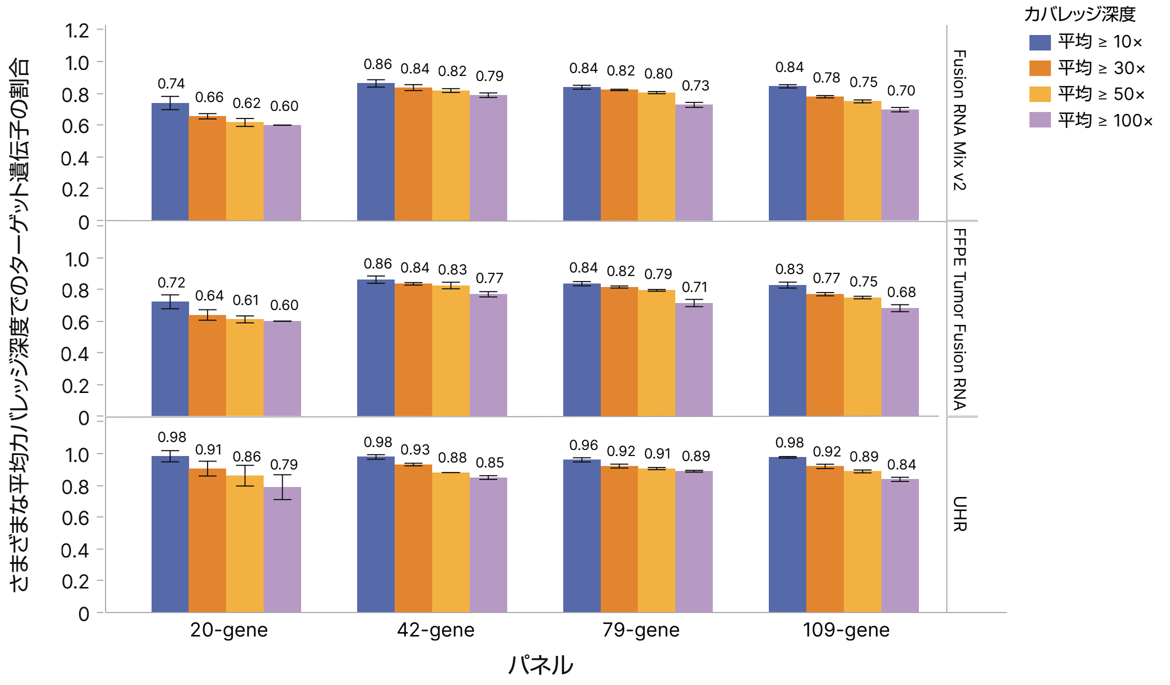

図5：Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentカスタムパネル遺伝子における各カバレッジ深度

20～109の遺伝子を含む4種類のRNA濃縮パネルを評価しました（表1）。Seraseq Fusion RNA Mix v2、Seraseq FFPE Tumor Fusion RNA Reference Material v2およびユニバーサルヒトリファレンス（UHR）RNAサンプルを、NovaSeq 6000システムを用いて151 bp × 2のペアエンドリードでシーケンスし、データはDRAGEN解析用に101 bp × 2にトリミングしました。これらのサンプルの濃縮ハイブリダイゼーション時間は12時間（オーバーナイト）でした。データ解析は、DRAGEN Enrichmentアプリv4.3で実施しました。

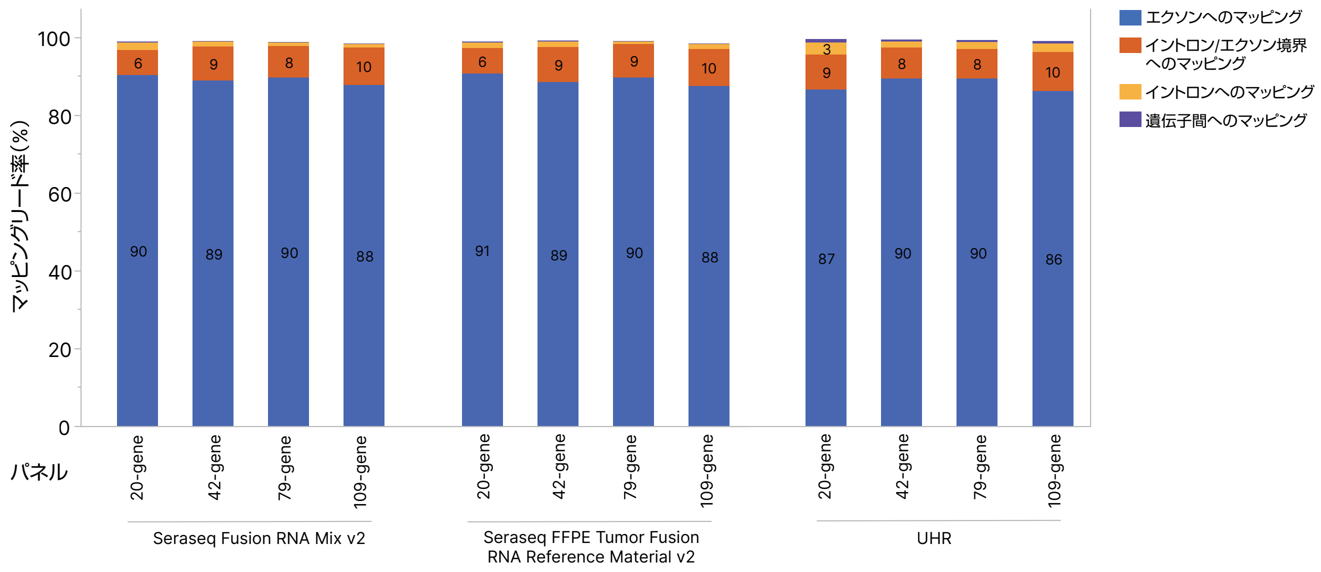

図6：遺伝子産物領域へのリードマッピング

エクソン領域へのアライメントメトリクスより、リードの90%以上がエクソンにアライメントし、95%以上が少なくとも部分的にエクソンにアライメントしていることから、イントロン/エクソン境界のリードも含まれていることが示されています。20～109の遺伝子を含む4種類のRNA濃縮パネルを評価しました（表1）。Seraseq Fusion RNA Mix v2、SeraSeq FFPE Tumor Fusion RNA Reference Material v2およびユニバーサルヒトリファレンス（UHR）RNAサンプルを、NovaSeq 6000システムを用いて101 bp × 2のペアエンドリードでシーケンスしました。これらのサンプルの濃縮ハイブリダイゼーション時間は12時間（オーバーナイト）でした。データ解析は、DRAGEN Enrichmentアプリv4.3で実施しました。

高精度な遺伝子融合検出

パネルの適切な設計により、Illumina Rapid RNA Prep with EnrichmentとIllumina Custom Enrichment Panel v2を使用して、遺伝子融合を高精度に検出することができます。融合遺伝子の検出には、20 ngのSeraSeq Fusion Reference Material v2またはSeraSeq FFPE Tumor Fusion RNA Reference Material v2を使用し、NovaSeq 6000システムを用いて101 bp × 2のペアエンドリードでシーケンスしました。

109遺伝子カスタムパネルにより、SeraSeq Fusion Reference Material v2およびSeraSeq FFPE Tumor Fusion RNA Reference Material v2サンプルに既知の遺伝子融合を正確に検出することができました（表2）。これらのリファレンスサンプルには、109遺伝子パネルには含まれていない*TMPRSS2-ERG*遺伝子融合が含まれており、このパネルのネガティブコントロールとして使用できます。

SNVおよびIndelの検出

Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentは、品質の異なる各サンプルにおいて、ターゲットSNVおよびIndelの検出が可能です。多様な遺伝子発現プロファイルを有するUHRサンプルを、NovaSeq 6000システムでシーケンスした結果、SeraSeq Fusion Reference Material v2およびSeraSeq FFPE Tumor Fusion RNA Reference Material v2と比較して、より多くのスモールバリアントが検出されました（表3）。

表2：リファレンスサンプル中のIllumina Rapid RNA Prep with Enrichmentによる融合遺伝子検出

遺伝子融合	109遺伝子パネルを用いた9回のレプリケートにおける検出		パネルに含まれる
	Seraseq Fusion RNA Mix v2	Seraseq FFPE Tumor Fusion RNA Reference Material v2	
EML4-ALK	9/9	9/9	含む
KIF5B-RET	9/9	9/9	含む
NCOA4-RET	9/9	9/9	含む
CD74-ROS1	9/9	9/9	含む
SLC34A2-ROS1	7/9	3/9	含む
TPM3-NTRK1	9/9	9/9	含む
FGFR3-BAIAP2L1	9/9	9/9	含む
PAX8-PPARG	9/9	9/9	含む
FGFR3-TACC3	9/9	9/9	含む
ETV6-NTRK3	9/9	9/9	含む
LMNA-NTRK1	9/9	9/9	含む
SLC45A3-BRAF	9/9	9/9	含む
TMPRSS2-ERG[b]	0/9	1/9	含まない
EGFR-SEPT14	9/9	9/9	含む

a. 109遺伝子カスタムパネルおよびSeraSeq Fusion Reference Material v2サンプルを使用して調製したライブラリーのシーケンスは、NovaSeq 6000システムを用いて、101 bp × 2ペアエンドリードでシーケンスしました。

b. *TMPRSS2-ERG*融合遺伝子は、リファレンスサンプルには含まれていますが、109遺伝子カスタムパネルのターゲットには含まれていないため、ネガティブコントロールとして使用できます。

表3：DRAGEN Enrichmentアプリを使用して同定した平均バリアント[a]

	SeraSeq Fusion Reference Material v2		Seraseq FFPE Tumor Fusion RNA Reference Material v2		UHR	
パネル	SNV	Indel	SNV	Indel	SNV	Indel
20遺伝子	12	2	14	3	35	2
42遺伝子	35	18	37	18	69	22
79遺伝子	64	38	69	34	118	42
109遺伝子	72	36	74	39	107	34

a. 各サンプルタイプについて、9サンプルの平均値から算出しています。

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。

すべてのRNA濃縮アプリケーションに対応する、柔軟なカスタムパネル設計

Illumina Custom Enrichment Panel v2が使えることで、必要なターゲット領域を必要なリード深度でカバーできる柔軟性が実現し、これにより、腫瘍学、免疫学、感染症研究などのさまざまな分野における高度な研究デザインに対応可能になりました。

キットはモジュール構成で提供され、シングルプレックスハイブリダイゼーション反応用の16サンプル構成、または32回の3プレックスハイブリダイゼーション反応用の96サンプル構成のEnrichment試薬を使用できます。ライブラリー調製モジュールと濃縮モジュールは、それぞれ個別に購入でき、さまざまなプレックス構成の濃縮に対応しています。推奨されていないプレックス設定を使用する場合は、検証とプロトコールの調整が必要となる場合があります。

まとめ

Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentは、ターゲットRNA-Seqのための効率的なソリューションとシンプルで迅速なワークフローを提供します。分解サンプルをはじめとするさまざまなインプットに対して優れた柔軟性を発揮し、わずか1 ngのインプット量にも対応しています。モジュール設計により、柔軟性の高いカスタム濃縮コンテンツや固定パネルを用いた幅広いRNA-Seqアプリケーションに対応し、アリル特異的発現、融合遺伝子検出、バイオマーカー探索など、さまざまな解析を実現します。

Illumina Rapid RNA Prep with Enrichmentは、イルミナのシーケンスシステム、二次解析用のDRAGEN RNAアプリケーション、さらに生物学的解釈および視覚化のためのIllumina Connected Multiomicsを含む、エンドツーエンドのRNAシーケンスおよび解析ワークフローの一部です。

詳細はこちら ⟶

Illumina Rapid RNA Prep with Enrichment

Illumina Custom Enrichment Panel v2

DesignStudioアッセイデザインツール情報

DesignStudioアッセイデザインツール

DRAGEN RNAアプリ

DRAGEN Differential Expressionアプリ

Illumina Connected Multiomicsアプリ

製品情報

製品	カタログ番号
Illumina Rapid RNA Prep, (S) Tagmentation (16 samples)	20158823
Illumina Rapid RNA Prep, (S) Tagmentation (96 samples)	20158824
Illumina RNA Fast Hyb Enrichment (16 samples)	20040540
Illumina RNA Fast Hyb Enrichment (96 samples)	20040541
Illumina RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20091655
Illumina RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20091657
Illumina RNA UD Indexes Set C, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20091659
Illumina RNA UD Indexes Set D, Ligation (96 indexes, 96 samples)	20091661
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (32 µl, 120 bp)[c]	20073953
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (384 µl, 120 bp)[c]	20073952
Illumina Custom Enrichment Panel v2 (1536 µl, 120 bp)[c]	20111339
Illumina Purification Beads, 30 ml[d]	20119944
Illumina Purification Beads, 100 ml[d]	20060057
Illumina Purification Beads, 400 ml[d]	20060058

a. 本キットには、1-plex、濃縮反応16回分の試薬が含まれます。

b. 本キットには、3-plex、濃縮反応32回分の試薬が含まれます。

c. ヒトを対象としたカスタム濃縮パネルは、無料のオンラインデザインツールであるIllumina DesignStudioポータルを利用して設計できます。ヒト以外のコンテンツの設計サポートは、イルミナコンシェルジュデザインチームを通じてご利用いただけます。コンシェルジュデザインサービスの詳細については、弊社担当営業にお問い合わせください。

d. Illumina Purification Beadsは、Illumina Rapid RNA Prepキットに含まれていますが、ライブラリーの追加精製や精製アプリケーション用に大容量製品を別途購入することも可能です。

参考文献

1. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature*. 2008;456:53-59. doi: 10.1038/nature07517.

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。

Pub. No. M-GL-04289 v1.0-JPN 22JUL2026