



微生物ゲノム・プロファイリングの論文紹介

簡単に包括的なメタゲノム解析 微量核酸からの全ゲノム解析

バイアスを最小限にした NGS ライブラリー試薬で
はじめませんか？

QIAseq® FX DNA Library Kit は、酵素法により GC バイアスを最小限にした Illumina® 社シーケンサーに対応した全ゲノムシーケンス解析を可能にします。断片化と平滑末端化、A 末端付加まで 1 ステップで行うことができ、多検体の微生物ゲノムのプロファイリングに最適です。

NGS による微生物ゲノム解析ソリューション

微生物ゲノム全容の解明には、NGS 技術が必要不可欠です。

本論文集においては、最新論文からその応用例を取り上げ、新型コロナウイルス全ゲノム解析、薬剤耐性菌の検出、インフルエンザウイルスまたは都市型メタゲノム解析への活用方法などを紹介します。

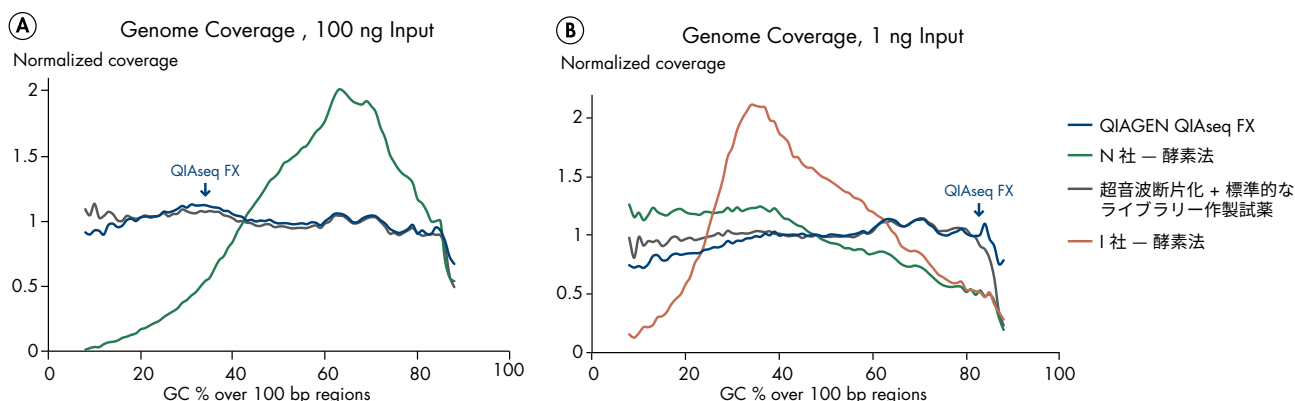
QIAseq FX DNA Library Kit

バイアスを最小限にした酵素法による全ゲノムシーケンス解析に最適なライブラリー試薬



- わずか 2.5 時間の簡便なワークフロー
- バイアスを最小限にすることで、均一なカバレッジを取得可能
- Unique Dual Index (UDI) アダプター対応で、最大 384 サンプルのマルチプレックスが可能
- 実験デザインに合わせて断片化サイズ、インプット量、サンプル処理数を柔軟に調整可能
- 20 pg ~ 1 µg までの幅広いインプット DNA 量に対応

QIAseq FX DNA Library Kit は、酵素法に基づいた簡便なライブラリー調製試薬です。3 ステップのシンプルなプロトコルにより、ラン間の誤差を最小限にします。本キットは、24 または 96 サンプルフォーマットに対応しており、QIAseq Unique Dual Index Y-Adapter Kits と組み合わせることで最大 384 サンプルのマルチプレックスを可能にします（イルミナシーケンサー対応）。



GC 含量によるバイアスのない断片化

QIAseq FX DNA Library Kit は、超音波断片化法と同等の GC バイアスのない断片化が可能である。

A : 100 ng の gDNA の場合、QIAseq FX DNA Library Kit (青色) は超音波断片化法 (黒色) と同等に GC% に依らない均一なカバレッジが得られた。N 社の酵素法 (緑色) では 高 GC% にカバレッジが偏っていることを示している。

B : 1 ng の gDNA の場合、**A** の結果と同様に QIAseq FX DNA Library Kit (青色) と超音波断片化法 (黒色) ではバイアスの無いカバレッジが得られた。一方、I 社の酵素法では、GC 含量 30% 周辺にカバレッジが偏っていることを示している。

REPLI-g® Single Cell Kit

シングルセルあるいは限られたサンプル量からの全ゲノム増幅 (WGA)

- シングルセルからの最大のゲノムカバレッジでの全ゲノム増幅
- MDA テクノロジーによりゲノム遺伝子座の偏りのない増幅
- 次世代シーケンシングのような新テクノロジーでの使用に最適
- 最大 40 µg までの一定した収量 (増幅産物長さの平均は >10 kb)
- がん研究やメタゲノミクスなど、多くのアプリケーションに最適なツール

REPLI-g Single Cell Kit と QIAseq FX DNA Library Kit が一体化されたキットとして、**QIAseq FX Single Cell DNA Library Kit** も提供しています。

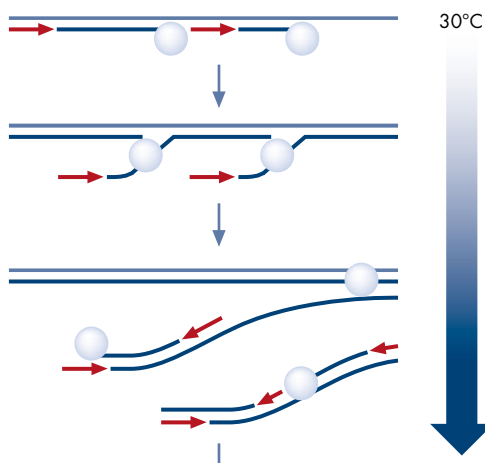


REPLI-g WTA Single Cell Kit

シングルセル由来のトータル RNA や mRNA の全トランスクリプトーム増幅

- シングルセルからでも全トランスクリプトームをカバー
- MDA テクノロジーによる配列のバイアスのほとんどない均一な WTA
- RNA-seq を含む新テクノロジーでの使用に最適
- トータル RNA あるいは Poly A 濃縮の mRNA の増幅
- がん、および幹細胞研究のための革新的なツール

REPLI-g WTA Single Cell Kit と QIAseq FX DNA Library Kit が一体化されたキットとして、**QIAseq FX Single Cell RNA Library Kit** も提供しています。



革新的なハイフィデリティ酵素 Phi29 ポリメラーゼにより増幅された長いフラグメント (2 ~ 70 kb)

Multiple Displacement Amplification (MDA) テクノロジー

プライマー (矢印) はテンプレート DNA にアニールし、Phi 29 ポリメラーゼにより 30°C で伸長する。ポリメラーゼは DNA テンプレート上を移動し相補鎖を置換し、複製の際のテンプレート自体になる。PCR 増幅とは異なり、MDA は異なる温度を必要とせず、変異率の低い非常に長いフラグメントが得られる。

論文要約

インフルエンザウイルスのゲノム解析における論文 / 新しい潮流

分離培養を経ずに試料から直接精製した核酸より得られた PCR 産物や、分離培養したウイルスから精製した微量な核酸を用いて NGS のライブラリー調製をします。この分析の流れは、ウイルスを分離培養し大量に増殖させる必要がないので、SARS-CoV-2 のゲノム解析にも利用されています。また、今後ウイルスの汎用的な分析法としてますます利用が進むと期待されます。

感染症治療薬の感受性低下に関わる変異の検出法開発

治療薬耐性インフルエンザウイルスの出現を監視するために、感受性低下に関わる変異を対象とした RNase H2 依存型 PCR (rhPCR) を用いた 3 種類の迅速かつ簡便な検出法を開発した。

検出に用いるプライマー設計に必要な遺伝子配列領域を特定するために、ウイルス RNA から感染症治療薬の感受性低下に関わる変異を含む特定の遺伝子 (約 2.2 kb) を逆転写 PCR で得た。この長鎖逆転写 PCR 産物からのライブラリー調製には、ショートリードシーケンサーに必要な DNA の断片化が容易な QIAseq FX DNA Library Kit が使用されている¹³⁾。

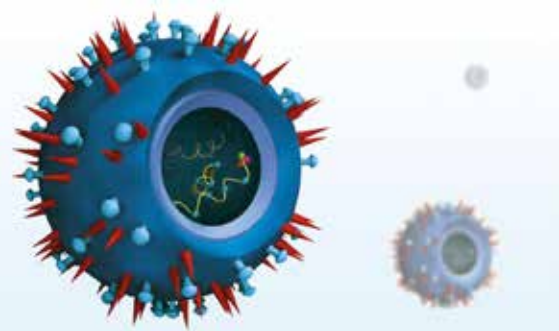
渡り鳥の大陸間移動が引き起こす新規ウイルス株の出現

韓国で新たに分離された株と既存の分離株の比較ゲノム解析から、渡り鳥の大陸間移動が A 型インフルエンザウイルスの H1N1 亜型の新規ウイルス株の出現を引き起こすという説を支持する結果が得られた。これにより、渡り鳥などにおけるインフルエンザウイルスのサーベランスを強化する必要性が指摘された。

渡り鳥の新鮮な糞から分離培養された、新規ウイルス株より精製した微量のウイルス RNA から、QIAseq FX Single Cell RNA Library Kit を使用して cDNA 増幅とライブラリー調製を行った。その結果、微量な核酸サンプルからのシーケンシングでゲノム配列の決定が可能となっている¹⁴⁾。

13. Nakauchi M, Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Ogawa R, Morita H, Miura H, Saito S, Watanabe S, Odagiri T, Kageyama T. Rapid detection of an I38T amino acid substitution in influenza polymerase acidic subunit associated with reduced susceptibility to baloxavir marboxil. *Influenza Other Respir Viruses*. 2020;14:436-443. doi:10.1111/irv.12728

14. Trinh T-T, Duong BT, Nguyen ATV, Tuong HT, Hoang VT, Than DD, Nam S, Sung HW, Yun KJ, Yeo SJ, Park H. Emergence of Novel Reassortant H1N1 Avian Influenza Viruses in Korean Wild Ducks in 2018 and 2019. *Viruses*. 2021;13(1):30. doi:10.3390/v13010030



シングルセルシーケンスがもたらす複雑な微生物叢からのゲノム解析に関する論文

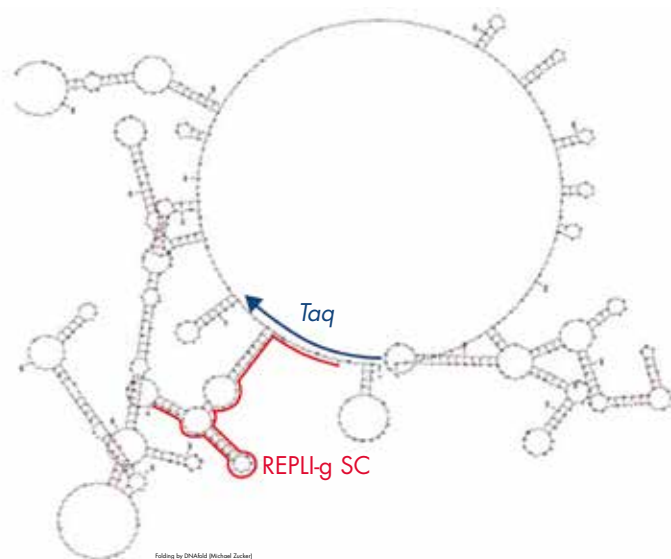
微生物のシングルセルシーケンス手法は、マイクロバイオーーム解析需要の高まりの中で、今後ますます重要性が高まることが期待されます。従来のメタゲノム解析手法では、複雑な微生物叢からゲノムを正確に再構築することが難しい課題とされてきたからです。この課題を解決するため、bitBiome® 社は早稲田大学の研究成果をもとに、bit-MAP® という革新的なシングルセルシーケンス手法を開発しました⁷³⁾。本手法の特長は以下の通りです。

- 独自のシングルセルソーティング法により、微生物叢からシングルセルを培養することなく、高精度にゲルカプセル内に単離できる。
- ゲルカプセル内でシングルセルを溶菌し、REPLI-g Single Cell Kit によりシングルセルゲノムを超並列的に全ゲノム増幅できる。
- 増幅されたゲルカプセルのみを分取し、シングルセルシーケンスのためのライブラリーを QIAseq FX DNA Library Kit で調製する。
- 独自のバイオインフォマティクス解析技術で、微生物ゲノムの再構築、詳細な機能解析、系統解析が実施可能⁷²⁾となる。

この手法により、従来のマイクロバイオーーム解析では困難とされていた、個々の微生物の機能解明を実現しています。また、ヒト常在微生物や環境微生物など、難培養性を含むあらゆるサンプルに対して応用可能です^{72, 73)}。

72. Arikawa K, Ide K, Kogawa M, et al.. Recovery of high-quality assembled genomes via metagenome binning guided with single-cell amplified genomes. *bioRxiv*. 2021.01.11.425816. doi:10.1101/2021.01.11.425816

73. bitBiome株式会社 | シングルセルゲノム解析bit-MAP® | bitBiome, Inc. <https://bitbiome.co.jp/technology/>



Taq ポリメラーゼは、二次的な DNA 構造に遭遇すると、合成を中断したり、スリッページを起こしたり、鋳型から解離したりすることがあります。その結果、不正確な DNA 増幅、不完全な遺伝子座のカバー、短い増幅産物などの問題が生じます。REPLI-g Kits で使用されている Phi 29 ポリメラーゼは、二次構造をほどこしながら、全ゲノムを正確で均一性高く増幅します。

世界 60 都市における都市型メタゲノムに関する論文

都市型メタゲノム解析のような広範囲における微生物モニタリングの重要性は、2019 年から世界中で流行している新型コロナウイルス感染症（COVID-19）でも明らかとなりました。

本論文は、The Metagenomics and Metadesign of the Subways and Urban Biomes 国際コンソーシアム (MetaSUB) による大規模なプロジェクトの報告となります。2015 ～ 2017 年の 3 年間で、世界 60 都市の人工環境（地下鉄の駅など）の表面から採取された 4,728 の微生物サンプルをメタゲノム解析しました。

このメタゲノム解析のライブラリー調製には、QIAseq FX DNA Library Kit が用いられました。新たな感染症や薬剤耐性菌などを流行させないためにも、このような大規模なメタゲノム解析を行ったデータの蓄積が期待されています。本論文で明らかになったことは以下となります。

- 都市部の微生物群は土壌微生物群、ヒトの常在微生物群とは生態学的に異なった。
- 既知の微生物 4,246 種が同定され、そのうち 31 種類 (*Cutibacterium acnes*, *Staphylococcus hominis*, *Streptococcus mitis* など) は、ほぼ全ての都市で検出された。
- 気候や地理的な違いにより、生息する微生物群が異なり、特に赤道から離れるにつれ微生物の分類学的多様性が減少することが確認された。
- 薬剤耐性遺伝子が検出される頻度も都市によって大きく違いがあり、特にオセアニアと中東ではその頻度は低かった。検出頻度の多かった薬剤耐性遺伝子は、マクロライド系抗菌薬および β -ラクタム系抗生物質に対するものであった。



特に薬剤耐性遺伝子の検出頻度については、都市間における抗生物質の使用頻度の違い、あるいは世界各地における固有の微生物群を反映した結果であると考えられます。

以上の研究成果は、MetaSUB Map (<http://metasub.org/map/>) として WEB 上で公開されており、医師、公衆衛生学者、政府関係者、科学者が、疫学的なリスクや傾向を追跡、診断、予測する際に役立つことが期待されています⁴³⁾。

43. Danko D, Bezdan D, Afshin EE, et al; The International MetaSUB Consortium. A global metagenomic map of urban microbiomes and antimicrobial resistance. *Cell*. 2021;184:3376–3393. doi:10.1016/j.cell.2021.05.002

ゲノム解析で読み解く、真菌性新興感染症のアウトブレイクに関する論文

Candida auris は、2009 年に報告された *Candida* 属の新種で、カンジダ血症といった重篤な侵襲性感染症を引き起こし、感染患者の致死率が高いばかりか、フルコナゾールなど複数の抗真菌薬に対して多剤耐性であることから、院内感染からアウトブレイクを起こします。

2016 年には米国疾病管理予防センター（CDC）や英国公衆衛生庁（PHE）といった各国公衆衛生当局から警告が発出され、国内でも *C. auris* のモニタリングが重要視されています。

本論文では、国内で分離された 7 菌株の *C. auris* について全ゲノム解析が行われ、本邦で分離された菌株からは初めてとなる、高品質なドラフトゲノム配列が構築されました。本論文の主な要点は以下になります。

- 染色体およびミトコンドリア DNA のドラフトゲノム配列の構築を目的としたロングリードシーケンス用のライブラリー調製には、SMRTbell Template Prep Kit 1.0 (PacBio®) を使用した。
- より高品質な全ゲノム配列構築のためのエラー修正などを目的としたショートリードシーケンス用のライブラリー調製には、QIAseq FX DNA Library Kit (QIAGEN®) を使用した。
- 日本と世界の菌株間の比較ゲノム解析から、日本を含む東アジアにおける *C. auris* の遺伝的背景はその他地域のものとは異なり、抗真菌薬に対する耐性機構において特異的な遺伝的変異を有することが示唆される。

今後も国内において臨床分離された *C. auris* のゲノム配列を読み解くことは、カンジダ血症の管理や薬剤耐性菌の対応に貢献することが期待されます⁶¹⁾。

61. Sekizuka T, Iguchi S, Umeyama T, et al. Clade II *Candida auris* possess genomic structural variations related to an ancestral strain. *PLoS One*. 2019;14(10):e0223433. doi:10.1371/journal.pone.0223433



参考文献

生物種

新型コロナウイルス

1. Dhar MS, Asokachandran V, Uppili B, et al. Reinfection or reactivation: Genome-based two distinct SNP profile of SARS-CoV2 repositivity in an Indian case. *J Med Virol.* 2021;93(7):4152–4155. doi:10.1002/jmv.26948B
2. Itokawa K, Sekizuka T, Hashino M, Tanaka R, Kuroda M. Disentangling primer interactions improves SARS-CoV-2 genome sequencing by multiplex tiling PCR. *PLoS One.* 2020;15(9):e0239403. doi:10.1371/journal.pone.0239403
3. Ko K, Nagashima S, E B, et al. Molecular characterization and the mutation pattern of SARS-CoV-2 during first and second wave outbreaks in Hiroshima, Japan. *PLoS One.* 2021;16(2):e0246383. doi:10.1371/journal.pone.0246383
4. Paul D, Jani K, Kumar J, et al. Phylogenomic analysis of SARS-CoV-2 genomes from western India reveals unique linked mutations. *bioRxiv.* 2020.07.30.228460. doi:10.1101/2020.07.30.228460
5. Silva MSD, Demoliner M, Hansen AW, et al. Early detection of SARS-CoV-2 P.1 variant in Southern Brazil and reinfection of the same patient by P.2. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2021;63:e58. doi:10.1590/S1678-9946202163058
6. Sekizuka T, Itokawa K, Hashino M, et al. A Genome Epidemiological Study of SARS-CoV-2 Introduction into Japan. *mSphere.* 2020;5(6):e00786–20. doi:10.1128/mSphere.00786-20
7. Sekizuka T, Itokawa K, Kageyama T, et al. Haplotype networks of SARS-CoV-2 infections in the Diamond Princess cruise ship outbreak. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020;117(33):20198–20201. doi:10.1073/pnas.2006824117
8. Sekizuka T, Kuramoto S, Nariyai E, et al. SARS-CoV-2 Genome Analysis of Japanese Travelers in Nile River Cruise. *Front Microbiol.* 2020;11:1316. doi:10.3389/fmicb.2020.01316

インフルエンザウイルス

9. Berry IM, Treangen T, Fung C, et al. High confidence identification of intra-host single nucleotide variants for person-to-person influenza transmission tracking in congregate settings. *bioRxiv.* 2021.07.01.450528. doi:10.1101/2021.07.01.450528
10. Daniels RS, Tse H, Ermetal B, et al. Molecular Characterization of Influenza C Viruses from Outbreaks in Hong Kong SAR, China. *J Virol.* 2020;94(21):e01051–20. doi:10.1128/JVI.01051-20
11. Manasatienkij W, Chinnawirotpaisan P, Kittichotirat W, et al. Genetic characterization of influenza A(H3N2) viruses from vaccinated and unvaccinated children during Thailand 2013 and 2014 influenza seasons. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2019;50(1):101–119.
12. Mekata H, Yamamoto M, Hamabe S, et al. Molecular epidemiological survey and phylogenetic analysis of bovine influenza D virus in Japan. *Transbound Emerg Dis.* 2018;65(2):e355–e360. doi:10.1111/tbed.12765
13. Nakauchi M, Takashita E, Fujisaki S, et al. Rapid detection of an I38T amino acid substitution in influenza polymerase acidic subunit associated with reduced susceptibility to baloxavir marboxil. *Influenza Other Respir Viruses.* 2020;14(4):436–443. doi:10.1111/IRV.12728
14. Trinh T-T, Duong BT, Nguyen ATV, et al. Emergence of Novel Reassortant H1N1 Avian Influenza Viruses in Korean Wild Ducks in 2018 and 2019. *Viruses.* 2021;13(1):30. doi:10.3390/v13010030

アデノウイルス

15. Athukorala A, Forwood JK, Phalen DN, Sarker S. Molecular Characterisation of a Novel and Highly Divergent Passerine Adenovirus 1. *Viruses.* 2020;12(9):1036. doi:10.3390/v12091036
16. Hermida Lorenzo RJ, Cadar D, Koundouno FR, et al. Metagenomic Snapshots of Viral Components in Guinean Bats. *Microorganisms.* 2021;9(3):599. doi:10.3390/microorganisms9030599
17. Hughes JJ, Yang Y, Fries AC, et al. Complete Genome Sequences of Two Human Adenovirus Type 55 Isolates from South Korea and the United States. *Microbiol Resour Announc.* 2021;10(5):e01347-20. doi:10.1128/MRA.01347-20

大腸菌

18. Aoki H, Masahiro Y, Shimizu M, Hongoh Y, Ohkuma M, Yamagata Y. Agarose gel microcapsules enable easy-to-prepare, picolitre-scale single-cell genomics, yielding near-complete genome sequences. *Res Sq.* doi:10.21203/rs.3.rs-147972/v1
19. Bodendoerfer E, Marchesi M, Imkamp F, Courvalin P, Böttger EC, Mancini S. Co-occurrence of aminoglycoside and β -lactam resistance mechanisms in aminoglycoside- non-susceptible *Escherichia coli* isolated in the Zurich area, Switzerland. *Int J Antimicrob Agents.* 2020;56(1): 106019. doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.106019
20. Galarce N, Sánchez F, Escobar B, et al. Genomic Epidemiology of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolated from the Livestock-Food-Human Interface in South America. *Animals (Basel).* 2021;11(7):1845. doi:10.3390/ani11071845

21. Mancini S, Marchesi M, Imkamp F, et al. Population-based inference of aminoglycoside resistance mechanisms in *Escherichia coli*. *EBioMedicine*. 2019;46:184–192. doi:10.1016/j.ebiom.2019.07.020
22. Pavez-Muñoz E, González C, Fernández-Sanhueza B, et al. Antimicrobial Usage Factors and Resistance Profiles of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in Backyard Production Systems From Central Chile. *Front Vet Sci*. 2021;7:595149. doi:10.3389/fvets.2020.595149
23. Stromberg ZR, Goor AV, Redweik GA, Brand MW, Wannemuehler MJ, Mellata M. Pathogenic and non-pathogenic *Escherichia coli* colonization and host inflammatory response in a defined microbiota mouse model. *Dis Model Mech*. 2018;11(11):dmm035063. doi:10.1242/dmm.035063

結核菌

24. Hang NT, Hijikata M, Maeda S, et al. Phenotypic and genotypic features of the *Mycobacterium tuberculosis* lineage 1 subgroup in central Vietnam. *Sci Rep*. 2021;11:13609. doi:10.1038/s41598-021-92984-5
25. Katala BZ, Mbelele PM, Lema NA, et al. Whole genome sequencing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates and clinical outcomes of patients treated for multidrug-resistant tuberculosis in Tanzania. *BMC Genomics*. 2020;21:174. doi:10.1186/s12864-020-6577-1
26. Khan AS, Phelan JE, Khan MT, et al. Characterization of rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Sci Rep*. 2021;11:14194. doi:10.1038/s41598-021-93501-4
27. Phelan JE, Lim DR, Mitarai S, et al. *Mycobacterium tuberculosis* whole genome sequencing provides insights into the Manila strain and drug-resistance mutations in the Philippines. *Sci Rep*. 2019;9:9305. doi:10.1038/s41598-019-45566-5
28. Takii T, Seki K, Wakabayashi Y, et al. Whole-genome sequencing-based epidemiological analysis of anti-tuberculosis drug resistance genes in Japan in 2007: Application of the Genome Research for Asian Tuberculosis (GReAT) database. *Sci Rep*. 2019;9:12823. doi:10.1038/s41598-019-49219-5

糸状菌

29. Al Abdallah Q, Souza ACO, Martin-Vicente A, Ge W, Fortwendel JR. Whole-genome sequencing reveals highly specific gene targeting by in vitro assembled Cas9-ribonucleoprotein complexes in *Aspergillus fumigatus*. *Fungal Biol Biotechnol*. 2018;5:11. doi:10.1186/s40694-018-0057-2
30. Ho BS, Ho EXP, Chu CW, et al. Microbiome in the hair follicle of androgenetic alopecia patients. *PLoS One*. 2019;14(5):e0216330. doi:10.1371/journal.pone.0216330
31. Tourlousse DM, Narita K, Miura T, et al. Validation and standardization of DNA extraction and library construction methods for metagenomics-based human fecal microbiome measurements. *Microbiome*. 2021;9(1):95. doi:10.1186/s40168-021-01048-3
32. Sekizuka T, Iguchi S, Umeyama T, et al. Clade II *Candida auris* possess genomic structural variations related to an ancestral strain. *PLoS One*. 2019;14(10):e0223433. doi:10.1371/journal.pone.0223433

アプリケーション

ヒトマイクロバイオーーム

33. Ho BS-Y, Ho EXP, Chu CW, et al. Microbiome in the hair follicle of androgenetic alopecia patients. *PLoS ONE*. 2019;14(5):e0216330. doi:10.1371/journal.pone.0216330
34. Hu S, Png E, Gowans M, et al. Ectopic gut colonization: a metagenomic study of the oral and gut microbiome in Crohn's disease. *Gut Pathog*. 2021;13:13. doi:10.1186/s13099-021-00409-5
35. Rampelli S, Soverini M, D'Amico F, et al. Shotgun Metagenomics of Gut Microbiota in Humans with up to Extreme Longevity and the Increasing Role of Xenobiotic Degradation. *mSystems*. 2020;5(2):e00124-20. doi:10.1128/mSystems.00124-20
36. Takizawa S, Asano Ryoki, Fukuda Yasuhiro, et al. Change of Endoglucanase Activity and Rumen Microbial Community During Biodegradation of Cellulose Using Rumen Microbiota. *Front Microbiol*. 2020;11:3245. doi:10.3389/fmicb.2020.603818
37. Tourlousse DM, Narita K, Miura T, et al. Validation and standardization of DNA extraction and library construction methods for metagenomics-based human fecal microbiome measurements. *Microbiome*. 2021;9:95. doi:10.1186/s40168-021-01048-3

ヒト以外のマイクロバイオーーム

38. Fernández-Correa I, Truchado DA, Gomez-Lucia E, et al. A novel group of avian astroviruses from Neotropical passerine birds broaden the diversity and host range of Astroviridae. *Sci Rep*. 2019;9:9513. doi:10.1038/s41598-019-45889-3
39. Ho XY, Katermeran NP, Deignan LK, et al. Assessing the Diversity and Biomedical Potential of Microbes Associated with the Neptune's Cup Sponge, *Cliona patera*. *Front Microbiol*. 2021;12:1705. doi:10.3389/fmicb.2021.631445
40. Tomazatos A, Marschang RE, Maranda I, et al. Letea Virus: Comparative Genomics and Phylogenetic Analysis of a Novel Reassortant Orbivirus Discovered in Grass Snakes (*Natrix natrix*). *Viruses*. 2020;12(2):243. doi:10.3390/v12020243
41. Truchado DA, Diaz-Piqueras JM, Gomez-Lucia E, et al. A Novel and Divergent Gyrovirus with Unusual Genomic Features Detected in Wild Passerine Birds from a Remote Rainforest in French Guiana. *Viruses*. 2019;11(12):1148. doi:10.3390/v11121148

都市型メタゲノム

42. Afshinnkoo E, Meydan C, Chowdhury S, et al. Geospatial Resolution of Human and Bacterial Diversity with City-Scale Metagenomics. *Cell Syst.* 2015;1(1):72–87. doi:10.1016/j.cels.2015.01.001
43. Danko D, Bezdan D, Afshin EE, et al; The International MetaSUB Consortium. A global metagenomic map of urban microbiomes and antimicrobial resistance. *Cell.* 2021;184:3376–3393. doi:10.1016/j.cell.2021.05.002
44. Katagiri M, Kuroda M, Sekizuka T, et al. Metagenomic survey and whole genome sequencing of antimicrobial resistant bacteria in the sewage of a Japanese hospital. *Res Sq.* doi:10.21203/rs.3.rs-51067/v1
45. Sekizuka T, Itokawa K, Tanaka R, Hashino M, Yatsu K, Kuroda M. Characterization of urban wastewater treatment plant effluent from Tokyo using metagenomics and β -lactam-resistant Enterobacteriaceae isolates. *Res Sq.* doi:10.21203/rs.3.rs-52275/v1

環境メタゲノム

46. Chen Y, Neilson JW, Kushwaha P, Maier RM, Barberán A. Life-history strategies of soil microbial communities in an arid ecosystem. *ISME J.* 2021;15:649–657. doi:10.1038/s41396-020-00803-y
47. Detman A, Laubitz D, Chojnacka A, et al. Dynamics of dark fermentation microbial communities in the light of lactate and butyrate production. *Microbiome.* 2021;9:158. doi:10.1186/s40168-021-01105-x
48. Detman A, Laubitz D, Chojnacka A, et al. Dynamics and Complexity of Dark Fermentation Microbial Communities Producing Hydrogen From Sugar Beet Molasses in Continuously Operating Packed Bed Reactors. *Front Microbiol.* 2021;11:612344. doi:10.3389/fmicb.2020.612344
49. Hermida Lorenzo RJ, Cadar D, Koundouno FR, et al. Metagenomic Snapshots of Viral Components in Guinean Bats. *Microorganisms.* 2021;9(3):599. doi:10.3390/microorganisms9030599
50. Jiawei L, Wenning M, Jia W, et al. Performance and microbial communities of a novel integrated industrial-scale pulp and paper wastewater treatment plant. *J Clean Prod.* 2021;278: 123896. doi:10.1016/j.jclepro.2020.123896
51. Truchado DA, Llanos-Garrido A, Oropesa-Olmedo DA, et al. Comparative Metagenomics of Palearctic and Neotropical Avian Cloacal Viromes Reveal Geographic Bias in Virus Discovery. *Microorganisms.* 2020;8(12):1869. doi:10.3390/microorganisms8121869

薬剤耐性

52. Danko D, Bezdan D, Afshin EE, et al. A global metagenomic map of urban microbiomes and antimicrobial resistance. *Cell.* 2021;184(13):3376–3393. doi:10.1016/j.cell.2021.05.002
53. Ferreira L, Lepuschitz S, Beisen S, et al. Culture-Free Detection of Antibiotic Resistance Markers from Native Patient Samples by Hybridization Capture Sequencing. *Microorganisms.* 2021;9(8):1672. doi:10.3390/microorganisms9081672
54. Lieberman MT, Van Tyne D, Dzink-Fox J, Ma EJ, Gilmore MS, Fox JG. Long-Term Colonization Dynamics of Enterococcus faecalis in Implanted Devices in Research Macaques. *Appl Environ Microbiol.* 2018;84(18):e01336–18. doi:10.1128/AEM.01336-18
55. Nakanishi N, Nomoto R, Sato K, et al. Acquisition of antimicrobial-resistant variants in repeated infections caused by Pseudomonas aeruginosa revealed by whole genome sequencing. *J Infect Chemother.* 2019;25(2):154–156. doi:10.1016/j.jiac.2018.07.016
56. Katagiri M, Kuroda M, Sekizuka T, et al. Metagenomic survey and whole genome sequencing of antimicrobial resistant bacteria in the sewage of a Japanese hospital. *Res Sq.* 05 August 2020, PREPRINT (Version 1). doi:10.21203/rs.3.rs-51067/v1
57. Paveenkittiporn W, Lyman M, Biedron C, et al. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacterales in Thailand, 2016–2018. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2021;10(1):88. doi:10.1186/s13756-021-00950-7
58. Paveenkittiporn W, Kamjumphol W, Kerdin A. Draft Genome Sequence of Invasive Salmonella enterica Serovar Cannstatt Harboring mcr-1.1, Isolated from a Fatal Sepsis Case. *Microbiol Resour Announc.* 2021;10(8):e01270–20. doi:10.1128/MRA.01270-20
59. Pavez-Muñoz E, González C, Fernández-Sanhueza B, et al. Antimicrobial Usage Factors and Resistance Profiles of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli in Backyard Production Systems From Central Chile. *Front Vet Sci.* 2021;7:595149. doi:10.3389/fvets.2020.595149
60. Phelan JE, Lim DR, Mitarai S, et al. Mycobacterium tuberculosis whole genome sequencing provides insights into the Manila strain and drug-resistance mutations in the Philippines. *Sci Rep.* 2019;9(1):9305. doi:10.1038/s41598-019-45566-5
61. Sekizuka T, Iguchi S, Umeyama T, et al. Clade II Candida auris possess genomic structural variations related to an ancestral strain. *PLoS One.* 2019;14(10):e0223433. doi:10.1371/journal.pone.0223433
62. Yamada K, Aoki K, Nagasawa T, et al. Complete whole-genome sequence of the novel Pseudomonas species strain TUM18999, isolated from a patient with a burn wound in Japan. *J Glob Antimicrob Resist.* 2021;24:395–397. doi:10.1016/j.jgar.2021.01.020
63. Yamada K, Sasaki M, Murakami H, Aoki K, Morita T, Ishii Y, Tateda K. Evaluation of the simplified carbapenem inactivation method as a phenotypic detection method for carbapenemase-producing Enterobacterales. *J Microbiol Methods.* 2021 Aug;187:106273. doi: 10.1016/j.mimet.2021.106273. Epub 2021 Jun 23. PMID: 34157341.
64. Yu L, Kitagawa H, Kayama S, Hisatsune J, Ohge H, Sugai M. Complete Genome Sequence of Aeromonas caviae Strain MS6064, a mcr-3-Carrying Clinical Isolate from Japan. *Microbiol Resour Announc.* 2021;10(9):e01037–20. doi:10.1128/MRA.01037-20

MLST (Multi Locus Sequencing Typing)

65. Gideskog M, Welander J, Melhus Å. Cluster of *S. maltophilia* among patients with respiratory tract infections at an intensive care unit. *Infect Prev Pract.* 2020;2(4):100097. doi:10.1016/j.infpip.2020.100097
66. Imkamp F, Lauener FN, Pohl D, et al. Rapid Characterization of Virulence Determinants in *Helicobacter pylori* Isolated from Non-Atrophic Gastritis Patients by Next-Generation Sequencing. *J Clin Med.* 2019;8(7):1030. doi:10.3390/jcm8071030
67. Kuroda M, Sekizuka T, Matsui H, Ohsuga J, Ohshima T, Hanaki H. IS256-Mediated Overexpression of the WalkR Two-Component System Regulon Contributes to Reduced Vancomycin Susceptibility in a *Staphylococcus aureus* Clinical Isolate. *Front Microbiol.* 2019;10:1882. doi:10.3389/fmicb.2019.01882
68. Kuroda M, Sekizuka T, Matsui H, et al. Complete Genome Sequence and Characterization of Linezolid-Resistant *Enterococcus faecalis* Clinical Isolate KUB3006 Carrying a *cfr(B)*-Transposon on Its Chromosome and *optrA*-Plasmid. *Front Microbiol.* 2018;9:2576. doi:10.3389/fmicb.2018.02576
69. Lieberman MT, Van Tyne D, Dzink-Fox J, Ma EJ, Gilmore MS, Fox JG. Long-Term Colonization Dynamics of *Enterococcus faecalis* in Implanted Devices in Research Macaques. *Appl Environ Microbiol.* 2018;84(18):e01336-18. doi:10.1128/AEM.01336-18
70. Lepuschitz S, Weinmaier T, Mrazek K, Beissen S, Weinberger J, Posch AE. Analytical Performance Validation of Next-Generation Sequencing Based Clinical Microbiology Assays Using a K-mer Analysis Workflow. *Front Microbiol.* 2020;11:1883. doi:10.3389/fmicb.2020.01883

REPLI-gとの組み合わせ例

微量サンプル

71. Aoki H, Masahiro Y, Shimizu M, Hongoh Y, Ohkuma M, Yamagata Y. Agarose gel microcapsules enable easy-to-prepare, picolitre-scale single-cell genomics, yielding near-complete genome sequences. *Res Sq.* 02 February 2021, PREPRINT (Version 1). doi:10.21203/rs.3.rs-147972/v1
72. Arikawa K, Ide K, Kogawa M, et al.. Recovery of high-quality assembled genomes via metagenome binning guided with single-cell amplified genomes. *bioRxiv.* 2021.01.11.425816. doi:10.1101/2021.01.11.425816
73. bitBiome株式会社 | シングルセルゲノム解析bitMAP® | bitBiome, Inc. <https://bitbiome.co.jp/technology/>
74. Catherine BA, Eric DL. Single Cell Transcriptional Profiling of Phox2b-Expressing Geniculate Ganglion Neurons. *bioRxiv.* 812578. doi:10.1101/812578
75. Hosokawa M, Nishikawa Y, Kogawa M, Takeyama H. Massively parallel whole genome amplification for single-cell sequencing using droplet microfluidics. *Sci Rep.* 2017;7(1):5199. doi:10.1038/s41598-017-05436-4
76. Nguyen NM, Sung HW, Yun K-J, Park H, Yeo S-J. Genetic Characterization of a Novel North American-Origin Avian Influenza A (H6N5) Virus Isolated from Bean Goose of South Korea in 2018. *Viruses.* 2020;12(7):774. doi:10.3390/v12070774
77. Osman AM, Sun Y, Burns TC, et al. Radiation Triggers a Dynamic Sequence of Transient Microglial Alterations in Juvenile Brain. *Cell Rep.* 2020;31(9):107699. doi:10.1016/j.celrep.2020.107699
78. Touat M, Li YY, Boynton AN, et al. Mechanisms and therapeutic implications of hypermutation in gliomas. *Nature.* 2020;580(7804):517–523. doi:10.1038/s41586-020-2209-9

新型コロナウイルス

79. Hartley PD, Tillett RL, AuCoin DP, et al. Genomic surveillance of Nevada patients revealed prevalence of unique SARS-CoV-2 variants bearing mutations in the RdRp gene. *J Genet Genomics.* 2021;48(1):40–51. doi:10.1016/j.jgg.2021.01.004
80. Soratto TAT, Darban H, Bjerkner A, et al. Four SARS-CoV-2 Genome Sequences from Late April in Stockholm, Sweden, Reveal a Rare Mutation in the Spike Protein. *Microbiol Resour Announc.* 2020;9(35):e00934–20. doi:10.1128/MRA.00934-20

オーダーインフォメーション

製品名	Cat. no.
QIAseq FX DNA Library UDI Kits*	
QIAseq FX DNA Library UDI Kit (24)	180477
QIAseq FX DNA Library UDI-A Kit (96)	180479
QIAseq FX DNA Library UDI-B Kit (96)	180480
QIAseq FX DNA Library UDI-C Kit (96)	180481
QIAseq FX DNA Library UDI-D Kit (96)	180482
QIAseq FX DNA Library CDI Kits*	
QIAseq FX DNA Library CDI Kit (24)	180483
QIAseq FX DNA Library CDI Kit (96)	180484
QIAseq FX Single Cell DNA Library Kits*	
QIAseq FX Single Cell DNA Library Kit (24)	180713
QIAseq FX Single Cell DNA Library Kit (96)	180715
QIAseq FX Single Cell RNA Library Kits*	
QIAseq FX Single Cell RNA Library Kit (24)	180733
QIAseq FX Single Cell RNA Library Kit (96)	180735
REPLI-g Kits	
REPLI-g Single Cell Kit (24)	150343
REPLI-g Single Cell Kit (96)	150345
REPLI-g WTA Single Cell Kit (24)	150063
REPLI-g WTA Single Cell Kit (96)	150065

* QIAseq FX DNA Library UDI Kits、QIAseq FX DNA Library CDI Kits、QIAseq FX Single Cell DNA Library Kits、QIAseq FX Single Cell RNA Library Kits はイルミナ用インデックスを含みます

NGS ソリューションに関する詳細は www.qiagen.com/QIAseq-NGS-solutions をご覧ください。

記載の QIAGEN 製品は研究用です。疾病の診断、治療または予防の目的には使用することはできません。最新のライセンス情報および製品ごとの免責事項に関しては、ウェブサイト www.qiagen.com の “Trademarks and Disclaimers” をご覧ください。QIAGEN キットの Handbook および User Manual は www.qiagen.com から入手可能です。

Trademarks: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAseq®, REPLI-g® (QIAGEN Group); bitBiome®, bit-MAP® (bitBiome, Inc.); PacBio® (Pacific Biosciences of California, Inc.). 本文に記載の会社名および商品名は、各社の商標または登録商標です。

製品情報、仕様、カタログ番号 (Cat. no.)、価格等は予告なく変更する場合がございます。予めご了承ください。 2302750 09/2021 © 2021 QIAGEN, all rights reserved.

株式会社 キアゲン | 〒104-0054 | 東京都中央区勝どき 3-13-1 | Forefront Tower II
Tel: 03-6890-7300 | Fax: 03-5547-0818 | E-mail: techservice-jp@qiagen.com | www.qiagen.com