



Hi-Cシーケンス 受託解析サービス



Proximo™
Genome Scaffolding Platform

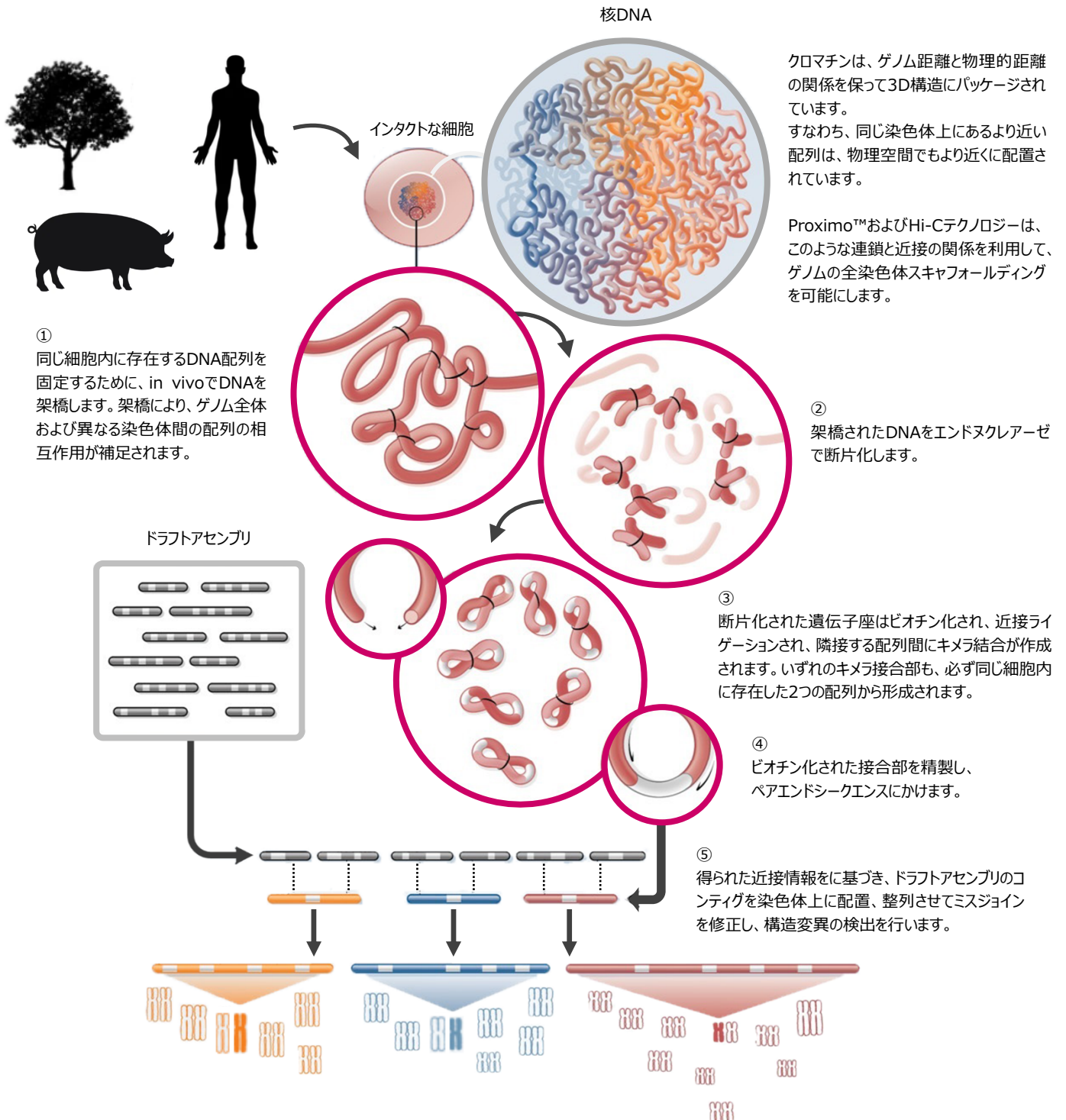
ProxiMeta™
Metagenome Deconvolution Platform

Proximo™ Genome Scaffolding 受託解析サービス

コンティグを染色体に変換

本サービスは、多様な動植物ゲノムにおいて、染色体スケールのスカフォールディングを行います。Chromosome Conformation Capture法の応用により、ホルムアルデヒド固定をした細胞・組織を用いて、クロスリンクしたクロマチンからDNAライブラリーを作製・シークエンスすることで、各染色体の連続性の情報を取得し、断片化しているコンティグから染色体スケールのスカフォールドを導きます。

テクノロジーの概要



Proximo™ Genome Scaffolding 受託解析サービス

ワークフロー

組織サンプル～解析データまでをフルサポートいたします。高分子量(HMW)DNAの抽出を必要としない合理化されたプロトコルで、様々な動植物に対応可能です。



※プラットフォーム：illumina NovaseqまたはHiseq

アプリケーション

高品質な参照ゲノムを組み立てる

ドラフトアセンブリを高品質のゲノムに変換します。Proximo™は、最も多く論文掲載されているHi-Cスキファールディング法であり、様々な種類のサンプルから、多様な種に対して高品質なend-to-endの染色体スキファールディングを生成します。Hi-CデータおよびProximoは、他の計算アプローチ(例えば、FALCON-Phase™)と統合して、「ゴールド」および「プラチナ」真核生物ゲノムの生成を可能にします。

Organism	Genome Assembly Size	Final Scaffolds	Scaffolded Length (%)	Starting (N50)	Final (N50)
Goat ¹	2.62 Gb	31	98.74	13.9 Mb	91.7 Mb
Hummingbird ²	1.41 Gb	37	99.51	5.4 Mb	38.0 Mb
Stickleback ³	446 Mb	21	97.52	87.5 kb	20.6 Mb
Amaranth ⁴	400 Mb	16	98.09	404 kb	24.1 Mb
Human ⁵	2.74 Gb	23	98.02	437 kb	125.7 Mb
Honey Bee ⁶	223 Mb	7	98.40	1.21 Mb	31.86 Mb
Clownfish ⁷	904 Mb	24	97.97	1.86 Mb	38.1 Mb
Black Raspberry ⁸	291 Mb	7	100.0	5.19 Mb	41.1 Mb
Firefly ⁹	473 Mb	10	94.64	175 kb	49.2 Mb

1: Bickhart et al. Nat. Genet. 2017; 49: 643.

2: Pennisi, Science 2017; 357: 10.

3: Peichel et al. J. Hered. 2017; 108: 693.

4: Lightfoot et al. BMC Biol. 2017; 15: 74.

5: Burton et al. Nat. Biotechnol. 2013; 31: 1119.

6: Wallberg et al. BMC Genomics 2019; 20: 275.

7: Lehmann et al. BioRxiv March 2018.

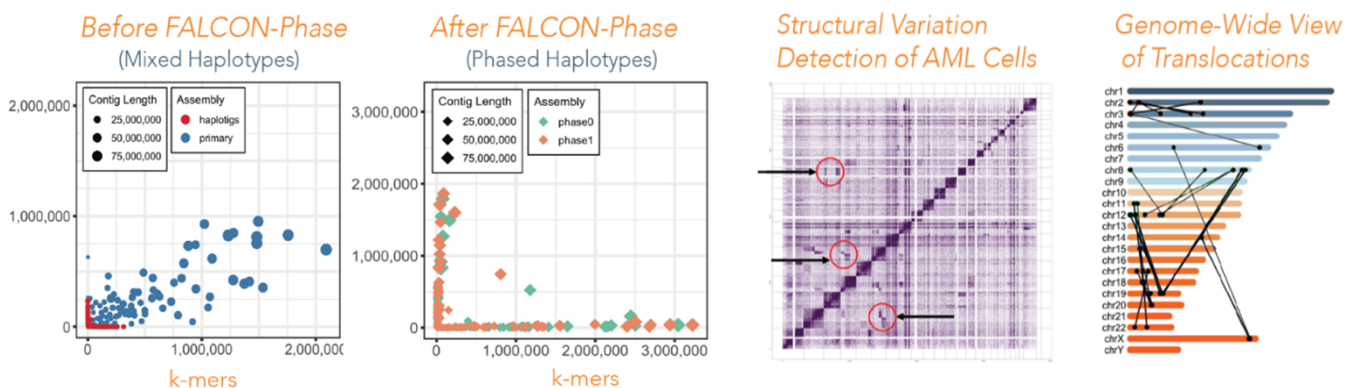
8: VanBuren et al. GigaScience 2018; 7: gij094.

9: Fallon et al. BioRxiv December 2017.

Proximo™で参照ゲノムが生成または改善された真核生物の詳細なリストについては、<http://phasegenomics.com/publications/#papers>をご覧ください。

プラスミドや抗生物質耐性遺伝子と宿主との関連付け

Hi-Cは、短距離と長距離の両方のゲノム連続性を捕捉します。Hi-Cシグナルは、ゲノム全体の任意の2つの遺伝子座間のゲノム距離が近くなるほど高くなります。FALCON-Phase™はこの情報を使用してゲノムをフェーズ化します。Proximo SVは、バランスのとれた転座、クロモソプシスおよび全ゲノムにわたるコピー数の変化を含む複雑な再構成を検出します。SNV、CNV、SV、およびフェーズデータを単一のライブラリー準備から収集します。

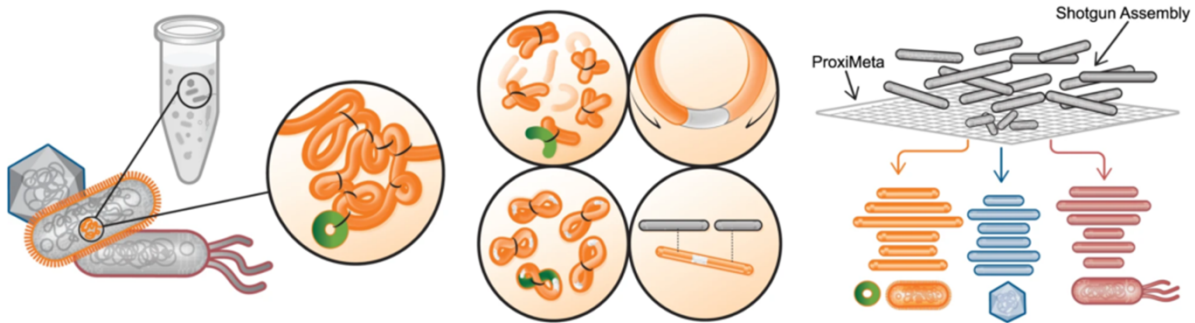


Proximoは、段階的なend-to-endの染色体スキファールドを生成することによって、がんのゲノムの複雑さと構造異常を捉えます。

ProxiMeta™ Metagenome Deconvolution受託解析サービス

複雑な微生物群集の全体像を取得

本サービスは、微生物群集内のインタクトな細胞内での近位のDNA相互作用を捉えた近接ライゲーションデータとショットリードまたはロングリードのショットガンシーケンスデータを組み合わせて、高品質のメタゲノムを構築します。培養することなく複雑な群集から多数の別々のゲノムをアセンブリし、可動遺伝因子を宿主に正確に割り当てることができ、16Sに基づく技術や従来のピニングを越えて、より多くの種、株、遺伝子、遺伝子機能を発見します。



ワークフロー

メタゲノムのクールドサンプルをお預かりし、ライブラリー調製～データ解析までのフルサービスです。微生物の培養や高分子量(HMW)DNAの抽出を必要としない合理化されたプロトコルで、さまざまな種類のメタゲノムサンプルに対し、堅牢な結果を提供します。



※プラットフォーム：illumina NovaseqまたはHiseq

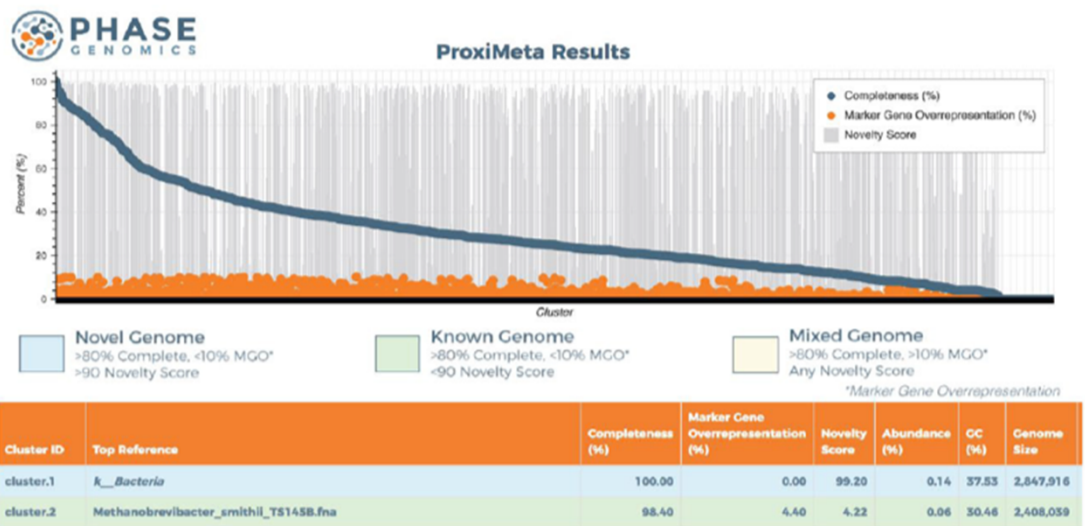
【サンプル～データ解析までのプロセス】

近接ライゲーション(Hi-C)ライブラリーは、クールドメタゲノムサンプルから直接調製されます。近接ライゲーションライブラリー調製ワークフローにより、Illumina®プラットフォームでのペアエンドシーケンス用のデュアルインデックスライブラリーが生成されます。ProxiMeta解析パイプラインは、近接ライゲーションリードとショットガンリード/コンティグを組み合わせて、サンプルをデコンポリューションし、高品質の真菌、細菌、ウイルスのゲノムと可動遺伝因子(ファージ、プラスミド、AMR遺伝子)を構築し、宿主属性とメタゲノム経路解析を実行します。

※解析に用いるショットガンシーケンスデータ/コンティグをご用意ください。ショットガンシーケンスは、ショートリードまたはロングリードプラットフォームで実施いただけます。なお、Hi-Cデータ取得と同じサンプルから抽出したDNAをご利用ください。

解析レポート例

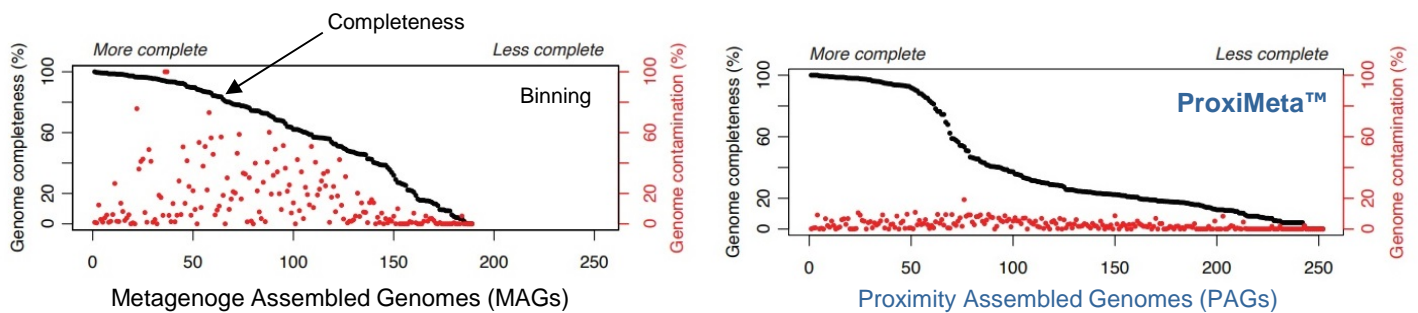
ProxiMetaは、単一のサンプルから新規微生物と既知の微生物の両方の完全なゲノムをデコンポリューションして組み立てます。



ProxiMeta™ Metagenome Deconvolution 受託解析サービス

何百もの高品質なゲノムを当て推量なしで組み立てる

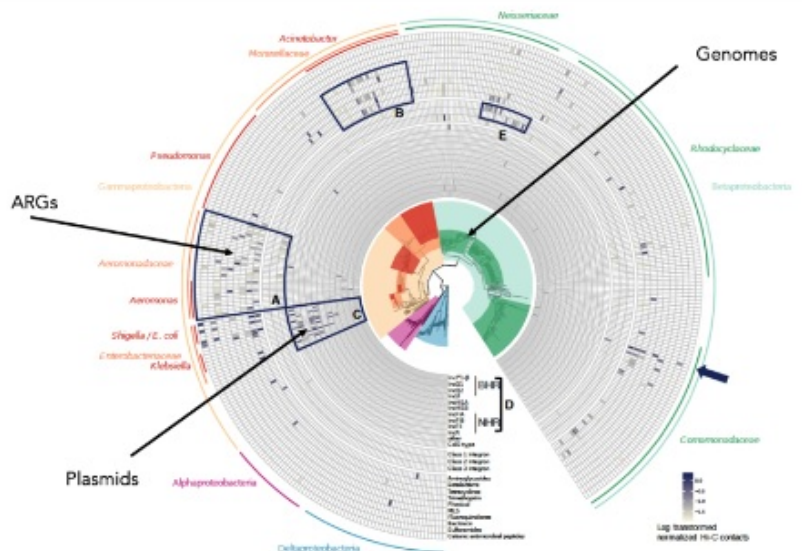
ビンニングによって生成されたMetagenome Assembled Genomes (MAGs)は、断片化および汚染を残したままである(左下図)一方、近接ライゲーションは、ビンニングとは異なり同一細胞内に存在する配列の直接的かつ物理的な証拠を提供します。ProxiMetaはこの情報を使用して、マイクロバイオーム集団の真核生物と原核生物の両方について近接アセンブリゲノムProximity-assembled genomes (PAGs)をクラスタリングします(右下図)。各ゲノムは、業界をリードする計算ツールを使用して、完全性、汚染、および新規性について評価されます。



ProxiMetaはビンニングを凌駕し、より完全で汚染の少ないProximity-assembled genomes (PAG)を生成します。
 出典：Press, M.O. et al. bioRxiv (October 2017).

プラスミドや抗生物質耐性遺伝子と宿主との関連付け

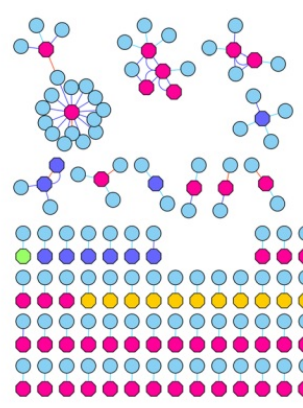
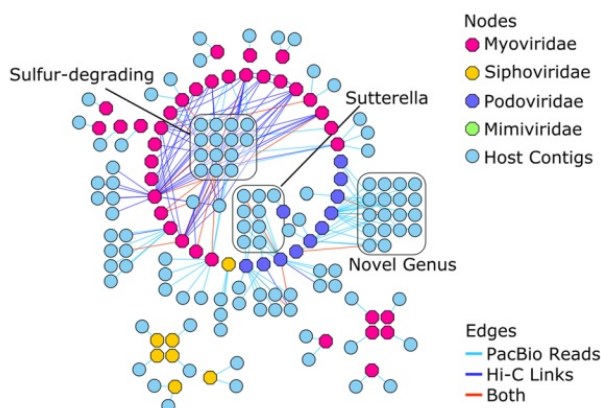
ProxiMetaワークフローでは、メタゲノムサンプルのメンバーのゲノムアセンブリに加えて、プラスミド、トランスポゾン、抗生物質耐性遺伝子(ARG)などの移動性遺伝要素(MGE)の配列情報を得ることができます。近接ライゲーションはインタクトな細胞で行われるため、MGE-宿主間の相互作用も捕捉されます。ProxiMetaのアセンブリ中、移動性遺伝要素は高い信頼性で宿主と関連付けられます。これにより、複雑な微生物群集における水平方向の遺伝子移動に関する洞察を得ることができます。



廃水から組み立てられたゲノムを進化系統樹(中央)に配置し、これらがさまざまな可動遺伝因子(中間の輪)の宿主であることを示しています。各ゲノムの細菌ファミリーは、色付きの外側の輪に表示されます。
 出典：Stadler, T. et al. The ISME Journal 2019; 13: 2437.

ファージを宿主に割り当てる

近接ライゲーションライブラリ調製工程で、ファージやウイルスのDNAが、混合微生物サンプル内の細菌アホストのDNAに架橋されます。これらの相互作用はキメラ結合配列に取り込まれ、ProxiMetaアルゴリズムによるデコンボリューション解析において、ファージを宿主に正確に割り当てることを可能にします。単一のHi-Cライブラリから得られるファージ-宿主の帰属は、マイクロバイオームのより正確な所見を見出します。



ロングリードアラインメントとHi-Cコンテグ間リンクのネットワーク解析により、アセンブルされたウイルスコンテグの宿主が特定されます。
 出典：Bickhart et. al. Genome Biol. 2019; 20: 153.

Proximo™ & ProxiMeta™ Hi-Cライブラリー調製キット



ユーザーフレンドリーなプロトコルで簡単にHi-C解析を



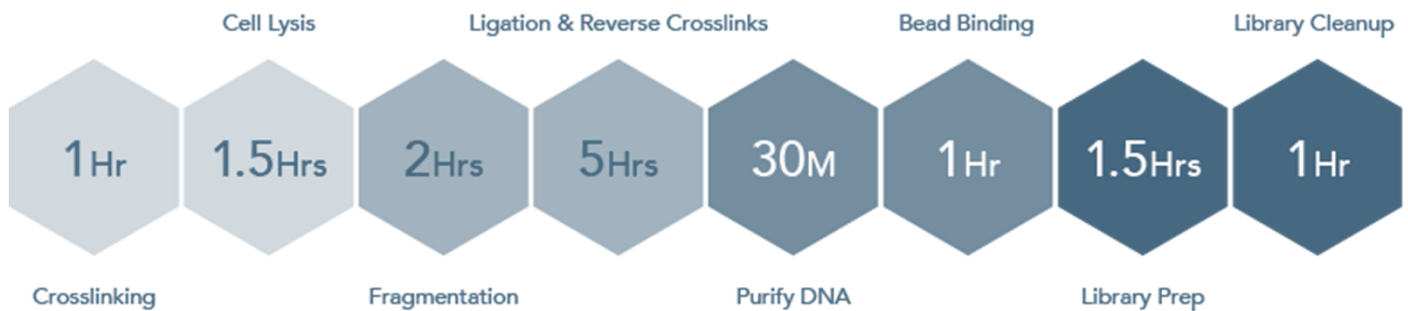
様々なサンプルタイプに合わせてカスタマイズされた使いやすいサンプル調製キットで、イルミナシーケンサーに対応のデュアルインデックスの近接ライゲーションライブラリーを生成します。高分子量(HMW)DNAの抽出を必要としない合理化されたプロトコルにより、ゲノミクス研究を加速させます。



特長

- ◆ 高分子量のDNA抽出が不要(インタクトな細胞からスタート)
- ◆ 1キットで2反応 (ヒト用キット: 4反応/キット、ProxiMetaキット(バンドルキット): 8反応+8解析/キット)
- ◆ 実質作業時間は、わずか3時間
- ◆ 独自のデュアル インデックス イルミナ アダプターが付属

Hi-Cライブラリー調製ワークフロー



様々なサンプルタイプ(ヒト、動物、植物、真菌、微生物)に最適化された5つの異なるキットにより、すべての生物にわたって堅牢な結果が保証されます。8ステップのライブラリー準備ワークフローは2日の作業で完了でき、実質わずか3時間の作業時間です。このプロトコルには、いくつかの安全なストップポイントが設けられています。



解析サービス(オプション)

本キットを使用して得たHi-Cデータと、Proximo™ genome scaffolding や ProxiMeta™ metagenome deconvolution プラットフォーム(受託解析)と組み合わせることで、非常に正確で迅速な結果をリーズナブルに取得いただけます。

- ◆ Proximo SV: Hi-C データを使用して、大規模な構造変化を特定し、エピジェネティックな変化を特定します。
- ◆ FALCON-Phase™: PacBio ロングリード アセンブリを Hi-C データと統合して、段階的な二倍体ゲノム アセンブリを生成します。
- ◆ ProxiMeta™ Metagenome Deconvolution Platform: 16S やビニング技術を超えて、混合サンプルから完全なゲノムをダイレクトに取得します。

解析サービスのご依頼方法およびご注意点

サービスの流れ

本誌掲載の解析サービスは、基本的に以下の手順に沿って実施されます。
大まかな手順となりますので詳細は弊社まで、お問合せください。

解析内容の打ち合わせ&見積

ご希望される解析内容、サンプル数などの情報をもとに、金額
必要サンプル量、固定方法に関するガイドライン等をご案内いた
します。

サンプルのご準備&送付

弊社宛てに、固定済みの解析サンプルとドラフトアセンブリ
(FASTA形式)、およびQCシートなどの必要書類を同封の上、
ご送付いただけます。
送付された内容物を弊社で確認し、弊社から解析元である
Phase Genomics社にサンプルを送付します。



送付先：フィルゲン(株) 受託解析部 宛
〒459-8011 名古屋市緑区定納山1丁目1409番地
TEL：052-624-4388
FAX：052-624-4389
E-mail：biosupport@filgen.jp

サンプル調製&次世代シーケンス解析

ご送付頂いたサンプルからライブラリー調製を行い、
シーケンスデータ(Hi-Cデータ)を取得します。

バイオインフォマティクス解析

ご提供いただいたドラフトアセンブリと、取得したHi-Cデータから、
スキャホールディング、またはデコンボリューションを行います。

解析データのご報告

データ解析結果を、HDD、USBなどに収めてご報告します。



キット購入

ユーザー様ご自身でキットを購入し、Hi-Cデータ
までの取得を行い、解析からご依頼いただくこ
も可能です。

製品名	キット容量
Proximo™ Hi-C Animal Kit	2反応分
Proximo™ Hi-C Plant Kit	2反応分
Proximo™ Hi-C Human Kit	4反応分
Proximo™ Hi-C Microbe Kit	2反応分
Proximo™ Hi-C Fungal Kit	2反応分
ProxiMeta™ Hi-C Kit	2反応分

ご自身でHi-Cデータを取得される場合は、キット
単体の他、反応数の一部を解析できるパッケー
ジなどもラインナップしています。詳しくは、弊社ま
でお問い合わせください。

サンプル準備、および解析に関する注意事項

- ✓ サンプルの発送は、弊社で発行している「サンプル送付方法およびご注意点(PDF)」をご参照の上、その内容に従って行ってください。弊社ウェブサイト (<https://filgen.jp/>)からダウンロードしていただくか、弊社までお問い合わせください。
- ✓ 本誌に掲載されているサービス・製品は、全て研究用途でのご提供させていただいております。ご提供させていただいたデータなどの解析結果は、ヒトあるいは動物への医療・臨床診断なども目的には使用しない様にご注意ください。
- ✓ 本誌掲載サービスは、解析元であるPhaseGenomics社のホームページに掲載されている情報を一部引用させていただいております。
- ✓ 本誌掲載サービスは、海外業務提携先である解析元、またはプロバイダー元の作業および解析仕様に従って実施される都合上、予告なく内容が変更される場合がありますので、あらかじめご了承ください。



サービス提供元



Phase Genomics, Inc.

【お問い合わせ】

1617 8th Ave N Seattle, WA 98109, USA

TEL : +1 (833) 742-7436

E-mail : info@phasegenomics.com

URL : <https://cdi-lab.com/>

輸入販売元



フィルジェン 株式会社

【お問い合わせ】

〒459-8011 愛知県名古屋市長区定納山1丁目1409番地

TEL : 052-624-4388 FAX : 052-624-4389

E-mail : biosupport@filgen.jp URL : <https://filgen.jp/>

【ご注意】

- ◆ 本誌掲載のサービス、製品は医療用ではなく、研究用に限定して販売しています。医療品の製造、品質管理、各種診断、治療には使用しないでください。
- ◆ 本誌掲載の価格、サービスや製品の名称、仕様、プロトコルなどは改良などの理由から予告なしに変更される場合がありますので、予めご了承ください。
- ◆ 本誌掲載の商品名などは、各社の商標または、登録商標です。また、各サービス・製品における情報は提携先企業のホームページより引用しています。
- ◆ お知らせいただいたお客様の個人情報は、弊社事業における商品発送、関連サービスおよび製品の情報提供などに利用させていただきます。

代理店

(Oct.,2022)