

次世代シーケンス 特集カタログ

受託解析サービス
バイオインフォマティクス・ソフトウェア
試薬・消耗品



受託解析サービス

遺伝子パネル解析



ディープシーケンス不要な独自の分子クランプテクノロジーを採用した、リキッドバイオプシーサンプル（cfDNA / ctDNA）からのがん変異遺伝子の検出。

リキッドバイオプシー用OptiSeq™がんパネル解析サービス

.... P.5

エクソン領域をターゲットとしたエンリッチメントキットを使用し、その領域における多型や変異を検出。

エクソームエンリッチメント受託解析サービス

.... P.6

受託解析サービス

トランスクリプトーム解析



cDNAライブラリーを作製し、転写産物のリードをタグとしてカウントすることで、ゲノムワイドな発現プロファイルの結果を取得。新規エクソンや融合遺伝子の検出も。

RNA-Seq受託解析サービス

.... P.7

受託解析サービス

エピゲノム解析



クロマチン免疫沈降で得たDNA断片をシーケンス、ゲノム配列上にマッピングして、ピーク領域を検出。

ChIP-Seq受託解析サービス

.... P.8

バイサルファイト処理したゲノムDNA全体をシーケンスすることで、網羅的かつ詳細にメチル化を解析。

ヒト全ゲノムメチル化受託解析サービス

.... P.9

microRNAを含むsmall RNAの発現解析。新規small RNAの同定も。

Small RNA-Seq受託解析サービス

.... P.10

タンパク質をコードしない200nt以上の長さのRNAである、long non-coding RNAの発現解析。

lncRNA-Seq受託解析サービス

.... P.11

受託解析サービス

ゲノム解析



Novaseq6000を用いたヒト全ゲノムシーケンス。

ヒト全ゲノムシーケンス受託解析サービス

・・・ P.12

新規ゲノムのドラフト解析/ゲノムリーシーケンス。

動植物ゲノムシーケンス受託解析サービス

・・・ P.13

PacBio Sequel IIを用いたロングリード解析。新規ゲノムやコンティグ整列などに利用可能。

PacBio Sequel II 受託解析サービス

・・・ P.14

PromethIONを採用した次世代シーケンスサービス。群集規模のシーケンスや植物ゲノミクスのような大規模なプロジェクトに最適。

ナノポアシーケンス受託解析サービス

・・・ P.15

新たな方法を用いたスキャフォールディングアプローチによって、DNAの近接度（プロキシミティ）をin vivoで測定し、その情報を利用してコンティグから染色体スケールのスキャフォールドを実施。

Hi-Cゲノムスキャフォールディング受託解析サービス

・・・ P.16

受託解析サービス

メタゲノム解析



環境中微生物のゲノムDNAをすべて抽出・収集し、全ゲノムを網羅的にシーケンス。取得した配列データをリファレンス配列と同一性検索し、菌種の帰属や菌種組成、挿入、欠失などの情報が取得可能。また、機能遺伝子のデータベースに対して同一性検索を行い、その細菌叢がどのような機能遺伝子を持っているかの解析も可能。

メタゲノムシーケンス受託解析サービス

・・・ P.17

細菌の16S、真菌の18S、およびITS（internal transcribed spacer）を指標とした解析。複数設計されたプライマーセットより、ご希望のプライマーセットが選択可能

微生物ゲノムアンプリコン受託解析サービス

・・・ P.18

in vivo Chromosome Conformation Capture によるDNAの近接情報の物理的補足に基づき、自然な条件下にある混合サンプルの全ゲノムアセンブリを実現。同種・株に由来するシーケンスの分類を可能にし、数十、数百の稀少で培養可能な新規微生物のゲノムを取得。

Hi-Cメタゲノムデコンボリューション受託解析サービス

・・・ P.19



次世代シーケンサー データ解析

あらゆる解析シチュエーションに対応
NGSデータ解析用ソフトウェア

.... P.21

試薬・消耗品 - DNA



次世代シーケンサー ライブラリー調製試薬

cfDNA・がんパネル ライブラリー調製キット

UMIを採用し、サンプル中のcfDNA、断片gDNA、FFPEの網羅的解析

XCeloSeq cfDNA Library Prep Kit

.... P.23

UMIの採用により100遺伝子にわたる低頻度変異を検出

XCeloSeq Pan Cancer Kit

.... P.24

がんパネル ライブラリー調製キット

BRCA1/BRCA2遺伝子全体の体細胞、生殖細胞変異検出

CleanPlex® BRCA1 & BRCA2 Panel v3

.... P.25

TP53遺伝子全体の体細胞および生殖細胞変異の検出

CleanPlex® TP53 Panel

.... P.25

65遺伝子の領域全体の体細胞変異を検出

CleanPlex® OncoZoom Cancer Hotspot Panel

.... P.26

遺伝性がんの発症リスクの増加に関連する37遺伝子の変異を検出

CleanPlex® Hereditary Cancer Panel v2

.... P.26

腫瘍変異負荷の正確な検出、全エクソームシーケンスとの相関は96%

CleanPlex® TMB 500 Panel

.... P.26

遺伝性疾患パネル ライブラリー調製キット

ヒトミトコンドリアゲノム全体の変異を解析

CleanPlex® Mitochondrial Disease Panel

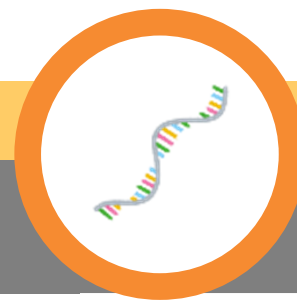
.... P.27

CFTR遺伝子全体の生殖細胞変異体の解析

CleanPlex® CFTR Panel

.... P.27





次世代シーケンサー
ライブラリー調製試薬

融合遺伝子パネル ライブラリー調製キット

肺癌に関連する530を超える既知および未知の融合遺伝子の検出

OmniFusion™ RNA Lung Cancer Panel

..... P.28

肺癌に関連する280の既知融合遺伝子の検出

AccuFusion™ RNA Lung Cancer Panel

..... P.28

miRNA ライブラリー調製キット

サンプル中(細胞、組織)の多様なmiRNAを高精度で同定、定量可能

RealSeq®-AC miRNA Library Kit

..... P.29

生体液中のcf-miRNAをゲルフリーで正確かつ高感度な定量が可能

RealSeq®-Biofluids Plasma/Serum miRNA Library Kit

..... P.30

rRNA除去、poly(A)mRNA分離試薬

ヒト、マウス、ラットのトータルRNAサンプルからrRNAを除去

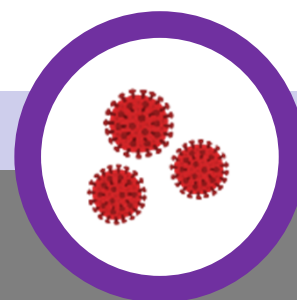
Seq-Star™ rRNA Removal Kit

..... P.31

トータルRNAサンプルから高純度でインタクトなpoly(A)mRNAを分離

Seq-Star™ poly(A) mRNA Isolation Kit

..... P.31



次世代シーケンサー
ライブラリー調製試薬

新型コロナウイルス ライブラリー調製キット

SARS-CoV-2の全長解析に必要な試薬が揃ったコンプライートソリューション

SARS-CoV-2 CORONAVIRUS NGS LIBRARY PREP KIT



..... P.32

新型コロナウイルス ライブラリー調製キット

低ウイルスコピー、低シーケンス深度であっても卓越した感度で解析が可能

CleanPlex® SARS-CoV-2 Panel

..... P.33

多型領域の縮重プライマーを採用し、より強力な変異検出能を実現

CleanPlex® SARS-CoV-2 FLEX Panel

..... P.34

SARS-CoV-2の完全ゲノム配列とその他呼吸器ウイルスの部分配列を同時検出可能

CleanPlex® Respiratory Virus Research Panel V2

..... P.34



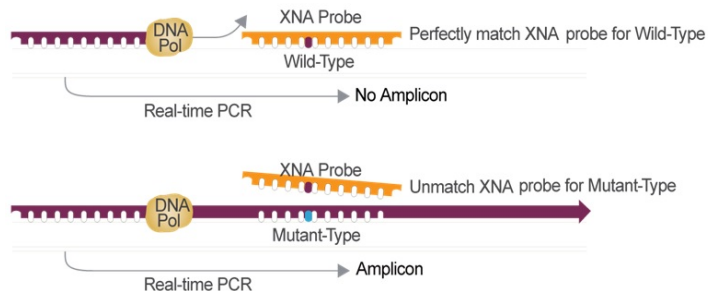


概要

本プラットフォームは、遺伝子変異の超高感度検出を可能にすることで、シーケンシング深度を最大100倍まで縮小し、コストと解析時間を大幅に削減します。野生型のテンプレートのみハイブリダイズする独自の核酸分子クランプ（XNAテクノロジー）を使用しており、変異型のみが増幅され、配列決定されます。本プラットフォームで行われる500シーケンスリードは、本プラットフォームを使用しない場合の50,000リードに相当します。

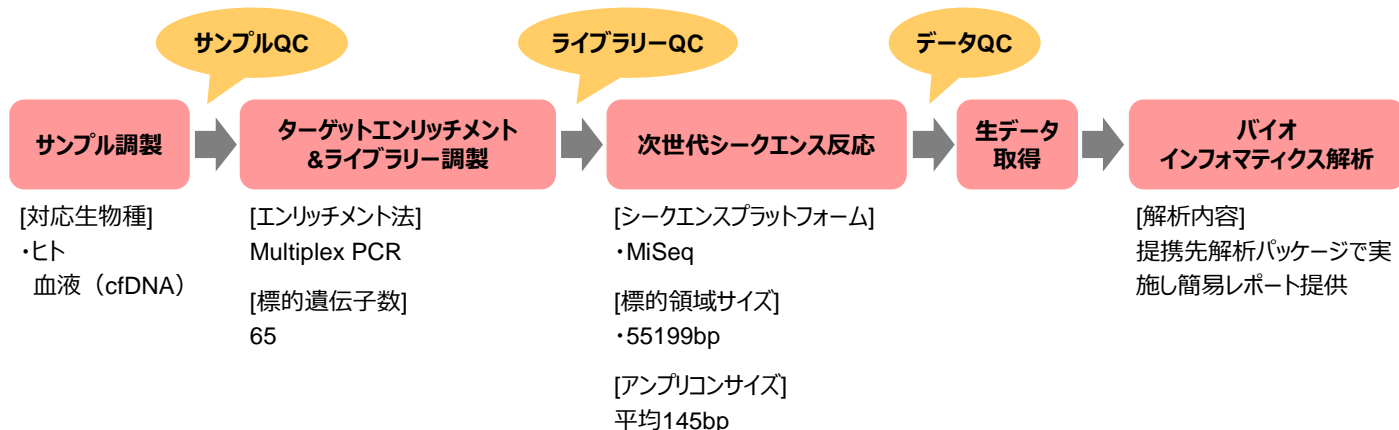
XNAテクノロジー

ゼノ核酸（Xeno nucleic acid : XNA）オリゴマーは、標的となる正常なDNAへのハイブリダイズに非常に有効で、qPCRの分子クランプとして、または核酸標的配列の検出のための高度に特異的な分子プローブとして使用されています。XNAは、100%相補的な野生型配列に強く結合し、DNA伸長からDNAポリメラーゼを阻害します。XNA-変異型DNAの二本鎖の場合は、ミスマッチとなり不安定な構造となるため、PCR反応時に鋳型鎖から脱落し、変異型標的配列のみが増幅されます。



サービス内容

本解析サービスで使用するがんパネルは、65個のがん遺伝子と腫瘍抑制遺伝子から、2,900の一般的に観察される変異部位（ホットスポット）を標的とするように設計されています。ご提供いただいたヒト血液サンプルを用いて、サンプル調製から解析レポート提供まで、トータルに実施します。



遺伝子リスト

ABL1	AKT1	ALK	APC	ATM	BRAF	BRCA1	BRCA2	CDH1
CDKN2A	CSF1R	CTNNB1	DDR2	DNMT3A	EGFR	ERBB2	ERBB3	ERBB4
EZH2	FBXW7	FGFR1	FGFR2	FGFR3	FLT3	FOXL2	GNA11	GNAQ
GNAS	HNF1A	HRAS	IDH1	IDH2	JAK2	JAK3	KDR	KIT
KRAS	MAP2K1	MET	MLH1	MPL	MSH6	MTOR	NF1	NF2
NOTCH1	NPM1	NRAS	PDGFRA	PIK3CA	PIK3R1	PTCH1	PTEN	PTPN11
RB1	RET	SMAD4	SMARCB1	SMO	SRC	STK11	TERT	TP53
TSC1	VHL							

サンプル条件 詳しいサンプルの準備方法につきましては弊社までお気軽にご相談ください。

サンプルタイプ	推奨DNA量	液量	濃度	純度
ヒト全血 *3サンプル以上から受注受付	≥2μg	≥20μl	≥20ng/μl	O.D. _{260/280} : 1.8~2.0

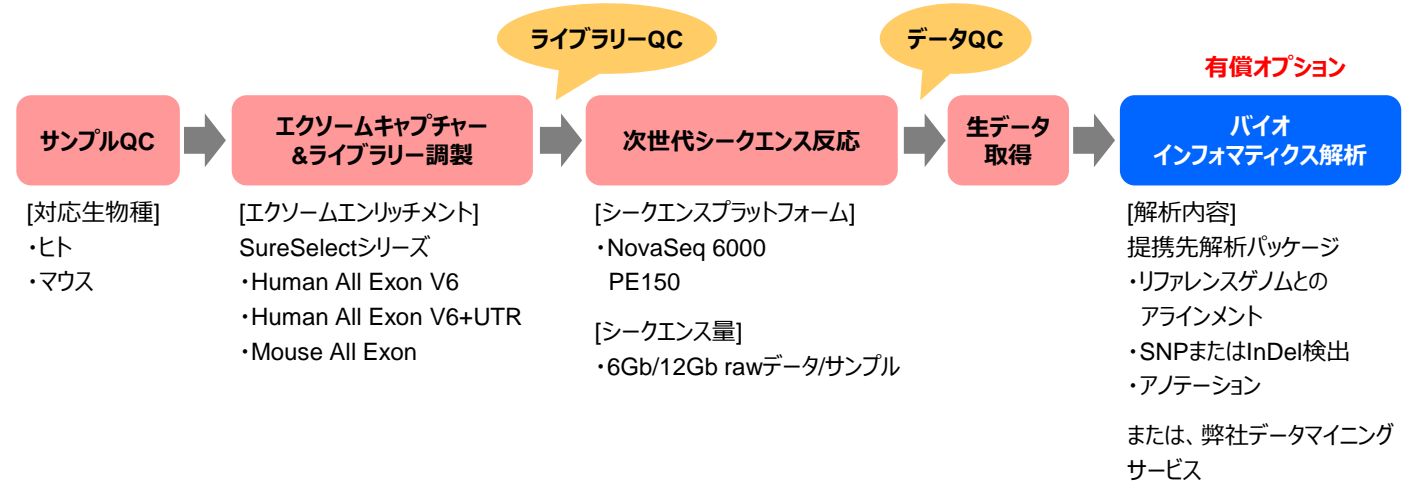


概要

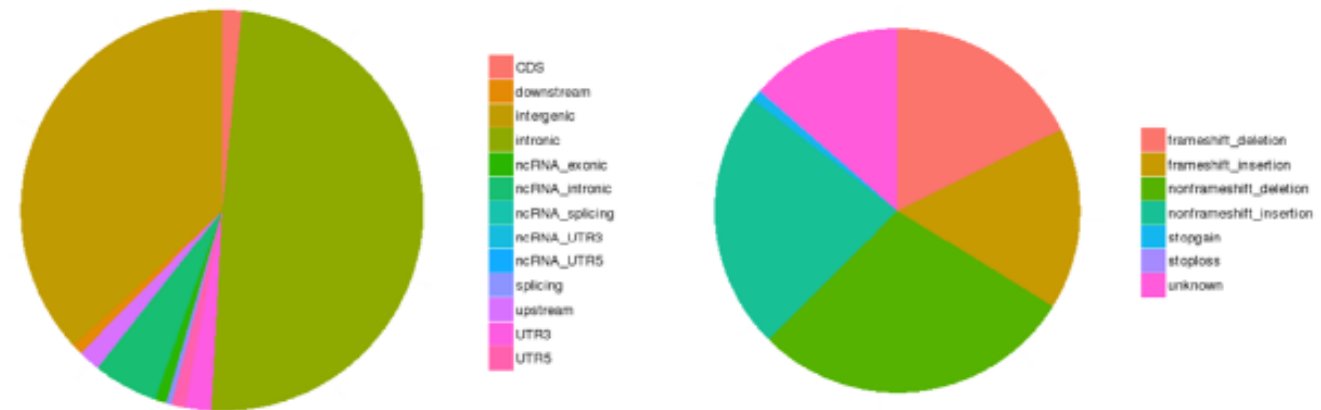
全エクソームエンリッチメント解析では、ゲノム上のタンパク質コード領域をシーケンスします。全ゲノムシーケンスの代替となる、費用対効果の高い解析法です。例えば、ヒト疾患と関連する遺伝子変異の多くが、タンパク質コード領域に見出されています。本サービスでは、Agilent社のSureSelectキットとillumina社のシーケンスプラットフォームを組み合わせることにより、全エクソームをシーケンスします。

サービス内容

DNAサンプルを用いて、品質チェック（QCチェック）から次世代シーケンスまでを実施します。さらに、オプションでバイオインフォマティクス解析にも対応しています。バイオインフォマティクス解析は、提携先が用意する解析パッケージ、または弊社の提供するデータマイニングサービスからご選択いただけます。



解析データ例 *提携先解析パッケージにて実施したヒト全エクソームシーケンス解析



CHROM	POS	ID	REF	ALT	QUAL	FILTER	GeneName	Func	Gene	&
1	15211	rs11586607	T	G	66.28	PASS	WASH7P	ncRNA_intronic	NR_024540	&
1	15274	rs62636497	A	T	66.28	PASS	WASH7P	ncRNA_intronic	NR_024540	&

変異検出のアノテーション結果

サンプル条件 詳しいサンプルの準備方法につきましては弊社までお気軽にご相談ください。

サンプルタイプ	推奨量	最小量	液量	濃度	純度
ゲノムDNA	≥2μg	≥1μg	≥20μl	≥20ng/μl	O.D. _{260/280} : 1.8~2.0

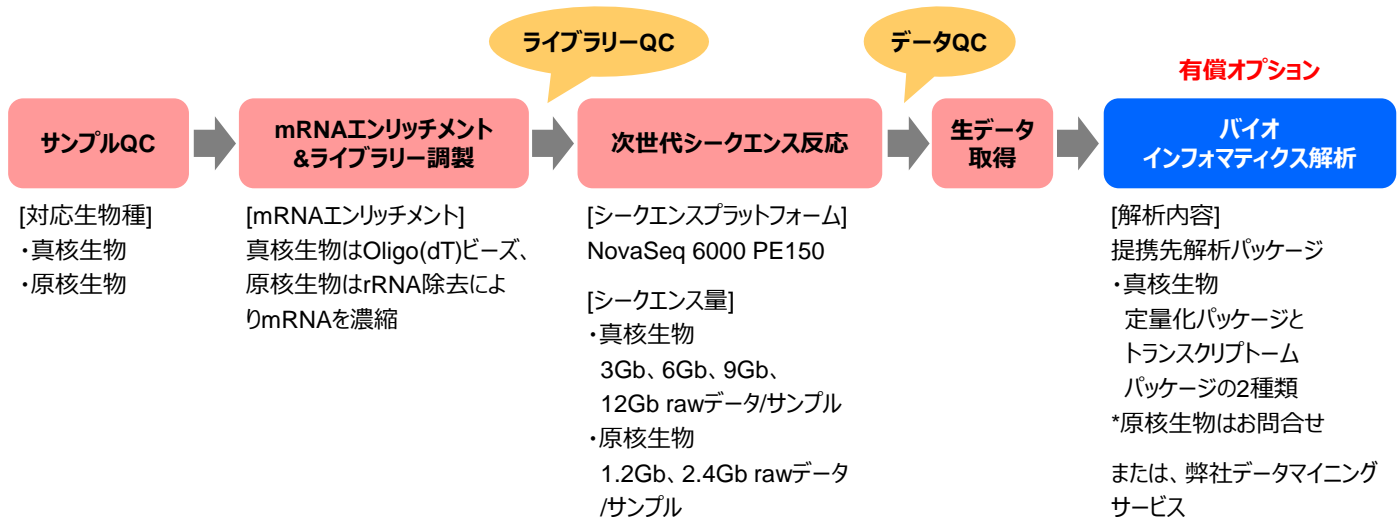


概要

細胞内に含まれるmRNA分子を網羅的かつ定量的に解析します。転写産物のリード数から遺伝子発現量を定量化し、同時にその配列情報から、選択的スプライシングや新規転写産物・融合遺伝子の検出を行う技術です。本サービスは、安価な価格と充実したバイオインフォマティクス解析が特長です。解析対象となる生物種からご希望のデータ量を選択することができます。

サービス内容

RNAサンプルを用いて、品質チェック（QCチェック）から次世代シーケンスまでを実施します。さらに、オプションでバイオインフォマティクス解析にも対応しています。バイオインフォマティクス解析は、提携先が用意する解析パッケージ、または弊社の提供するデータマイニングサービスからご選択いただけます。



解析データ例

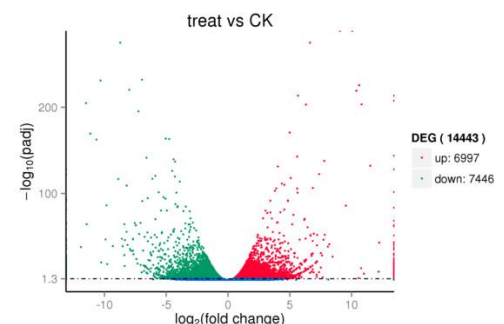
遺伝子発現レベル

Gene_id	CK1	CK2	CK3	treat1	treat2	treat3
FBgn0085309	34.6327893	99.32356815	0	59.26433452	69.23846564	0
FBgn0267012	23.32232532	0	0	0	78.32945691	0
FBgn0061492	45.55843284	48.95929976	46.77138648	74.0914727	71.87907232	63.49794895
FBgn0053795	0.068977629	0.303770898	0.153895206	0.288996229	0.347646041	0.194675997

発現変動解析 (DEG)

Gene Id	CK	treat	log2FoldChange	pval	p-adjusted
FBgn0000639	36.17650266	252.4500919	-2.8029	2.83E-40	4.93E-37
FBgn0027611	14.36797269	54.31676236	-1.9185	1.00E-06	9.69E-05
FBgn0028400	39.36531292	6.325628725	2.6376	2.05E-07	2.23E-05
FBgn0028533	28.91921033	4.600457255	2.6522	7.99E-06	0.00064263

DEGのボルケーノプロット



サンプル条件 詳しいサンプルの準備方法につきましては弊社までお気軽にご相談ください。

生物種	サンプルタイプ	推奨量	最小量	液量	濃度	RIN	純度
真核生物	total RNA (ヒト、動物)	≥2μg	≥1μg	≥20μl	≥50ng/μl	≥6.8	O.D. _{260/280} : ≥1.7
	total RNA (植物、真菌)					≥6.3	O.D. _{260/230} : ≥1.8
原核生物	total RNA	≥6μg	≥3μg	≥20μl	≥50ng/μl	≥6.0	RNA分解、DNAのコンタミがないこと

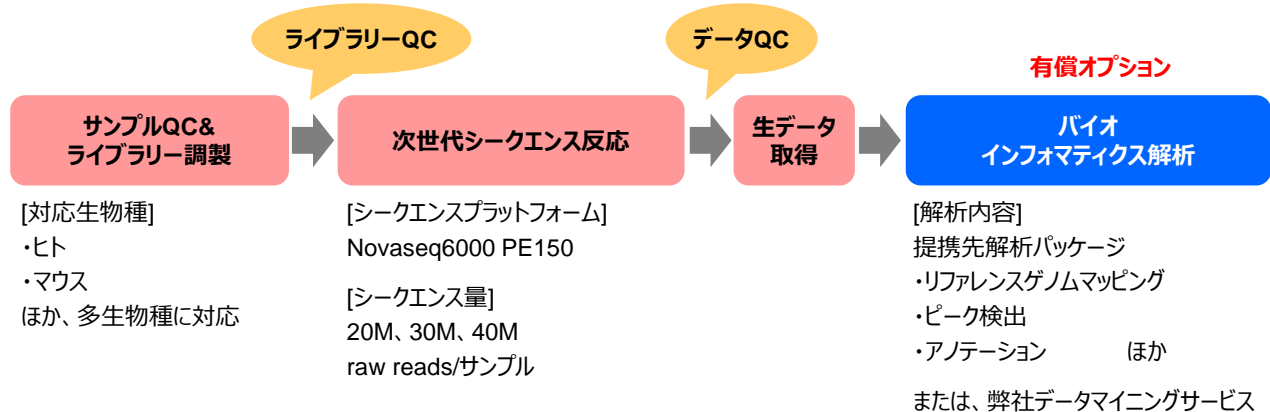


概要

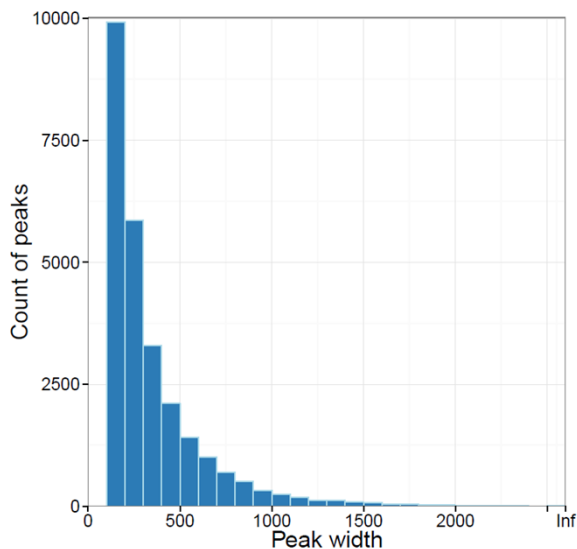
ヒストン修飾、転写因子およびその他のDNA関連タンパク質のゲノムワイドなプロファイリングを行います。ChIP-Seqは、特定のタンパク質-DNA複合体を回収するクロマチン免疫沈降（ChIP）の選択制と、それにより回収されたDNAの次世代シーケンス技術によるハイスループットなシーケンシング能力を兼ね備えています。ChIP-Seqにおいて、エンリッチされたDNA領域（タンパク質結合部位）は、バックグラウンドリードよりも高いピークとして検出されます。これらの領域のバイオインフォマティクス解析により、結合モチーフを明らかにします。

サービス内容

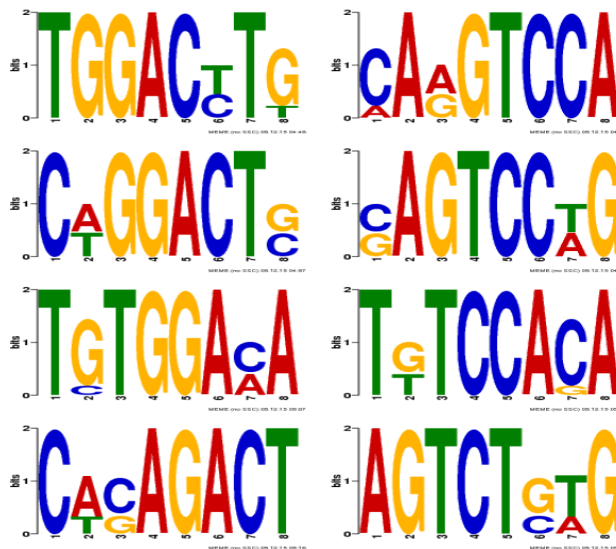
ChIPサンプルを用いて、品質チェック（QCチェック）から次世代シーケンスまで実施いたします。さらに、オプションでバイオインフォマティクス解析にも対応しています。バイオインフォマティクス解析は、提携先が用意する解析パッケージ、または弊社の提供するデータマイニングサービスからご選択いただけます。



解析データ例



ピーク幅の分布。
X軸はピーク幅、Y軸はピーク数を示しています。



モチーフ予測結果。
モチーフ検索ソフトウェアによって予測通りにベースコールされます。右は逆相補鎖のベースコールを示しています。

サンプル条件 詳しいサンプルの準備方法につきましては弊社までお気軽にご相談ください。

サンプルタイプ	推奨量	最小量	液量	濃度	純度
ChIP-Seq DNA *≥2サンプルから受注受付	≥100ng	≥50ng	≥10μl	≥5ng/μl	O.D. _{260/280} : 1.8~2.0 100bp~500bpのメインピーク DNA分解、RNAのコンタミがないこと



全ゲノムメチル化受託解析サービス (全ゲノムバイサルファイトシーケンス)

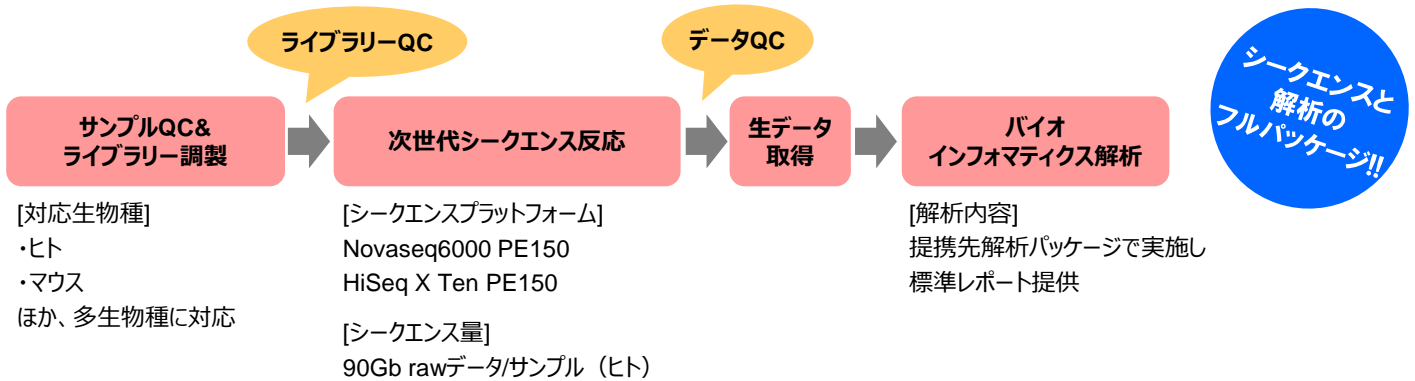
エピゲノム解析

概要

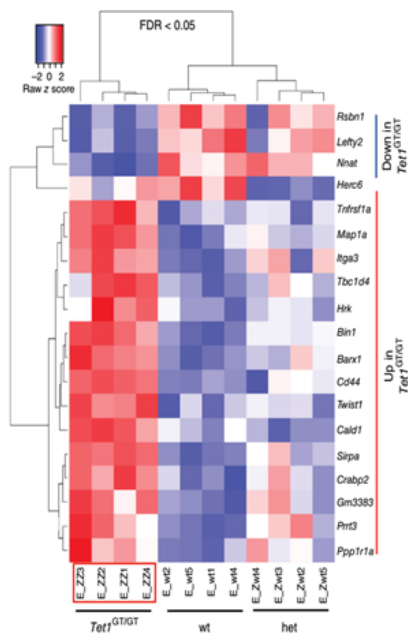
次世代シーケンスによる、全ゲノムメチル化（全ゲノムバイサルファイトシーケンス）をご提供しています。DNAのメチル化は、細胞の増殖および分化において、遺伝子発現の制御に重要な役割を果たし、がん、神経変性疾患および神経疾患など、多くの疾患の発症に関与しています。ヒト全ゲノムメチル化受託解析サービスでは、バイサルファイト処理したゲノムDNA全体を次世代シーケンスすることで、網羅的かつ詳細にメチル化を把握することができます。

サービス内容

ご送付頂いたDNAサンプルを用いて、品質チェック（QCチェック）、次世代シーケンス、およびバイオインフォマティクス解析を実施いたします。



解析データ例



外胚葉においてTET1によって調節される差次的に発現される遺伝子のヒートマップクラスター
Nature Genetics, 49 (7) : 1061-1072 (2017)

標準データ解析例

染色体のメチル化レベル

染色体のDMR長

DMR結果

DMR関連遺伝子のGOエンリッチメント解析

GOエンリッチメントバープロット

サンプル条件 詳しいサンプルの準備方法につきましては弊社までお気軽にご相談ください。

サンプルタイプ	必要量	容量	濃度	純度
ゲノムDNA	[ゲノムサイズ ≤ 1.5Gb] ≥ 3μg (≥ 6μg推奨)	≥ 20μl	≥ 20ng/μl	0 < O.D. _{260/230} < 3 DNA分解、RNAのコンタミがないこと
	[ゲノムサイズ > 1.5Gb ~ ≤ 3.5Gb] ≥ 6μg (≥ 12μg推奨)			

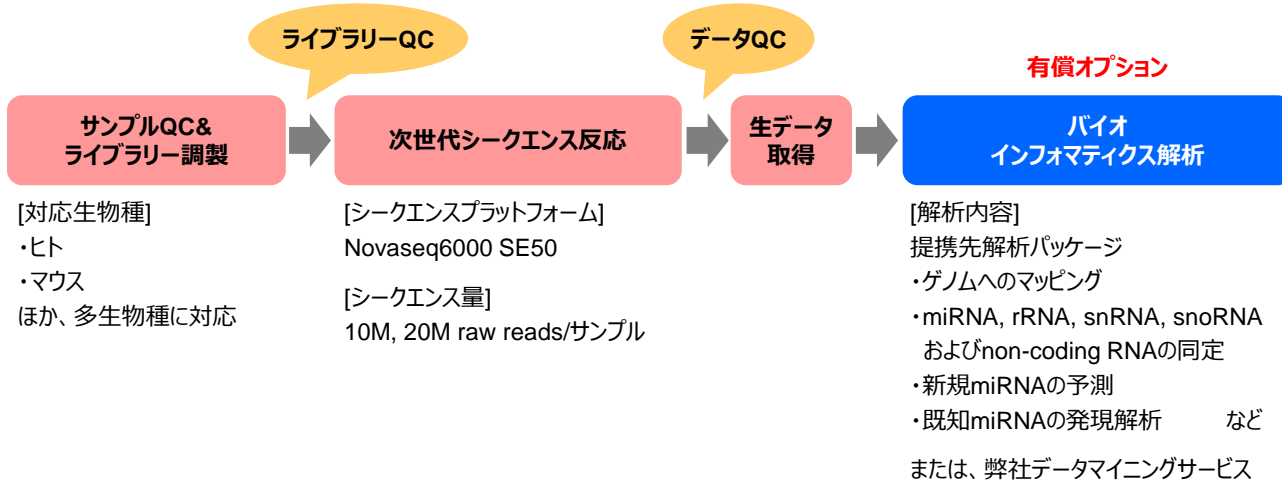


概要

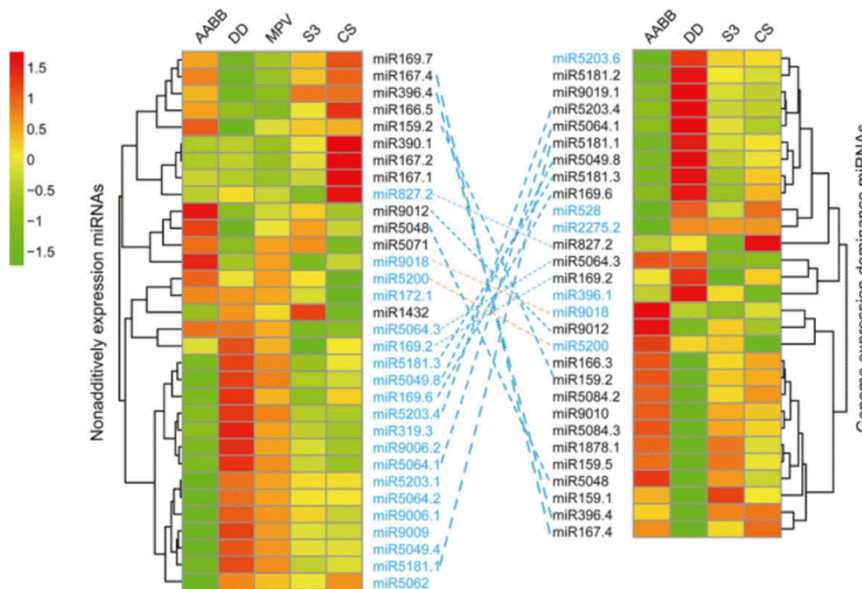
低分子のsmall RNAは、標的mRNAの翻訳を調節する長さ18~40ヌクレオチドのnon-coding RNAの一種であり、細胞成長、遺伝子の転写および翻訳の制御において、重要な役割を担っています。small RNA-Seq解析は、small RNA機能の調査、miRNAおよびその標的遺伝子制御ネットワークの構築において、非常に有用な手法となっています。本サービスでは、miRNAを含むsmall RNAを網羅的に解析します。

サービス内容

ご送付いただいたRNAサンプルを用いて、品質チェック（QCチェック）から次世代シーケンスまで実施いたします。さらに、オプションでバイオインフォマティクス解析にも対応しています。



解析データ例



非加法的発現（左図）および発現レベル優位性の親パターン（右図）を示すmicroRNAの階層的クラスタリング。

The Plant Cell, 26 : 1878-1900 (2014)

サンプル条件 詳しいサンプルの準備方法につきましては弊社までお気軽にご相談ください。

サンプルタイプ	推奨量	最小量	液量	濃度	RIN	純度
total RNA (ヒト、動物)					≥ 7.5	O.D. _{260/280} : ≥ 2.0
total RNA (植物、真菌)	≥ 6μg	≥ 3μg	≥ 20μl	≥ 50ng/μl	≥ 7.0	O.D. _{260/230} : ≥ 2.0 RNA分解、DNAのコンタミがないこと

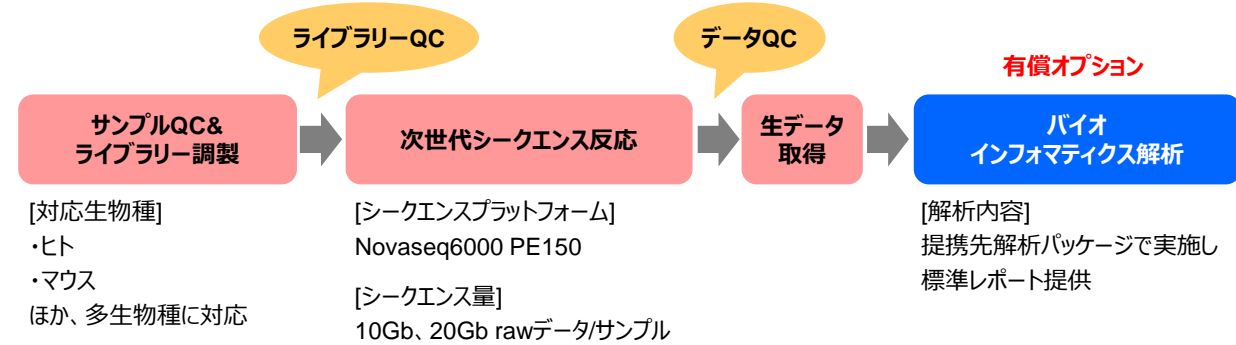


概要

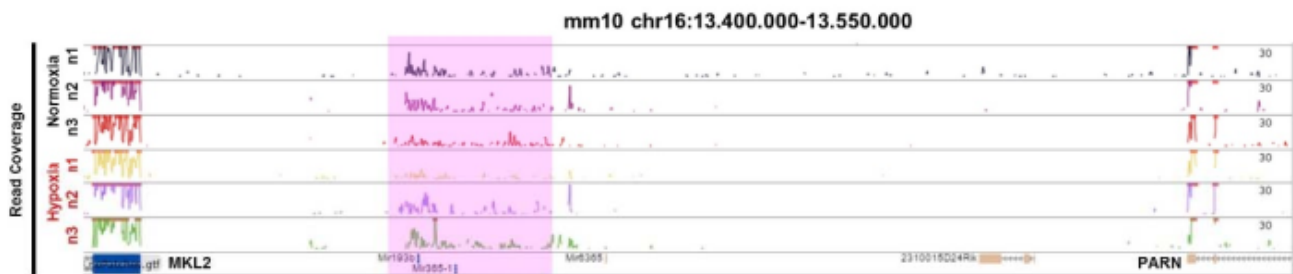
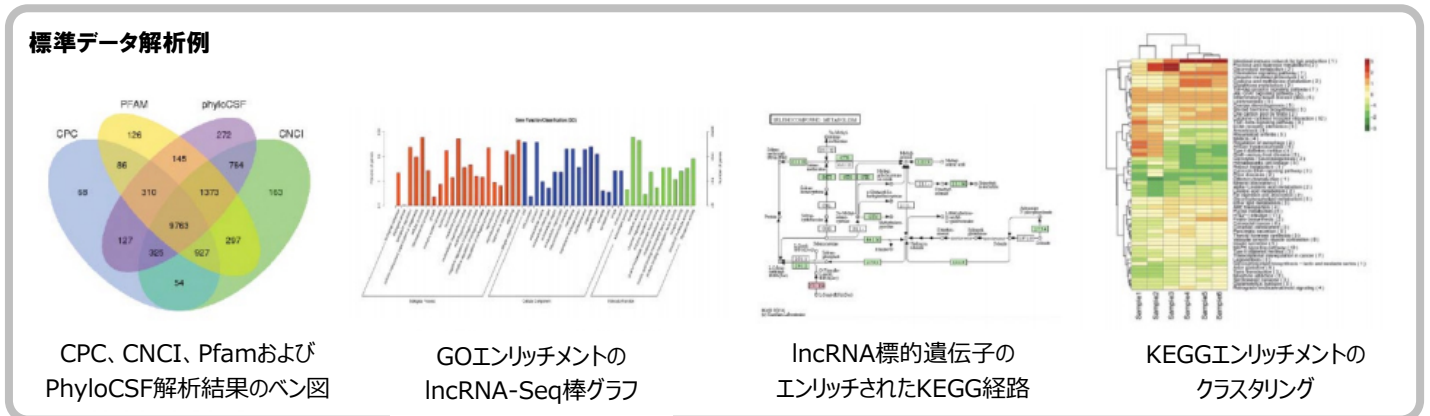
タンパク質をコードしない、200nts以上の長さのRNAを、long non-coding(lnc) RNAと呼びます。IncRNAは、哺乳動物系におけるX染色体不活性化、インプリンティング、多能性のメンテナンス、系列決定およびアポトーシスなどの細胞プロセスに重要な役割を果たしています。本サービスは、治療に対する反応の予測、予後、疾病の診断のための新しいバイオマーカーとして有用な、IncRNAの発現解析を行うことが可能です。

サービス内容

ご送付いただいたRNAサンプルを用いて、品質チェック（QCチェック）から次世代シーケンスまで実施いたします。さらに、オプションでバイオインフォマティクス解析にも対応しています。



解析データ例



初代マウス周皮細胞におけるRNA-Seqは、可能なmHypERIncオルソログの高い読み取り範囲を示す（紫色）。
Circulation Research DOI : 10.1161 / CIRCRESAHA. 116.310531 (2017)

サンプル条件

サンプルタイプ	推奨量	最小量	容量	濃度	RIN	純度
total RNA (ヒト、動物)					≥6.5	O.D. _{260/280} : ≥2.0
total RNA (植物、真菌)	≥4μg	≥2μg	≥20μg	≥50ng/μl	≥6.0	O.D. _{260/230} : ≥2.0 RNA分解、DNAのコンタミがないこと

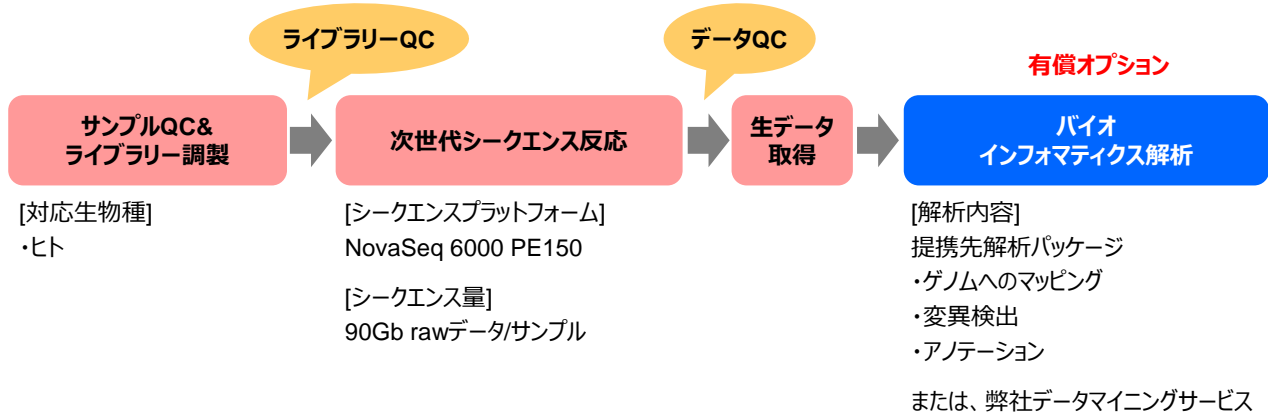


概要

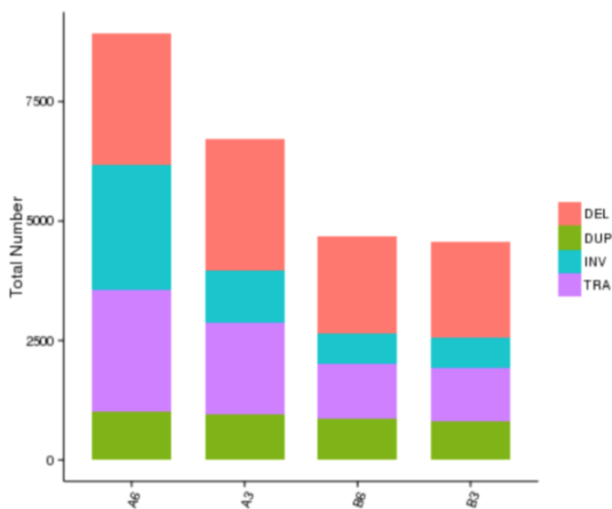
全ゲノムシーケンス（WGS）は、一度の解析で個人の有する変異を網羅的に検出することが可能であり、がんを含む様々な疾患研究、ゲノム薬理学、集団遺伝学など幅広い分野で利用されています。illumina NovaSeq6000システムにより、ヒトゲノムの解析をより低価格で提供しています。

サービス内容

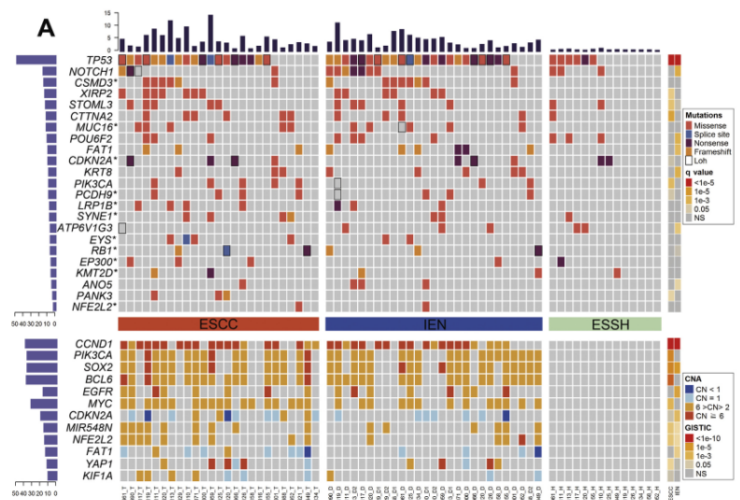
ご送付頂いたゲノムDNAサンプルを用いて、品質チェック（QCチェック）、次世代シーケンス、およびバイオインフォマティクス解析を実施いたします。



解析データ例



検出された構造変異（SV）の円グラフ。



全ゲノムと全エクソームシーケンスからのESCC、IEN、および単純過形成（ESSH）の変異変動の展望。

Gastroenterology 153:166-177 (2017)

サンプル条件

サンプルタイプ	推奨量	最小量	液量	濃度	純度
ゲノムDNA	≥2μg	≥1μg	≥20μl	≥20ng/μl	O.D. _{260/280} : 1.8~2.0 DNA分解、RNAのコンタミがないこと



動植物ゲノムシーケンス 受託解析サービス

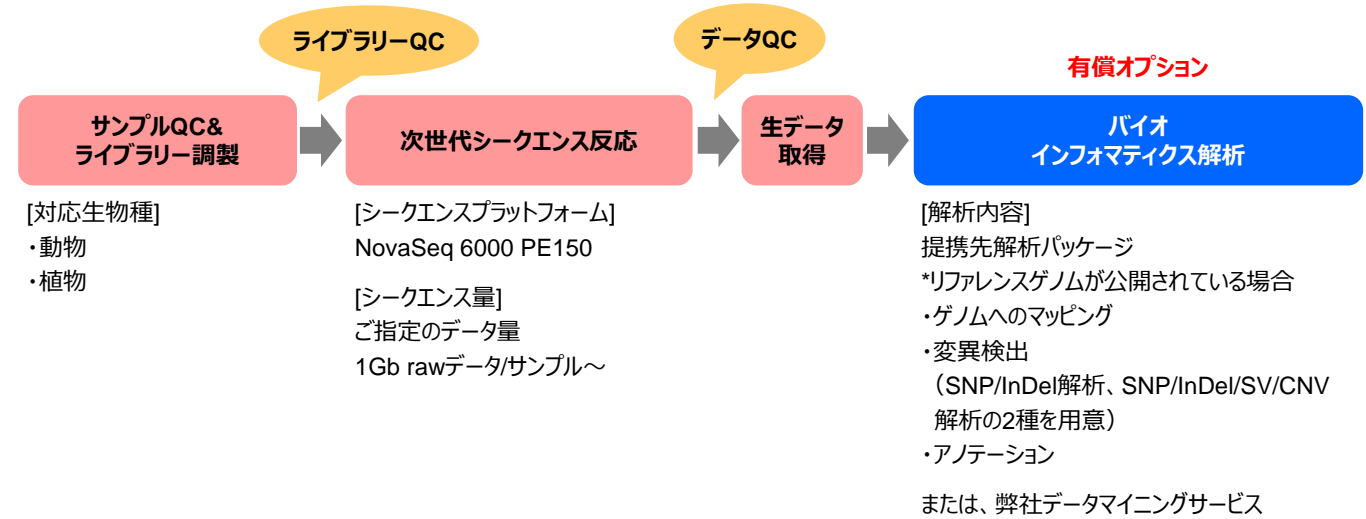
ゲノム解析

概要

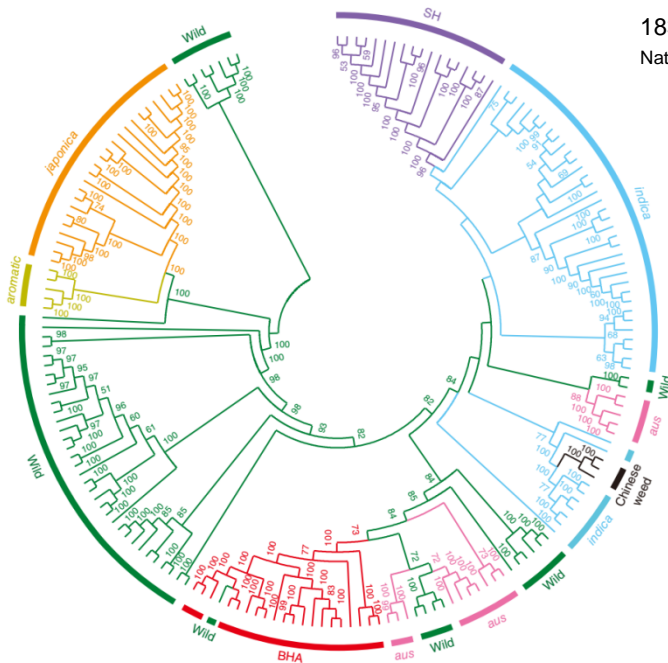
本サービスでは、NovoSeq6000により、ゲノムDNAをシーケンスします。シーケンス量は、1Gb単位でご指定いただくことが可能であり、有償オプションとして、バイオインフォマティクス解析も用意しています。

サービス内容

ご送付いただいたDNAサンプルを用いて、品質チェック（QCチェック）から次世代シーケンスまで実施いたします。さらに、オプションでバイオインフォマティクス解析にも対応しています。



解析データ例



183の野生型、栽培系統、雑草イネの近隣結合法による系統樹。
Nature Genetics 49(5): 811-814 (2017)



**このほか、多種多様な生物種の
解析経験あり、論文実績も多数！**

サンプル条件

サンプルタイプ	推奨量	最小量	液量	濃度	純度
ゲノムDNA	≥2μg	≥1μg	≥20μl	≥50ng/μl	O.D. _{260/280} : 1.8~2.0 DNA分解、RNAのコンタミがないこと



概要

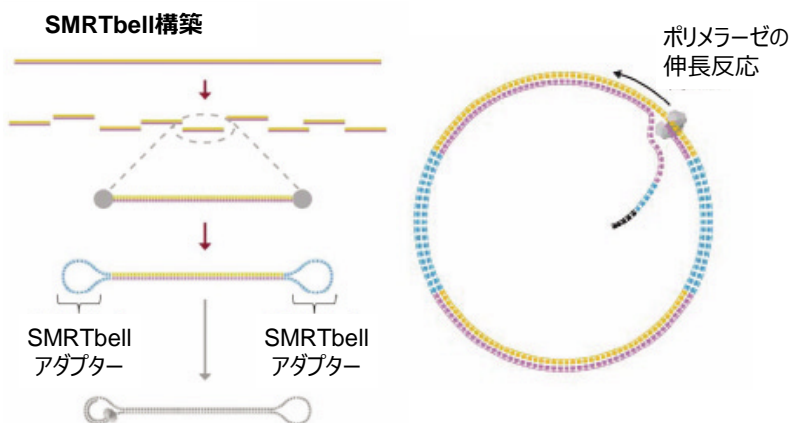
本サービスは、PacBio Sequel IIを用いたロングリード受託解析サービスです。Pacific Biosciences of California (PacBio) 社の基盤技術 SMRT® (一分子リアルタイム) シーケンスは、PCR増幅工程が不要で、GC含有量に関わらず幅広いゲノム領域で均一なシーケンス結果を得ることができます。微生物などの新規ゲノム解析やコンティグ配列の整列などの解析に対応可能です。

サービス内容

ご送付頂いたDNAサンプルを用いて、品質チェック (QCチェック) を行い、PacBio Sequel IIIに対応したライブラリー作製、および次世代シーケンスを提供しています。

PacBio Sequel IIのライブラリー作製手順

1. サンプルとして2本鎖DNAを準備。
2. DNAを断片化。
3. SMRTbellアダプター (ヘアピン状のアダプター) を2本鎖DNAの両端に付加。
4. アダプターの一方の末端には、DNA合成開始に必要なプライマーが付加されている。
5. 分子のDNAポリメラーゼは、ライブラリーのSMRTbellアダプターに結合し、DNA配列を順に合成。



シーケンスは、下記2種類のモードからご選択いただけます。

【シーケンスモード】

- CLR (Continuous long read) モード
 - 数十kbものロングリードを出力：非モデル生物の複雑なゲノムのアセンブリに有効
 - データ出力量：約80Gb data/1 SMRT cell
 - ※データ量は、1SMRT cell 単位の外、1サンプルあたり1Gb単位でもご指定いただけます。
- CCS (circular consensus sequencing) モード
 - インサート領域を複数passシーケンスして高精度なリード取得
 - データ出力量：約280Gb data/1 SMRT cell
 - HiFiリードへの変換にも対応 (有償オプション)

さらに、オプションでパイオインフォマティクス解析にも対応いたしますので、ご希望の方はご相談ください。

サンプル条件

サンプルタイプ	推奨量 (Qubit®)	液量	濃度	純度 (NanoDrop™ / Agarose Gel)
ゲノムDNA	≥20µg	≥50µL	≥100ng/µL	・フラグメントは20kbpより長くすること。 ・コンタミネーションがないこと。 ・非粘性であること。 ・DNA溶出バッファーにEDTAを含まないこと。 ・ $0 < O.D._{260/230} < 3$ であること。 ・劣化がないこと。
PCR産物	≥10µg	≥50µL	≥100ng/µL	・染色なし。 ・コンタミネーションがないこと。
全長アンプリコン	≥400ng	≥20µL	≥100ng/µL	・非粘性であること。 ・ゲルに複数のバンドやスミアバンドがないこと。



概要

本サービスは、Oxford Nanopore社製のPromethIONを採用した次世代シーケンスサービスです。PromethIONは、同社製品であるMinIONやGridIONのようにリアルタイム、ロングリード、ダイレクトなDNAおよびRNAシーケンスを行う技術を採用し、それらをより大規模に行うことのできる、最も高出力な装置です。群集規模のシーケンスや植物ゲノミクスのような大規模なプロジェクトに最適です。

サービス内容

ご送付いただいたDNAサンプルを用いて、品質チェック（QCチェック）から次世代シーケンスまで実施いたします。リードが少ない場合や、大きな構造異変の検出が困難な場合、ゲノムが複雑でアセンブリが難しい場合などにナノポアシーケンスが有用なツールとなります。

- ・統合計算により、リアルタイムのベースコール、およびそれ以降の解析が可能
- ・48個のフローセルを搭載し、ハイスループットな実験が可能
- ・最大1メガバイトまでの超ロングリードが可能

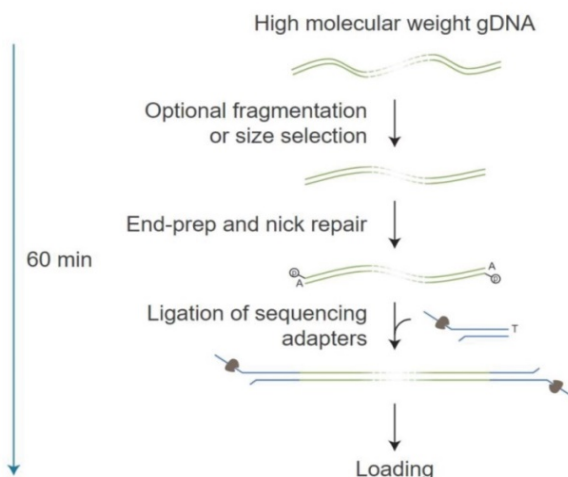
ナノポアシーケンスについて

PromethIONの採用するシーケンステクノロジーは、電気泳動により一分子ずつナノポアを通過させるシーケンス技術です。ナノポアは超微細なサイズのため、一度に1つの核酸重合体しか通過することができません。並んだ塩基がナノポアを通過する際、ポア内に置かれた2つのナノ電極対の間を通る電流が1塩基ずつ異なるため、その違いを測定し、シーケンスを行っていきます。



PromethIONのライブラリー作製手順

本サービスでは、1D Ligation Sequencing Kit (Oxford Nanopore Technologies) を使用しライブラリー調製を行います。この方法はバーコードの有無で2つのライブラリー構築方法に利用することができます。



サンプル条件

サンプルタイプ	必要量	濃度*	純度
ゲノムDNA (メインフラグメント>40K)	3~5μg	NC/QC : 1.5 QC : ≥80ng/μl	O.D. _{260/280} : 1.8 O.D. _{260/230} : 2.0~2.2

*NC=Nanodrop Concentration、QC= Qubit Concentration

*NC/QC=NC÷QCで算出された濃度比。Nanodropの測定値は、塩分など影響を受けやすくQC結果より大きくなるため、NanodropとQubit両方の測定結果を用いて、コンタミを予測しています。

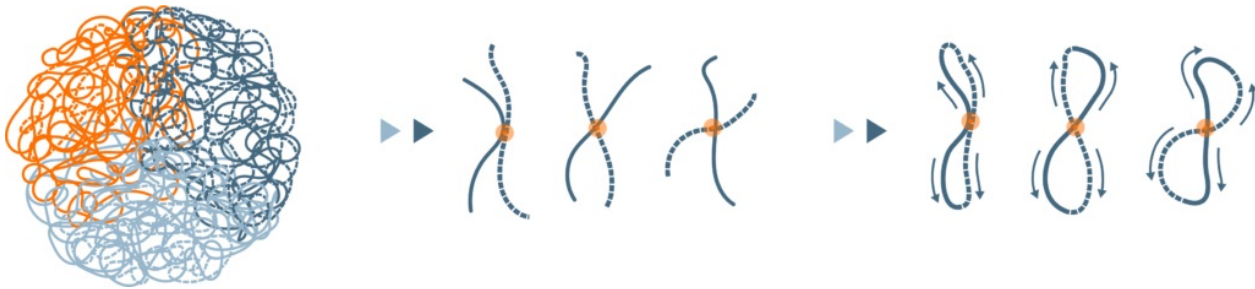


概要

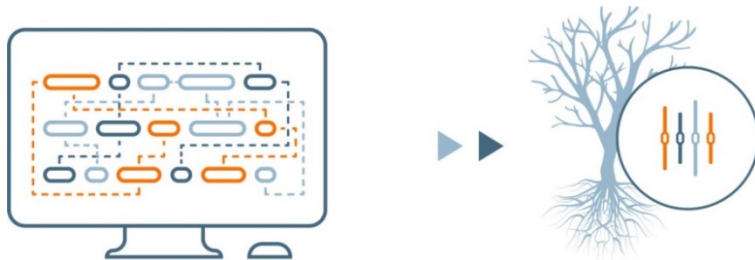
インタクトな細胞内では、クロマチンは複雑な3次元構造に包まれています。これらの構造の中で、物理的距離と遺伝的距離の関係が保存されています。2つの配列が染色体上で近接しているほど、それらは3次元空間でより近くなると考えられています。本サービスで採用するProximo™ Hi-Cは、全ゲノム近接情報を取得し、それを使ってゲノムスキファールディングや構造の変化を検出し、この関係を利用して解析を行います。

サービス内容

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キファ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・シーケンスすることで、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キファールドを導きます。



クロスリンクされたDNAは、エンドヌクレアーゼにより断片化されます。次に、断片化された遺伝子座をビオチン化し、近接ライゲーション（Proximity Ligation）を行うことで、隣接する配列間にキメラ接合部位を作り出します。その後、ビオチン化接合部位を精製して、ペアエンドシーケンスを行います。



近接ライゲーションリードは、任意の長さのゲノム染色体スケールのスキファールディングを可能にするためのドラフトアセンブリに対してマッピングされます。

解析データ例

Contaminated Plant	illumina	+Proximo
Contigs/Scaffolds	12.787	11
Scaffold Length	471Mb	295Mb
Scaffold N50	3.8kb	26.3Mb
Assembly % Expected Size	158.6%	99.3%
Fungal contigs in assembly	1471	4
Bacterial contigs in assembly	1582	0

高分子DNA不要なデコンタミネーションアセンブル

インタクトな細胞を使用し、高分子DNA抽出が不要なため、アセンブリからDNAのコンタミネーションを除外することができます。左図では、174Mbのコンタミネーションシーケンスが除外されています。

サンプル条件

サンプルタイプ	推奨量	その他用意するもの
固定済みサンプル	植物の葉：0.5g 動物組織：～100μl 培養細胞/血液：50μl	ドラフトアセンブリ（FASTA形式）

illuminaやPacBio、その他のコアシークエンシングテクノロジーと良く機能します。また、より良好な結果や既に比較的良好な状態のゲノムの改善のために、他のスキファールディングテクノロジーと組み合わせることが可能です。



メタゲノムシーケンス 受託解析サービス

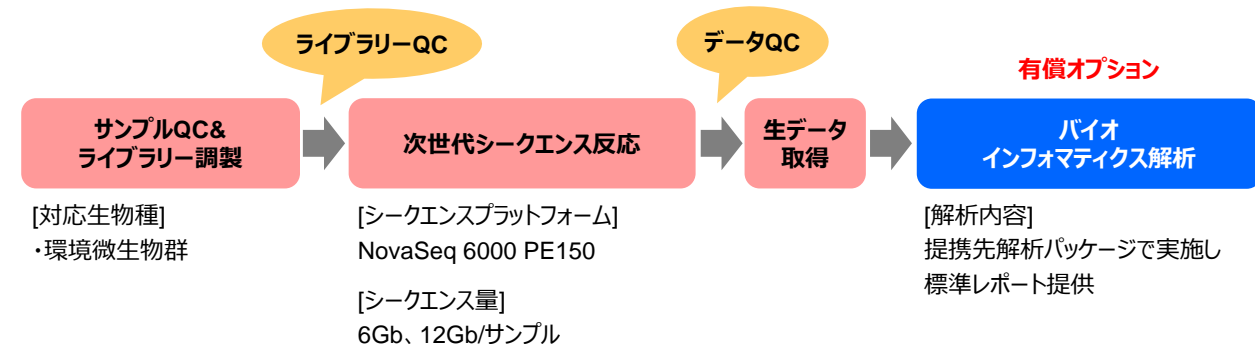
メタゲノム解析

概要

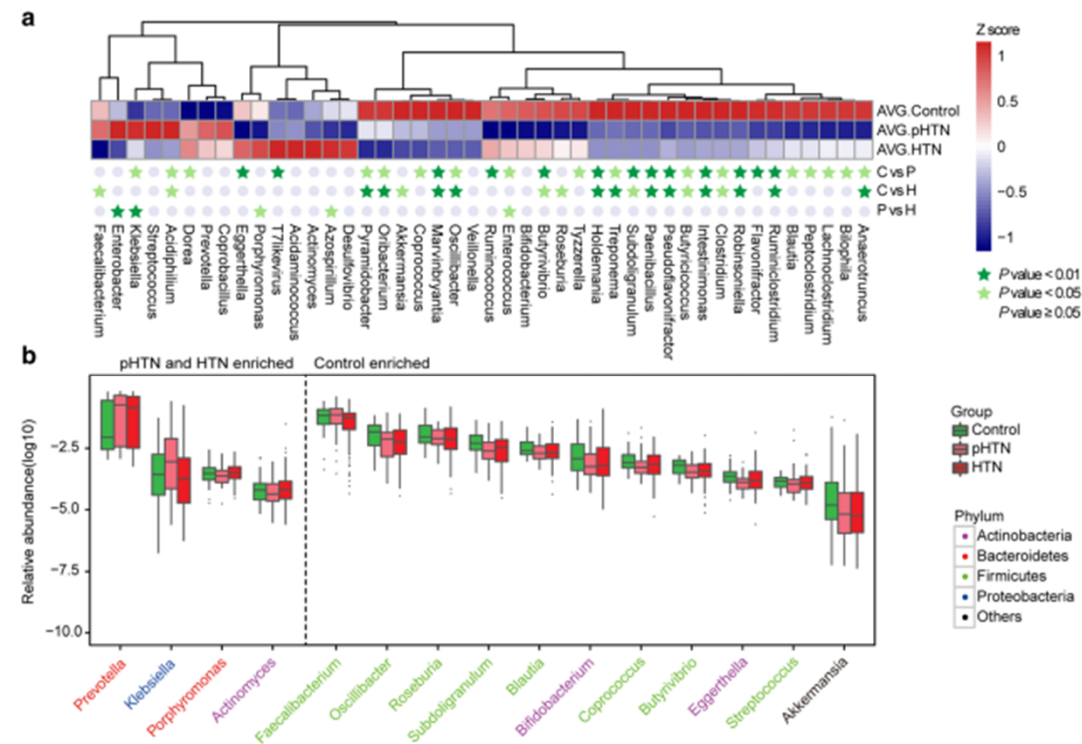
メタゲノム解析は、環境中の微生物のゲノムDNAをすべて抽出・収集し、これらの全ゲノムを網羅的にシーケンスします。得られた配列データをリファレンス配列と相同性検索をすることで、菌種の帰属や菌種組成、挿入、欠失などの情報が得られます。また、機能遺伝子のデータベースに対して、相同性検索を行うことで、その細菌叢がどのような機能遺伝子を持っているかの情報も得ることができます。

サービス内容

ご送付いただいたDNAサンプルを用いて、品質チェック（QCチェック）から次世代シーケンスまで実施いたします。さらに、オプションでバイオインフォマティクス解析にも対応しています。



解析データ例



グループ間で著しく異なる腸内細菌叢
Microbiome 5:14 (2017)

サンプル条件

サンプルタイプ	推奨量	最小量	容量	濃度	純度
ゲノムDNA	≥ 1.6μg	≥ 800ng	≥ 20μl	≥ 50ng/μl	O.D. _{260/280} : 1.8~2.0
* ≥ 2サンプルから受注受付					DNA分解、RNAのコンタミがないこと

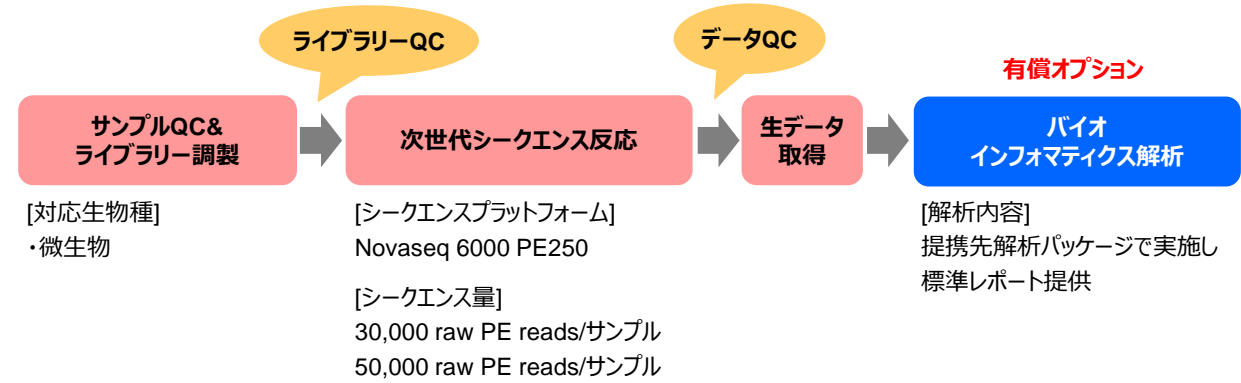


概要

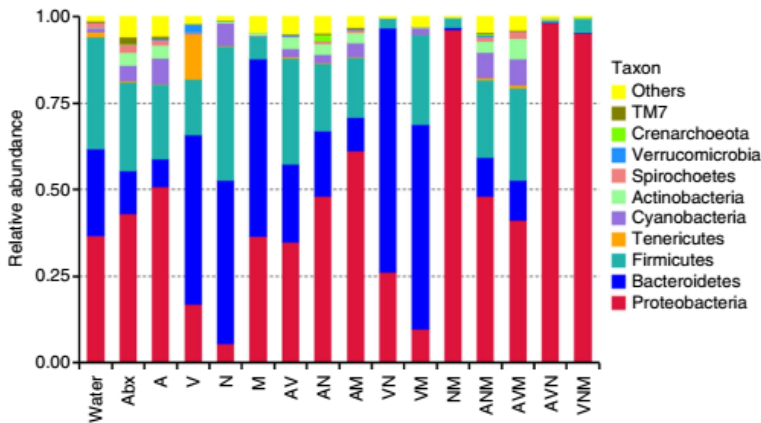
本サービスは、細菌の16S、真菌の18SおよびITS（internal transcribed spacer）を指標とした解析を行います。複数設計されたプライマーセットよりご希望のプライマーセットを選択して頂けます。

サービス内容

ご送付いただいたDNAサンプルを用いて、品質チェック（QCチェック）から次世代シーケンスまで実施いたします。さらに、オプションでバイオインフォマティクス解析にも対応しています。



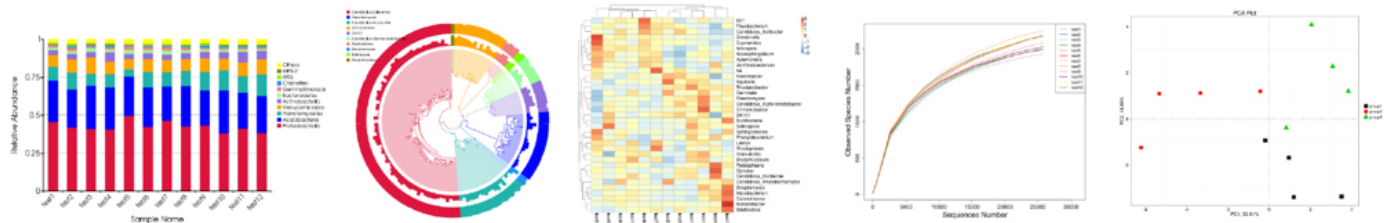
解析データ例



片利共生的な微生物負荷が肝臓の $\gamma\delta T-17$ 細胞数と相関があることを示す16S rRNAシーケンス。
Nature Communication 8: 13839 (2017)

標準データ解析例

実験手順、シーケンスデータのクオリティー情報、菌種組成、系統図、 α 多様性、および β 多様性などについてまとめています。



サンプル条件

サンプルタイプ	推奨量	最小量	液量	濃度	純度
ゲノムDNA	≥ 300ng	≥ 150ng	≥ 20 μ l	≥ 5ng/ μ l	O.D. _{260/280} : 1.8~2.0
* ≥ 10サンプルから受注受付					DNA分解、RNAのコンタミがないこと



Hi-Cメタゲノムデコンボリューション 受託解析サービス

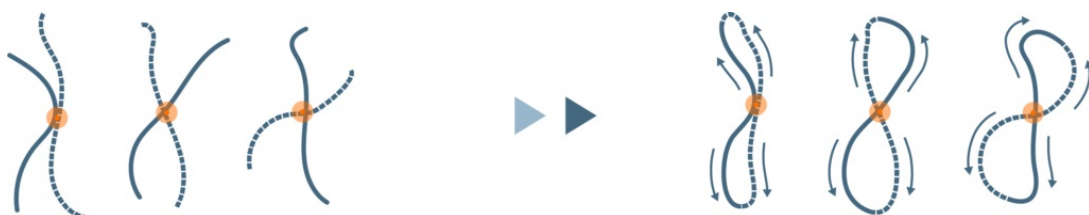
メタゲノム解析

概要

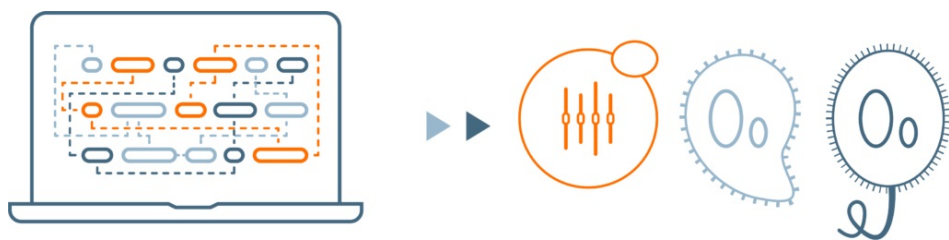
本サービスで採用されているProxiMeta™ Hi-Cは、微生物群集におけるインタクトな細胞内での近位のDNA相互作用を捉え、このデータを活用して、培養することなく複雑な群集から多数の別々のゲノムを構築に便利なツールです。新規ゲノムの捕捉、水平方向の遺伝子転移の検出、および抗菌薬耐性遺伝子の関連付けなどに利用することができます。

サービス内容

本サービスは、ショットガンおよびHi-Cシーケンスを組み合わせることで、多数の生物が含まれる混合サンプルから、同一細胞内に存在したDNAごとにアセンブルを行います。得られた完全、またはほぼ完全な配列をデータベースに照合し、種の同定を行います。新規生物ゲノムについてもアセンブルを行い、近縁種を特定し、新種として同定します。

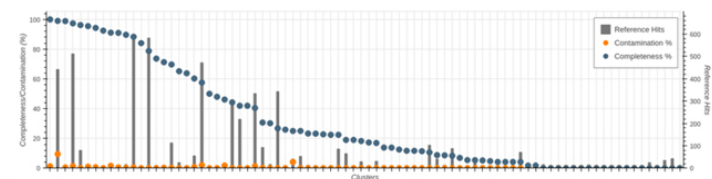


クロスリンクされたDNAは、エンドヌクレアーゼにより断片化されます。次に、断片化された遺伝子座をビオチン化し、近接ライゲーション（Proximity Ligation）を行うことで、隣接する配列間にキメラ接合部位を作り出します。この時、接合部位を形成する任意の2つの配列は、同じ細胞に由来している必要があります。その後、ビオチン化接合部位を精製し、ペアエンドシーケンスを行います。



近接ライゲーションリードは、クラスタリングおよびゲノムアセンブリを行うためのショットガンデータに対してマッピングされます。近接部位の配列は、細胞の起源によってゲノム、プラスミド、およびウイルスDNAをクラスター化するために使用されます。この算出プラットフォームは、ゲノムのアセンブル、株のデコンボリューション、および宿主へのプラスミド/ファージの割り当てを行います。

解析データ例



Cluster ID	Top Reference	Reference Hits	Completeness (%)	Contamination (%)	Abundance (%)	GC (%)	Genome Size	Contig N50
clusters.46	Bacteroides trematum	7	100.0	1.22	0.52	64.82	399639	99072
clusters.14	Pseudomonas fluorescens Pf0-1	442	99.02	0.47	1.26	68.86	4208261	79626
clusters.9	Wolkeella virosa DSM 18922	2	98.89	0.49	0.35	41.46	2982618	189227
clusters.61	Alicyclophorus sp. CR21	522	97.37	1.31	1.29	69.33	3276190	157009
clusters.32	Caenorhabditis elegans GSPan	80	96.21	0.63	1.42	66.77	2896307	53648
clusters.24	Escherichia coli PMV 1	6	95.5	0.98	0.53	49.94	2672098	32251
clusters.3	Bordetella pertussis OMSU III	10	94.3	0.63	0.42	64.89	2767809	139064
clusters.6	Pediococcus acidilactici DSM 12245	2	92.47	0.0	1.58	47.41	2014927	98566
clusters.15	Caenorhabditis elegans GSPan	13	91.09	1.57	1.52	64.53	2958056	32099
clusters.12	Sphingobacterium sp. 21	2	90.95	0.48	0.97	48.19	4809982	101163
clusters.59	Shewanella sp. DD12	16	89.67	0.19	0.52	63.23	4839305	33187
clusters.5	Achromobacter xylosoxidans	599	88.33	0.47	1.12	65.0	4119034	112983
clusters.11	Clostridium sporogenes	2	84.05	0.0	0.54	37.34	2029106	137099
clusters.10	Paracoccus pantotrophus J40	583	78.79	0.0	1.49	67.83	3188337	80551
clusters.17	Ramibacter tataricoflavus TTB310	12	73.84	0.0	1.5	67.06	2342750	56520

再構築（デコンボリュート）後、各ゲノムアセンブルの完全性、コンタミネーション/ミスクラスタリングのレベル、サンプル内の各微生物のアバンダンスを推定します。また、各アセンブルゲノムをグローバルデータベースと比較し、各ゲノムのアイデンティティ（新規ゲノムの場合はその近縁種）を見出します。

サンプル条件

サンプルタイプ	推奨量	その他用意するもの
固定済みサンプル	微生物ペレット：50µl	ドラフトアセンブリ（FASTA形式）

ドラフトアセンブリをお持ちでない場合には、オプションでショットガンシーケンスにも対応しています。



フィルジェンの次世代シーケンス解析サービスについての業務提携および注意事項

業務提携先について *ABC順



DiaCarta社（アメリカ）

リキッドバイオプシーにおけるオンコロジー解析に強みを持つ企業。独自の分子クランプを採用した技術で、がん変異遺伝子の高感度かつ高精度な解析を提供。



Novogene社（中国）

NGS解析、バイオインフォマティクスにおける最高水準の研究開発とサービスを提供。NovoSeq6000を保有し、ヒト全ゲノムシーケンシング解析を高いコストパフォーマンスと処理能力で提供。



Phase Genomics社（アメリカ）

高次のDNA構造を利用して、動植物ゲノムのスキャホールドおよびメタゲノムのアセンブリを劇的に向上させるHi-C法を採用した解析を提供。

解析サービスに関する注意事項

- ◆ 本誌掲載サービスは、全て海外業務提携先で解析が行われるサービスとなります。また、全て研究用途でご提供しており、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・臨床診断などの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、プロバイダー元である業務提携先企業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。また、海外業務提携先である解析元、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。

弊社業務提携先では、解析内容に合わせ複数の次世代シーケンサーを導入して解析サービスを実施しています

フィルジェンでは、現在最も注目を集める最先端テクノロジーである次世代シーケンス（NGS）を用いた受託解析サービスをご提供しています。信頼性の高い海外サービスプロバイダーと業務提携し、幅広い充実したサービスをご提供しています。豊富なアプリケーションに対応できる様に、illumina NovaSeq6000、illumina HiSeq X Ten、illumina MiSeq、NextSeq500、PacBio Sequel IIなど、複数の次世代シーケンサーをご用意しています。





NGSデータ解析用ソフトウェア

CLC Genomics Workbench

QIAGEN社製

基礎的な解析を幅広く行いたい

CLC Genomics Workbenchは世界中で広く利用されている次世代シーケンス解析ソフトウェアです。ユーザーフレンドリーなインターフェースを搭載しているため、簡単な操作で専門的なデータ解析が可能です。



国内600ユーザー突破!!

実行可能なアプリケーション

- ・De Novo アセンブル (DNA)
- ・RNA-Seq解析
- ・変異 (SNV、InDel) 解析
- ・ChIP-Seq解析
- ・BLAST解析
- ・microRNA / small RNA解析 など

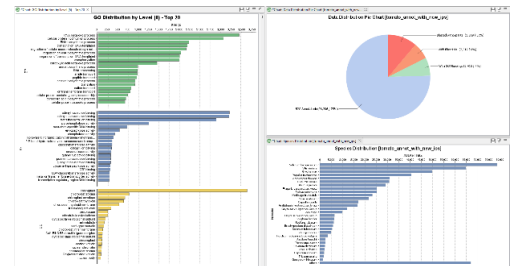
OmicsBox

BioBam社製

非モデル生物をメインとした解析を行いたい

OmicsBoxは、実績は高いがコマンドライン型であったりOSに制限があるオープンソフトウェアを多数組み込み、マウス操作で簡単に解析できる様にしたソフトウェアです。

リファレンスゲノムがないデータでも解析が実行でき、ゲノム、トランスクリプトミクス、メタゲノムのNGSデータ分析に対応します。解析や計算は、統合させたウェブサイトやBioBam社のクラウドを通して行われるため、高価な解析PCを必要せず初期費用を抑えることができます。



農学系研究向けのツールを多数搭載

実行可能なアプリケーション

- ・De Novo アセンブル (DNA、RNA)
- ・リード配列のトリミング
- ・RNA-Seq解析
- ・CD-HIT/TransDecoder
- ・BLAST解析
- ・InterPro Scan
- ・機能アノテーション付与
- ・MLST解析
- ・真核/原核生物の遺伝子予測
- ・16S rRNA菌叢解析
- ・ショットガンメタゲノム解析
- ・fasta,fastqファイルのインポート など

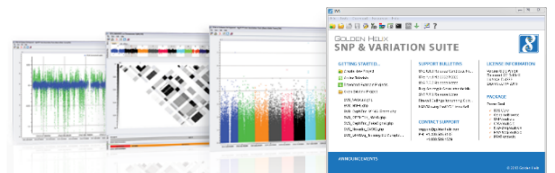
SNP & Variation Suite

Golden Helix社製

集団ゲノムデータの解析を行いたい

SNP & Variation Suite(SVS)は、次世代シーケンサーやSNP/CNVマイクロアレイより得られた膨大な遺伝子型データを管理・分析・可視化することを目的に開発された、ゲノムデータの統合解析ソフトウェアです。

多検体の遺伝子型データと表現型の関連を調べるGWASや、家畜の遺伝的能力の評価などを、統一されたプラットフォームで実行することができます。



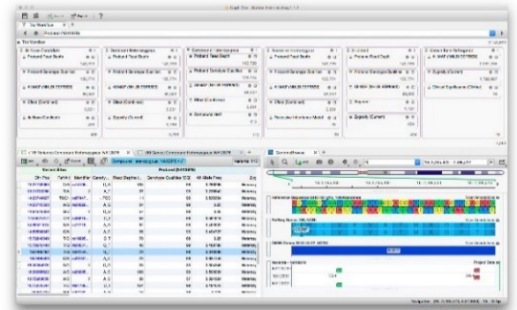
医学・生物学研究はもちろん、家畜や作物の品種改良などの農学研究にも使用可能

実行可能なアプリケーション

- ・ゲノムワイド関連解析 (GWAS)
- ・連鎖不平衡/ハプロタイプ解析
- ・レアバリエント関連解析
- ・線形混合モデル解析
- ・Genomic Prediction
- ・コピー数 (CNV) 解析
- ・Imputation
- ・メタアナリシス
- ・RNA-Seq遺伝子発現解析 など

クリニカルシーケンス解析を行いたい

VarSeq®は、次世代シーケンサーで検出されたヒト臨床検体の遺伝子変異データの解析に用いる、クリニカルシーケンス解析ソフトウェアです。全ゲノムや全エクソーム、遺伝子パネル解析などより得られた遺伝子変異データを用いて、変異のアノテーション付けやフィルタリング、さらにサンプル間の比較などを行い、膨大なデータの中から、生物学的に重要なデータをシンプルかつ高速に探し出すことが可能です。



がんや稀少疾患におけるクリニカルシーケンス研究に最適

実行可能なアプリケーション

- ・様々なデータソースを使用し、変異データへアノテーション付けを実行
- ・変異データのフィルタリング用ワークフローの作成
- ・カバレッジ計算やトリオ解析、HPOに基づく遺伝子ランキング
- ・ゲノムブラウザーによる、BAMファイルデータや各種アノテーションデータのグラフ表示

BioTuring Single Cell Browser

シングルセルRNA-seqデータ解析を行いたい

BioTuring Single Cell Browser(BBROWSER) は、シングルセルRNA-Seqデータの探索と視覚化のための直感的で強力なソフトウェアです。プログラミングの知識がなくても生データからクラスター分析に素早く解析できます。さらに膨大な量のキュレーションされた公開されたデータセットに簡単にアクセスできるため、研究に非常に役立ちます。



生のシーケンスファイルから定量化・比較などの下流分析に対応

実行可能なアプリケーション

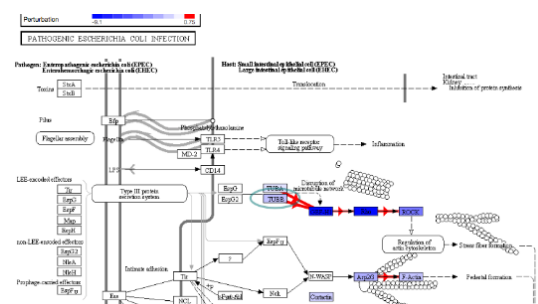
- ・10X Chromiumの生データの定量化
- ・クラスター分けまで自動実行/次元削減(t-SNE、UMAP)の表示切り替え
- ・細胞型の予測やマーカー遺伝子を検索による充実したアノテーション機能
- ・2つのクラスター間の発現比較など下流分析も充実
- ・シングルセルマルチオミクス(TCR-seq、CITE-Seq)空間的トランスクリプトミクス(10X VisiumSpatial Transcriptomics)に対応

iPathwayGuide

パスウェイ解析を行いたい

iPathwayGuideは、次世代シーケンサーやマイクロアレイで得られた遺伝子発現データを使用してパスウェイやGene Ontology、疾患、薬剤、アクティブ化されるmiRNA情報を特定するソフトウェアです。他のパスウェイ分析ソフトウェアとは異なり、遺伝子相互作用を加味した高度なアプローチを採用しています。

ファイルのインポートだけで遺伝子相互作用を加味した重要なパスウェイを特定





概要

GeneFirst社は、特許取得済みの新しいテクノロジーATOMSeqを使用し、cfDNAなどを対象とした次世代シーケンス用のライブラリー調製キットを販売しています。その他にもがん関連のマルチプレックス変異検出を目的としたリアルタイムPCRベースのキットも販売中です。リアルタイムPCRベースのキットに関しては弊社HPからご確認いただけます。

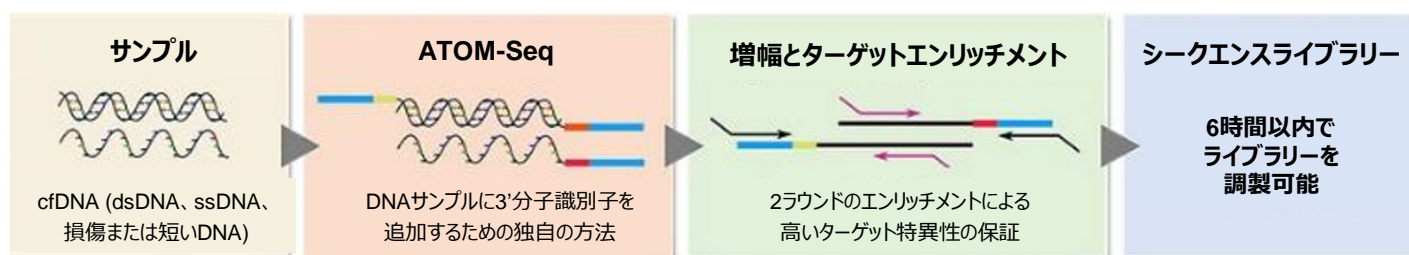
独自の技術 (特許取得)

Adaptor Template Oligo Mediated Sequencing (ATOMSeq®)

ATOMSeq®はPCRやライゲーションに依存しないアプローチを使用して、非常に高い効率でDNAサンプルに直接ユニークな分子識別子 (UMI) を追加することができます。

特長

- リキッドバイオプシーにおいて超高感度で変異検出が可能
- ビーズ精製が少なく済むため高いサンプル保持力を実現
- センス鎖とアンチセンス鎖を独立してターゲットとするため、変異解析の感度と信頼性が向上
- すべてのDNA鎖をターゲットとするため、未知DNAの検出が可能
- UMI追加時のポリメラーゼによるバイアスを回避
- UMIによりエラー修正可能でありインデックスホッピングを回避

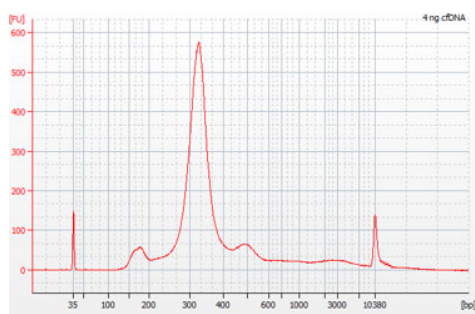


XCeloSeq cfDNA Library Prep Kit

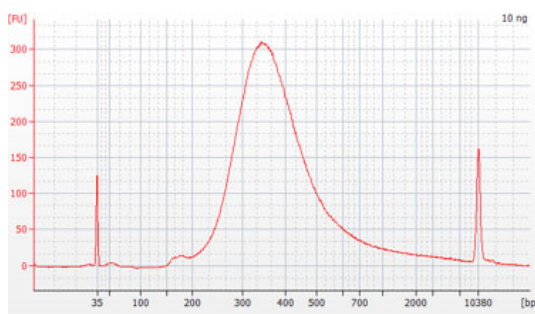
全ゲノム解析
(cfDNA、FFPEなど)

cfDNA、酵素で断片化されたgDNA、FFPEなどを対象として、次世代シーケンシング (Illumina) 機器での使用に適した高品質なライブラリーを生成することが可能です。サンプル中の一本鎖と二本鎖DNAを網羅的に解析することが可能です。

ライブラリー調製後のDNAフラグメント解析の結果



使用したサンプル：
ヒト血漿から抽出した4ng cfDNA



使用したサンプル：
酵素により200~300bpに断片化した10ng gDNA

キット内容

- Adaptor Template Oligo 1
- dNTPs/buffer
- DNA Polymerase
- Enzyme
- Amplification Primers
- Master Mix
- Purification Beads
- Adaptor Template Oligo 2

XCeloSeq Pan Cancer Kit

がんパネル

概要

570を超える領域をターゲットにすることで、100遺伝子にわたって4000を超える変異を検出できるように設計されたがんパネルです。20ngのDNAで0.1%の対立遺伝子頻度 (AF)検出につながる高いキャプチャ効率を有します。液性検体由来（血漿、尿など） / FFPE組織由来 / 損傷または短い一本鎖または二本鎖DNAのような解析が困難なサンプルにも対応しています。結腸がん、肺がん、乳がんに関連する遺伝子をターゲットとするパネルも販売しています。本製品は、下記の100の遺伝子の4000個を超えるCOSMIC変異をターゲットとします。

ABL1	AKT1	ALK	AMER1	APC	AR	ARAF	ARID1A	ATM	BRAF	BRCA1
BRCA2	CASP8	CCND1	CCND2	CCND3	CDH1	CDK4	CDK6	CDKN2A	CHEK2	CSF1R
CTNNB1	DDR2	DMD	EGFR	EP300	ERBB2	ERBB3	ERBB4	ESR1	EZH2	FBXW7
FGFR1	FGFR2	FGFR3	FGFR4	FLT3	GATA3	GNA11	GNAQ	GNAS	HNF1A	HRAS
IDH1	IDH2	JAK2	JAK3	KDM6A	KDR	KEAP1	KIT	KLF5	KRAS	MAP2K1
MAP2K2	MET	MGA	MLH1	MPL	MSH2	MSH6	MTOR	MYC	NF1	NFE2L2
NOTCH1	NPM1	NRAS	NTRK1	NTRK3	PDGFRA	PIK3CA	PTCH1	PTEN	PTPN11	RAF1
RBM10	RET	RHOA	RIT1	RNF43	ROS1	SETD2	SF3B1	SMAD2	SMAD4	SMARCA4
SMARCB1	SMO	SRC	STK11	TCF7L2	TP53*	TSC1	TSC2	UA2F1	VHL	ZFP36L2

*全コーディング領域

変異の対立遺伝子頻度(AF)ごとの変異同定率

AF		5%		1.30%		0.1%
Input DNA (ng)		0.5	1	1	5	20
Average Depth Per Primer	Sense DNA	395	807	870	2193	9361
	Antisense DNA	426	973	1147	2448	9759
	Combined	820	1780	2017	4640	19119
Average Primer Uniformity	Sense DNA	95.7%	96.1%	96.4%	96.8%	96.5%
	Antisense DNA	94.0%	94.3%	94.7%	94.3%	95.1%
	Combined	94.9%	95.2%	95.6%	95.5%	95.8%
Average Primer On Target Rate	Sense DNA	84.5%	85.6%	84.4%	83.9%	84.4%
	Antisense DNA	90.8%	90.6%	91.1%	90.5%	89.6%
	Combined	87.7%	88.1%	87.7%	87.2%	87.0%
Reference Mutations Detected Across 3 Replicates		100%	100%	90.2%	100%	94.0%

AFが5.0、1.3、0.1%になるようにHorizon Discovery社のリファレンススタンダードを調製し試験した結果です。

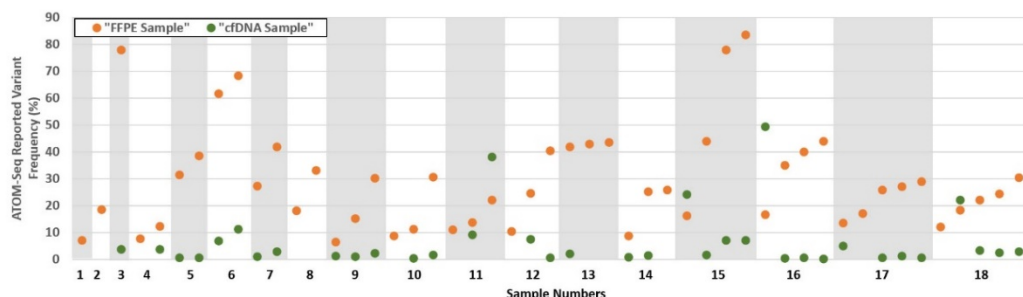
Point

0.1%AFのDNAサンプル (20ng)の変異を94%同定可能!!

肺がんのFFPEとcfDNAをサンプルとして用いた臨床試験

20の肺がんFFPEおよびcfDNAサンプルを用いて臨床試験をした結果です。

	FFPE	cfDNA
変異数	49	37
AF(%)	6.38-83.3	0.13-49.1



製品名	容量	品番
XCeloSeq cfDNA Library Prep Kit	8 反応分	SEQ001
XCeloSeq Pan Cancer Kit	8 反応分	SEQ002
XCeloSeq Colon Cancer cfDNA Kit 23 Gene Targets	8 反応分	SEQ009
XCeloSeq Lung Cancer cfDNA Kit 17 Gene Targets	8 反応分	SEQ010
XCeloSeq Breast Cancer cfDNA Kit 12 Gene Targets	8 反応分	SEQ011



概要

Paragon Genomics 社では、次世代シーケンシング (illumina社、Thermo Fisher Scientific社、またはMGI社に対応) 用の迅速かつ簡単なライブラリー調製キットを販売しています。独自の Ultra-high multiplex PCR-based target enrichment solutions による CleanPlex® background-removing テクノロジーを用いることで、正確で感度が高く、費用対効果の高いターゲットシーケンシングアッセイを可能にします。

独自の技術 (特許取得) CleanPlex® background-removing technology による非標的DNAの除去



【特長】

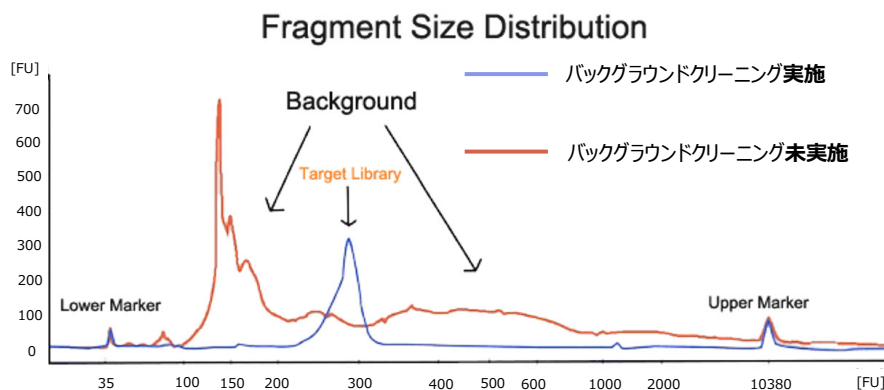
- ・ 高い増幅の均一性と低いPCRバックグラウンドノイズ
 - ・ 正確なバリエーションコール
 - ・ 扱いが難しいサンプル (劣化したFFPE、cfDNA) との互換性あり
 - ・ 単一チューブおよび3時間のワークフロー
 - ・ 少ないシーケンスコストでも感度が極めて高い
 - ・ **カスタムパネル作成可能** (DNA、RNAパネルの400を超える実績あり)
- https://filgen.jp/Product/Bioscience4/Paragon_Genomics/index2.html

キット内容

- 5X Ultra mPCR Mix
- CleanPlex Reagent Buffer
- CleanPlex Digestion Reagent
- Stop Buffer
- 5X 2nd PCR Mix
- TE Buffer
- CleanPlex Primer Pool

※ CleanPlex Indexed PCR PrimersとMagnetic Beadsは別途購入が必要です。

バックグラウンドクリーニングによる高いシーケンスパフォーマンス



Point

シャープかつクリーンなライブラリーピークが取得可能なため、少ないコストで高感度の解析が可能!!

CleanPlex® BRCA1 & BRCA2 Panel v3

がんパネル

本パネルは、BRCA1およびBRCA2遺伝子全体にわたる体細胞および生殖細胞変異の評価をするために設計された、マルチプレックスPCRベースのターゲットリシーケンスアッセイです。わずか20ngのDNAを使用して、変異体対立遺伝子頻度が1%と低い体細胞変異を検出することが可能です。

CleanPlex® TP53 Panel

がんパネル

本パネルは、TP53遺伝子全体の体細胞および生殖細胞変異の評価をするために設計された、マルチプレックスPCRベースのターゲットリシーケンスアッセイです。TP53のすべてのエクソン領域と隣接するイントロン配列をターゲットとしています。わずか20ngのDNAを使用して、変異体対立遺伝子頻度が1%と低い体細胞変異を検出することが可能です。

CleanPlex® OncoZoom Cancer Hotspot Panel

がんパネル

本パネルは、65の発がん遺伝子と腫瘍抑制遺伝子の2,900以上のホットスポットをターゲットに設定し、領域全体の体細胞変異を検出することが可能です。わずか10pgのDNA量で、高いオンターゲット率と均一性の高いカバレッジデータを得ることができ、体細胞変異を1%の頻度まで検出可能です。FFPE組織から単離されたDNAなどの分解サンプルにも対応しています。

ターゲット遺伝子リスト

ABL1	BRCA2	EGFR	FGFR2	HNF1A	KIT	MTOR	PIK3CA	SMAD4	TSC1
AKT1	CDH1	ERBB2	FGFR3	HRAS	KRAS	NF1	PIK3R1	SMARCB1	VHL
ALK	CDKN2A	ERBB3	FLT	IDH1	MAP2K1	NF2	PTCH1	SMO	
APC	CSF1R	ERBB4	FOXL2	IDH2	MET	NOTCH1	PTEN	SRC	
ATM	CTNNB1	EZH2	GNA11	JAK2	MLH1	NPM1	PTPN11	STK11	
BRAF	DDR2	FBXW7	GNAQ	JAK3	MPL	NRAS	RB1	TERT	
BRCA1	DNMT3A	FGFR1	GNAS	KDR	MSH6	PDGFRA	RET	TP53	

CleanPlex® Hereditary Cancer Panel v2

がんパネル

本パネルは、遺伝性がんの発症リスクの増加に関連する遺伝子を分析するために設計されています。関連するがんには、乳がん、卵巣がん、子宮がん、皮膚がん、前立腺がん、胃がん、結腸直腸がん、膵臓がんなどが含まれます。パネルは、37の遺伝子の一塩基変異および短い挿入や欠失など様々な変異を検出することが可能です。

ターゲット遺伝子リスト

APC	BRIP1	MEN1	PALB2	RNF139	ATM	CDH1	MITF	PMS2	SMAD4
BAP1	CDK4	MLH1	POLD1	STK11	BARD1	CDKN2A	MRE11A	POLE	TP53
BLM	CHEK2	MSH2	PTEN	XRCC2	BMPR1A	EPCAM	RAD51D	RAD50	RAD51C
BRCA1	BRCA2	FAM175A	MUTYH	MSH6	GREM1	NBN			

※ Target Type : Exon Coding Sequence (CDS)

CleanPlex® TMB 500 Panel

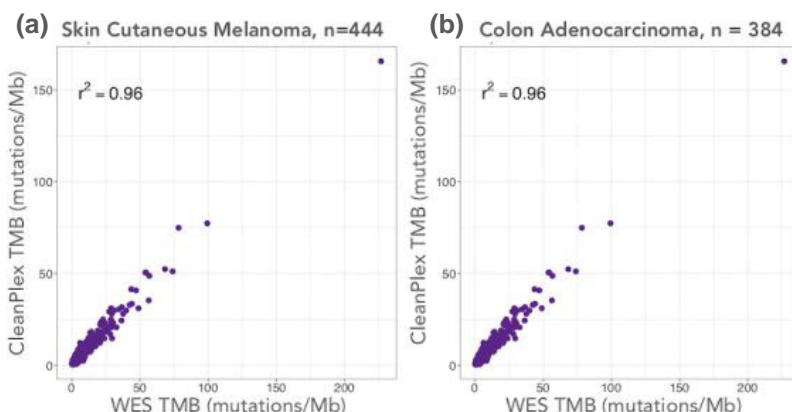
がんパネル

本パネルは、腫瘍変異負荷 (tumor mutational burden) およびがんプロファイリングの迅速かつ正確な評価を可能とします。主要な固形腫瘍の516の遺伝子をターゲットとしており、一塩基変異および短い挿入や欠失の両方を検出します。わずか20ngのFFPE DNA または血液サンプルの高品質gDNAを使用し、豊富なターゲット遺伝子のライブラリーを構築します。

全エクソームシーケンスとの相関

Cancer Genome Atlasのデータを使用して、本パネルと全エクソームシーケンスで検出された体細胞変異数の相関を比較しました。

- (a) 皮膚悪性腫瘍 (n = 444)
- (b) 結腸直腸腺がん (n = 384)



Point

全エクソームシーケンスとの相関は96%以上!!



CleanPlex® Mitochondrial Disease Panel

遺伝性疾患パネル

本パネルは、ヒトミトコンドリアゲノム全体の変異を評価するために設計された、マルチプレックスPCRベースのターゲットリシーケンスアッセイです。約17kbのミトコンドリアゲノムの37遺伝子すべてをターゲットにし、完全にカバーしているため、重要な変異の同定が可能です。高品質のゲノムDNAを2ngを使用して、高いオンターゲット率と均一性の高いカバレッジデータを得ることができます。

ターゲット遺伝子リスト

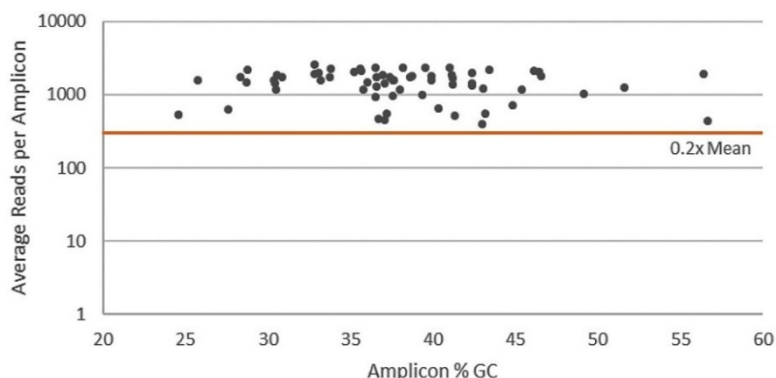
MT-ATP6	MT-ND3	MT-TC	MT-TL1	MT-TL1	MT-TS2	MT-CO3	MT-ND6	MT-TG	MT-TP	MT-TY
MT-ATP8	MT-ND4	MT-TD	MT-TL2	MT-TL2	MT-TT	MT-CY8	MT-RNR1	MT-TH	MT-TQ	
MT-CO1	MT-ND4L	MT-TE	MT-TM	MT-TM	MT-TV	MT-ND1	MT-RNR2	MT-TI	MT-TR	
MT-CO2	MT-ND5	ME-TF	MT-TN	MT-TN	MT-TW	MT-ND2	MT-TA	MT-TK	MT-TS1	

CleanPlex® CFTR Panel

遺伝性疾患パネル

本パネルは、嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子（CFTR）遺伝子全体の生殖細胞変異体の評価が可能です。CFTRのすべてのエクソン領域と隣接するイントロン配列をターゲットとしています。わずか10ngのDNAを使用して、高いオンターゲット率と均一性が高いカバレッジデータを得ることができ、新規または既知の変異を検出することが可能です。

10ngのgDNAを用いたUniformity Plot



% uniformity	%on Target	% Mapping
100%	99.9%	99.6%

製品名 (For Illumina)

製品名 (For Illumina)	品番 (8反応分)	品番 (96反応分)
CleanPlex® BRCA1 & BRCA2 Panel v3	916112	916113
CleanPlex® TP53 Panel	916008	916009
CleanPlex® OncoZoom Cancer Hotspot Panel	916001	916002
CleanPlex® Hereditary Cancer Panel v2	916114	916113
CleanPlex® TMB 500 Panel	916073	916074
CleanPlex® Mitochondrial Disease Panel	916107	916063
CleanPlex® CFTR Panel	916116	916117

各パネルにはIndexed PCR PrimerとMagnetic Beadsが含まれておりませんので別途購入が必要です。

製品名	容量	品番
CleanPlex® Indexed PCR Primers	8 反応分	716021
	96 反応分	716018
CleanMag® Magnetic Beads ※	1 ml, 9 反応分	718001
	60 ml, 540 反応分	718003

※ CleanMag Magnetic BeadsはAMPure™ XP Kit (Beckman Coulter)を代替品としてご使用いただけます。



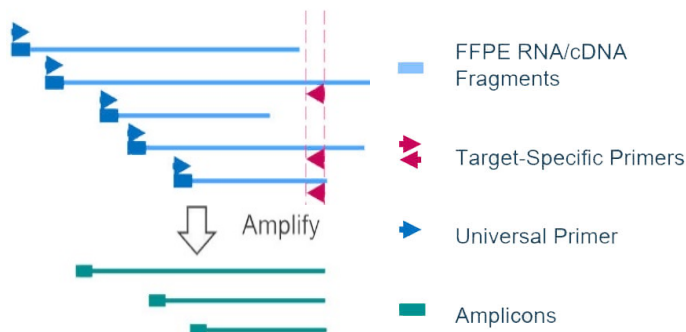
OmniFusion™ RNA Lung Cancer Panel

融合遺伝子パネル

本パネルはCleanPlexテクノロジーを採用したターゲットエンリッチメントによる非小細胞肺癌に関連する530を超える既知および未知の融合遺伝子の検出を可能にします。新規の融合パートナーに加えて、スプライシングバリエーションの検出も可能です。

- **肺癌に関連する既知および新規のRNA融合の同定**
シングルプライマー法を使用して、530を超える既知のRNA融合および新規RNA融合を同定可能
- **非常に低いrRNAレートで優れたパフォーマンス**
OmniFusion™ 技術により高品質のターゲットNGSライブラリーを調製することで、非常に高いオンターゲット率を実現
- **高感度な検出**
1%までのバリエーション頻度を高い信頼性で検出可能

OmniFusion™ シングルプライマー法



- ① テンプレートスイッチングテクノロジーを使用して、RNAフラグメントの5'末端にユニバーサルプライマーを追加
- ② アクセプター遺伝子に特異的なターゲット3'プライマーと組み合わせることで、テンプレートの長さの制限を回避し、FFPE RNAなどの損傷したRNAフラグメントでもより高い感度を実現
- ③ 新規を含むRNAフラグメントの変異を検出可能

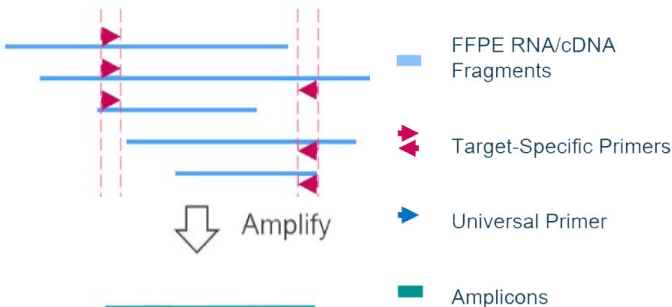
AccuFusion™ RNA Lung Cancer Panel

融合遺伝子パネル

本パネルはアンプリコンベースのターゲットエンリッチメントによる非小細胞肺癌に関連する280の既知融合遺伝子の検出を可能にします。既知の融合遺伝子に特異的なターゲットプライマーを使用して、ライブラリーを作成します。

- **肺癌に関連する既知のRNA融合の同定**
ターゲット遺伝子に特異的なデュアルプライマー-マルチプレックスPCR法を使用して、約280の既知のRNA融合を検出します。
- **高いオンターゲットレートで優れたパフォーマンス**
AccuFusion™ 技術により高品質のターゲットNGSライブラリーを調製することで、非常に高いオンターゲット率を実現します。
- **高感度な検出**
1%までのバリエーション頻度を高い信頼性で検出可能です。

OmniFusion™ デュアルプライマーマルチプレックスPCR法



- ① 融合遺伝子ターゲット特異的プライマーを使用してライブラリーを生成
- ② デュアルプライマーベースのテクノロジーによる高い感度での解析
 - 10ng RNA inputであっても、まれな変異体を高感度で検出可能
 - FFPE RNAなどの損傷したRNAフラグメントでもより高い感度を実現
 - 増幅バイアスが少なく、コピー数の相関が高い結果を得ることが可能

製品名	品番 (8反応分)	品番 (96反応分)
OmniFusion™ RNA Lung Cancer Panel	917100	917101
AccuFusion™ RNA Lung Cancer Panel	917103	917104

各パネルにはIndexed PCR PrimerとMagnetic Beadsが含まれておりませんので別途購入が必要です。

※ CleanMag Magnetic BeadsはAMPure™ XP Kit (Beckman Coulter)を代替品としてご使用いただけます。



概要

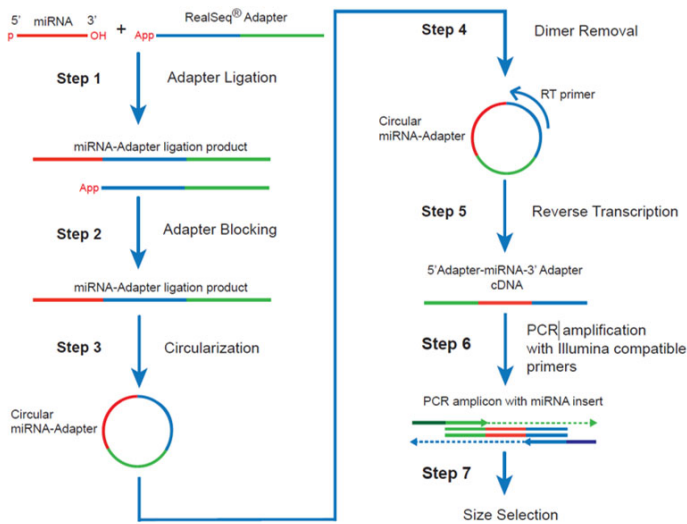
RealSeq社は、次世代シーケンス解析用のsmall RNAライブラリーを調製する段階におけるバイアスを最小限に抑える独自の技術を開発しました。多くのmiRNAの検出不足につながる、シーケンスライブラリー調製時のアダプターライゲーションによるバイアスの問題を解決します。本キットと他社製品を比較したシーケンスバイアスに関する文献も掲載されています。

独自の技術 (特許取得)

3'および5'末端にアダプターを追加する際のバイアスを大幅に減少させる環状化ライゲーション法

【特長】

- empty adapter/adapter dimer をほとんど形成しないため、1ngの低量RNAでライブラリーをゲルフリーで精製可能
- miRNAシーケンスバイアスを大幅に削減し、生体サンプル中の多種多様なmiRNAやその他の低分子RNAの検出が可能
- 検出の精度が高いため、堅牢なmiRNAの定量が可能



Point

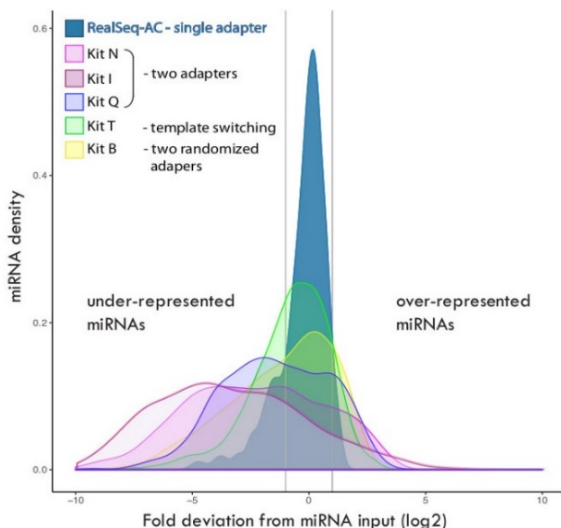
単一アダプターとの環状化ライゲーション法により、miRNAの3'および5'末端にアダプターを追加する際のバイアスを大幅に減少させることが可能!!

RealSeq®-AC miRNA Library Kit

組織、細胞内 miRNA

細胞や組織中のmiRNAおよびその他の低分子RNAの多様な検出と精度の高い定量が可能です。

6つの異なる市販のライブラリー調製キットとシーケンスバイアスを比較した結果



Point

バイアスが大幅に低く、検出miRNAの71.8%を正確に定量可能!!

リアルタイムPCRの定量結果と比較してもRealSeq®-AC miRNA Library Kitが最も高い相関を示しました。

他キットとのシーケンスバイアスを比較した文献は弊社HPからご確認いただけます。

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6120088/>

キット内容

- Adapter ligation Set
- Adapter blocking Set
- Circularization Set
- Dimer removal Agent
- Reverse transcription Set
- Index PCR Set
- RNase-Free Water
- miRNA Control

※Magnetic Beadsは別途購入が必要です。

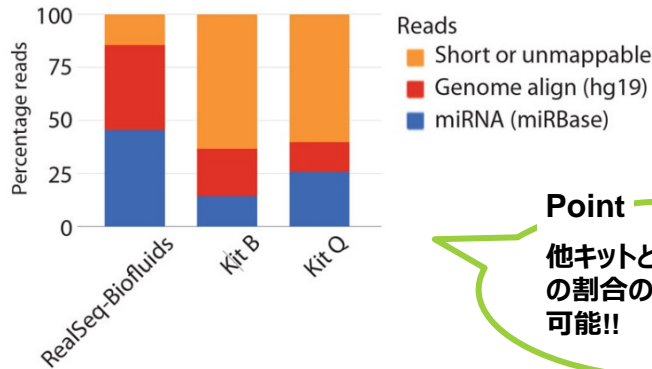
RealSeq®-Biofluids Plasma/Serum miRNA Library Kit

リキッドバイオプシー
miRNA

血漿などの生体液中のcf-miRNAをゲルフリーのプロトコルで正確かつ高感度な定量が可能なNGS (illumina) 用ライブラリー調製キットです。

3つの異なるライブラリー調製キットを使用した血漿miRNAのプロファイリングの結果

200µLの血漿サンプルから抽出したRNAを使用して、3つのライブラリー調製のキットで検出されたmiRNAの性質ごとの割合を比較しました。



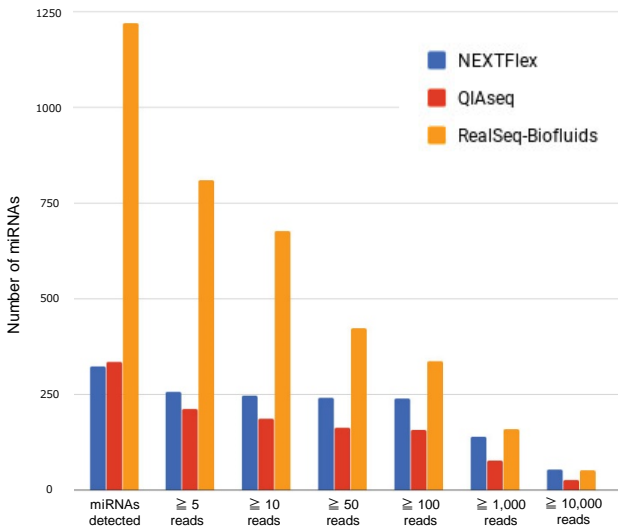
Point

他キットと比較して多くの割合のRNAを同定可能!!

キット内容

- Adapter ligation Set
- Adapter blocking Set
- Circularization Set
- Dimer removal Agent
- Reverse transcription Set
- Index PCR Set
- Size select Beads
- HY4 Removal Agent
- RNase-Free Water
- miRNA Control

各ライブラリー調製キットの異なるカバレッジで検出されたmiRNAの数を示す結果



200µLの血漿サンプルから抽出したRNAを使用して、3つのライブラリー調製キットで検出されたmiRNAの同定数をカバレッジごとで比較しました。

Point

他キットと比較して多くのmiRNAを同定することが可能であり、カバレッジが少ないmiRNAであるほど同定数の差は顕著!!

他キットとのシーケンスバイアスを比較したデータは弊社HPからご確認いただけます。

https://filgen.jp/Product/Bioscience4/RealSeq/RS_BF_ABRF2018.pdf

製品名	容量	品番
RealSeq®-AC miRNA Library Kit	12 反応分	500-00012
	48 反応分	500-00048
RealSeq®-Biofluids Plasma/Serum miRNA Library Kit	12 反応分	600-00012
	48 反応分	600-00048
RealSeq®-AC size select beads	12 反応分	510-00012
※AMPure™ XP Kit (Beckman Coulter)で可能です。	48 反応分	510-00048



Seq-Star™ rRNA Removal Kit

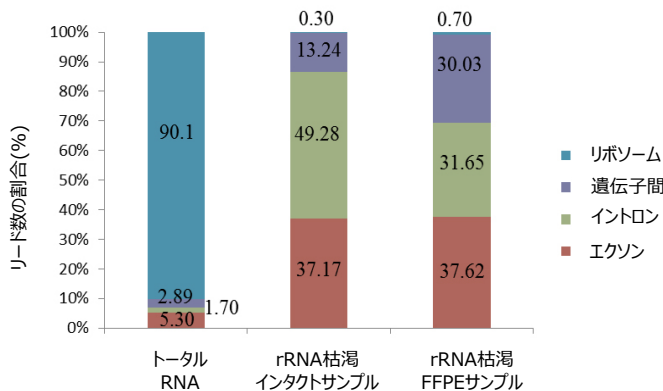
rRNA除去

酵素法を使用して、NGS RNA-seqライブラリー調製用のトータルRNAに含まれるrRNAを除去するキットです。ヒト、マウス、ラットのトータルRNAサンプルからの細胞質（5S、5.8S、18S、28S）およびミトコンドリア（12S、16S）リボソームRNAを効率的に枯渇させます。本キットは、インタクトなRNAサンプルまたは分解されたRNAサンプルに特に適しています。

【特長】

- 高いrRNA枯渇効率
- ポリアデニル化RNA（mRNAなど）と非ポリアデニル化RNA（多くの長い非コーディングRNAなど）の両方の濃縮に最適
- インタクトRNAサンプルと分解されたRNAサンプル（FFPE RNAなど）の両方のrRNA除去に使用可能
- 磁気ビーズにより簡単にrRNA枯渇後のRNAを精製・収集
- シンプルで迅速な手順

本キットでインタクトまたはFFPEサンプルから生成されたRNA-seqの結果



オリゴ（dT）によるmRNA濃縮と比較して、本キットは、ポリアデニル化mRNAおよび非ポリアデニル化RNA転写物（多くの長い非コーディングRNAやアンチセンス転写物など）を保持しながらrRNAを選択的に消化しています。

また、固相でのオリゴヌクレオチド捕捉によるrRNA除去と比較して、本キットは、分解されたトータルRNA中の断片化されたrRNAも除去可能です。

Seq-Star™ poly(A) mRNA Isolation Kit

rRNA除去

トータルRNAサンプルから高純度でインタクトなpoly(A) mRNAを分離するキットで、NGS RNA-seqライブラリーの調製に最適です。poly(A) mRNAは、オリゴ（dT）コンジュゲート磁気ビーズによって濃縮されます。各反応で1~5 μgのトータルRNAを精製できます。精製されたpoly(A) mRNAは少量で溶出され、沈殿不要ですぐに利用可能です。

【特長】

- NGSライブラリーの準備とデータ品質のためのpoly(A) mRNAの高純度要件を満たすための2つのmRNA結合ラウンド
- 最適化されたバッファーとオリゴ（dT）ビーズによる、高いpoly(A) mRNA回収率
- シングルチューブと高スループレートフォーマットの両方の操作をサポート。遠心分離や沈殿不要
- 精製されたpoly(A) mRNAが少量で溶出され、RNA-seqライブラリー調製の準備が完了

ワークフロー



製品名	容量	品番
Seq-Star™ rRNA Removal Kit	12反応分	AS-MB-001
Seq-Star™ poly(A) mRNA Isolation Kit	24反応分	AS-MB-006-01
	96反応分	AS-MB-006-02



概要

YouSeq社は経験豊富な専門家たちによって設立され、世界で最も簡単でわかりやすい次世代シーケンシングキットやqPCRキットを製造しています。YouSeq社が販売しているキットは追加で別の試薬を購入する必要がなく、1つのキットに必要なものが全て揃ったコンプリートソリューションです。

SARS-COV-2 NGS LIBRARY PREP KIT

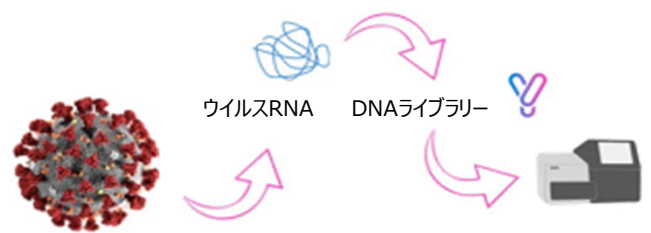
全長解析、変異解析

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）用の迅速で簡単なNGS (Illumina)ライブラリー調製キットです。低コピー数のウイルスRNAから約5.5時間でライブラリーを作成するために必要な試薬がすべて揃っているコンプリートソリューションです。



【特長】

- ・迅速かつ簡単なプロトコル
- ・99.5%のウイルスゲノムカバレッジ
- ・優れた感度
- ・ライブラリー調製のために必要なすべての試薬が含まれたキット



キット内容

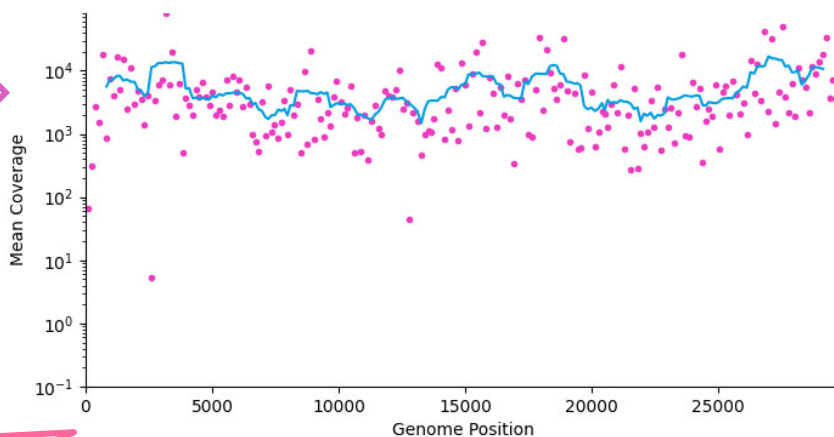
RT Pack	PCR1 & Cleaning Pack
Reverse Transcription Buffer	SARS-CoV 2 primers Pool A
Reverse Transcriptase	SARS-CoV 2 primers Pool B
DTT	MasterMix
dNTPs	Cleaning Reagent
Random Hexamers	Cleaning Solution
PCR2 Pack	Bead clean pack
MasterMix	Clean up beads
dual-labelled Index Primers	Wash buffer
	Elution buffer

臨床検体から抽出したサンプルを用いてテストした結果



鼻咽頭スワブから
Total RNA抽出
800コピーのウイルスRNA

▼800コピーのウイルスRNAを用いた場合のカバレッジに関するデータ



Point

99.5%のウイルスゲノムが25×のシーケンス深度で取得可能!!

1×	10×	25×	50×
99.9%	99.5%	99.5%	99.4%

製品名

SARS-COV-2 NGS LIBRARY PREP KIT

容量

96 反応分

品番

YS-NGS-nCoV19-IL-96



CleanPlex® SARS-CoV-2 Panel

全長解析、変異解析

本パネルは、illumina、MGIに対応しているNGSパネルであり、SARS-CoV-2完全ゲノム配列決定を可能にします。CleanPlex background-removing technologyにより低ウイルスコピー、低シーケンス深度の条件であっても卓越した感度で解析が可能のため、コストの大幅な削減につながります。

独自開発のプライマー

Wuhan-Hu-1株(MN908947/NC_045512.2)全長の**99.7%**をカバーするように設計されています。

ターゲットサイズ	29,903 bp
アンプリコンの数	343
アンプリコンのサイズ	116 - 196 bp, Median 149bp
プライマープールの数	2
メジャーな株の完全長をカバー	MN908947, MT007544

キット内容

- CleanPlex SARS-CoV-2 Primer Pool 1
- CleanPlex SARS-CoV-2 Primer Pool 2
- Reverse Transcription Primer Mix
- Reverse Transcription Enzyme
- Reverse Transcription Buffer
- 5X mPCR Mix
- CleanPlex Reagent Buffer
- CleanPlex Digestion Reagent
- Stop Buffer
- 5X 2nd PCR Mix
- TE Buffer
- Water (DNase and RNase-free)

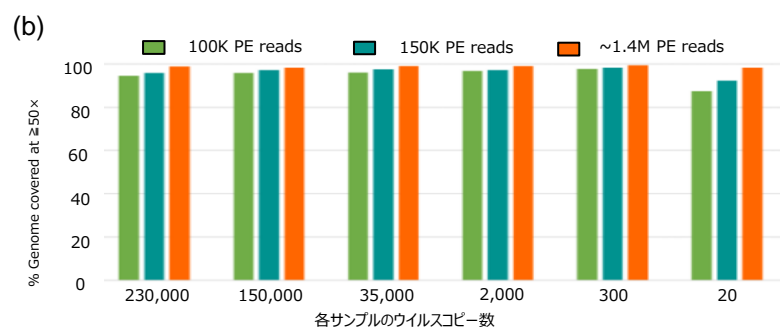
※CleanPlex Indexed PCR PrimersとMagnetic Beadsは別途購入が必要です。

さまざまなウイルス量のサンプルを用いたゲノムカバレッジに関するテストデータ



(a) 50k - 150K PE リードで解析した時に10×のシーケンス深度以上で得られたゲノムカバレッジ

(b) 100k - 1.4M PE リードで解析した時に50×のシーケンス深度以上で得られたゲノムカバレッジ



Point

低いウイルスコピー数においても高いゲノムカバレッジで解析可能!!

変異検出精度に関するテストデータ

SARS-CoV-2 MT007544株RNAを使用して本パネルで全長解析を行い、検出が予想される4つの変異の検出率の結果

Base Position	Reference base	Alternative Base	Call Frequency
19065	T	C	99.4%
22303	T	G	99.0%
26144	G	T	99.3%
29749	ACGATCGAGTG	A	99.5%

Point

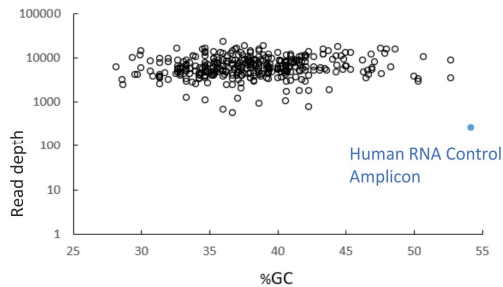
非常に高い精度でSARS-CoV-2変異を検出することが可能!!

CleanPlex® SARS-CoV-2 FLEX Panel

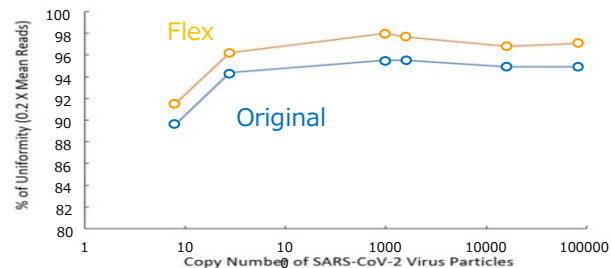
全長解析、変異解析

本パネルはゲノムの多型領域の縮重プライマーを採用し、より強力な変異検出能を有しているため、通常品と比較してアンプリコンの均一性がわずかに向上し、通常品では若干増幅効率が低くなる変異株のカバレッジが改善されます。Human RNAコントロールプライマーが含まれており、確実なネガティブコントロールとして機能します。コントロールプライマーは TATA Binding protein (TBP)のヒトハウスキーピング遺伝子をターゲットとしています。

SARS-CoV-2 FLEX Panelのアンプリコンの均一性に関するデータ



▲GC%とRead depthによってプロットされた343アンプリコンの均一性



▲通常品とFLEXパネルの均一性を比較した結果

CleanPlex® Respiratory Virus Research Panel V2

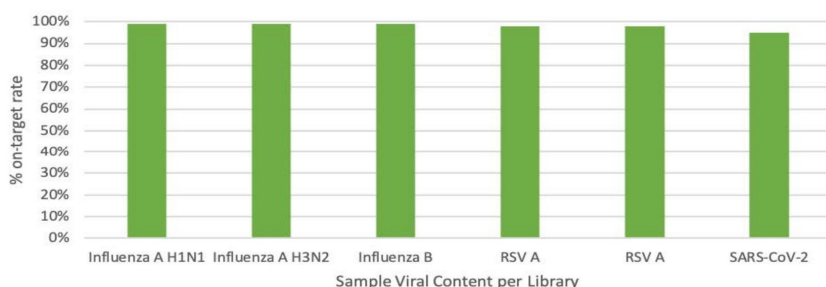
全長解析、変異解析

本パネルは、SARS-CoV-2の完全ゲノム配列とインフルエンザA H1N1、H1N2、H3N2、インフルエンザB、呼吸器合胞体ウイルス (RSV) A、Bの部分配列を同時に検出可能です。TATA Binding protein (TBP)のヒトハウスキーピング遺伝子をターゲットとするHuman RNAコントロールプライマーも含まれています。

検出可能なウイルスとターゲット領域

ウイルス	ターゲット領域	アンプリコン数
SARS-CoV-2	完全ゲノム配列(ゲノム末端の92 bpを除く)	172 (pool 1)、 171 (pool 2)
Influenza A H1N1	HA、M1、NA、NP、NS1、PA、PB1、PB2	18 (pool 1)
Influenza A H1N2	HA、M1、M2、NA、NP、NS1、PB1、PB2	17 (pool 1)
Influenza A H3N2	HA、M1、M2、NA、NP、NS1、PA、PB1、PB2	31 (pool 1)
Influenza B	HA、M1、NA、NS1、PB1、PB2	32 (pool 1)
RSV A	G、F、M、N、NS1、NS2、L、SH、M2-1	21 (pool 1)
RSV B	G、F、M、N、NS1、NS2、P、L、SH、M2-1	30 (pool 1)
Human RNA Primer Control	TBP (House Keeping Gene)	1 (pool1)

各ウイルスコントロールサンプルから調製されたライブラリーのアンプリコンのon-target rate



Point

シーケンスデータはサンプルあたりわずか50,000リードのダウンサンプリング

製品名	品番 (8反応分)	品番 (96反応分)
CleanPlex® SARS-CoV-2 Panel	918010	918011
CleanPlex® SARS-CoV-2 FLEX Panel	918013	918014
CleanPlex® Respiratory Virus Research Panel V2	918305	918304

各パネルにはIndexed PCR PrimerとMagnetic Beadsが含まれておりませんので別途購入が必要です。

※ CleanMag Magnetic BeadsはAMPure™ XP Kit (Beckman Coulter)を代替品としてご使用いただけます。

輸入販売元



フィルジェン 株式会社

【お問い合わせ】

〒459-8011 愛知県名古屋市緑区定納山1丁目1409番地

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

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

代理店

(May.,2021)