

Target Capture for Next Generation Sequencing

xGen® は次世代シーケンス実験において、キャプチャープローブを用いたターゲットシーケンス法の製品です。

xGen® 製品を用いれば、ハイスループットで高い精度のターゲットエンリッチメントを行えます。

プローブ1本1本すべてに品質管理を行っているため、プローブの抜け落ちがなく、均一性に優れたデータを取得できます。

既存の遺伝子パネルにプローブを加えることで、安価にオリジナルのパネルを作製する事も出来ます。

製品一覧

xGen® Lockdown® Probes



xGen Lockdown Probes は、プローブごとに合成及び品質管理を行っているため、小さな領域でも柔軟に対応可能です。各遺伝子から目的の遺伝子をお選びいただくプレデザイン品と、ご希望のプローブ配列を合成するカスタム品をご用意しております。新規プローブセットの作製や既存のプローブセットの拡張・補填など、実験目的に合わせたプローブセットをご購入いただけます。

xGen® Lockdown® Panels



バリデーション済みのエクソームシーケンスや疾患特異的プローブセット（パネル）です。

xGen® Blocking Oligos



アダプター配列に特異的に結合するブロッキングオリゴです。サンプル同士の結合を防ぐことで、クロスハイブリダイゼーションやオフターゲットを減らすことができ、ターゲット領域もより深く解析できます。

Hybridization and Wash Kit



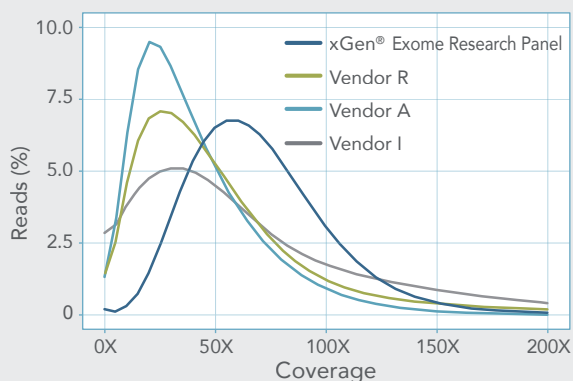
xGen® Lockdown® Reagents は、xGen Lockdown Probes、Panels に最適化されたハイブリダイゼーション及び洗浄バッファのキットです。

ユーザーレポート

クリニカルシーケンシングの技術開発と実運用を目指して
かず DNA 研究所技術開発部ヒトDNA 解析グループ

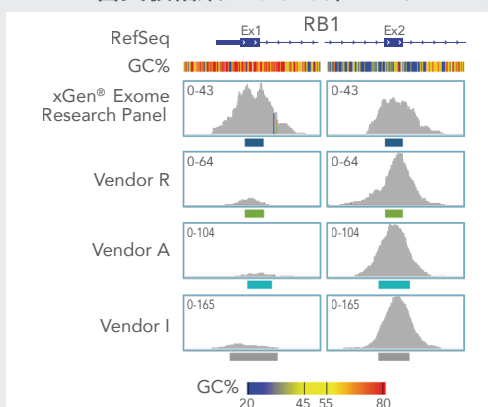
Products Quality ~ Exome Panel の比較実験結果 ~

取得リードの割合とカバレッジ数について



IDT の xGen® Exome Research Panel は、カバレッジのピークが唯一 50 以上であり、ターゲット領域に対して高いカバレッジを取得できました。また、カバレッジが低い領域も少なく、比較的均一で高いカバレッジが得られました。

各実験結果における第一エクソンについて



一般的に第1エクソンのような GC 含量の多い領域はキャプチャーが難しいとされており、他社プローブではほとんどカバレッジを得る事が出来ませんでした。しかしながら IDT の xGen® プローブは、GC リッチな第一エクソンでもカバレッジを取得できています。これは、全てのプローブに QC チェックを行う事により、プローブが確実に合成出来ている事を確認しているためです。

※図は一例として RB1 遺伝子の結果を示しています。

Exome Panel 比較実験
結果の詳細はこちら



http://sg.idtdna.com/jp/site/ngs_ExomePanel.html

はじめに

ヒトゲノムのドラフト配列が公表されてから既に 17 年が経過した。この歴史的な発見がキャピラリー式シーケンサーの登場など新しいシーケンシング技術によって支えられたのは明らかである。今なお DNA 解析技術は飛躍的な進歩を遂げており、2008 年には次世代シーケンサーが市場に投入された。この画期的なマシンは当時 1 億ドルと言われていたヒトゲノムの解読コストを一気に 5,000 ドル程度まで押し下げることに成功している。こうした新しい技術基盤を背景に、欧米をはじめ本邦でも、ヒトゲノムを医療に役立てる、いわゆるクリニカルシーケンスの時代が到来しようとしている。

当研究グループでは次世代シーケンサーによる遺伝子解析の社会実装を目指し、過去数年にわたって 1,000 検体を超える遺伝子解析に従事してきた。本稿ではこのような研究過程で培われたノウハウを基に、今後のクリニカルシーケンスのキーテクノロジーであるターゲット遺伝子の濃縮法のコストと運用について考察してみたい。

ターゲットシーケンシング系デザインの選択肢

次世代シーケンサーを使ったゲノムシーケンシングでは目的に合わせ、全ゲノムシーケンシング (WGS)、全エクソームシーケンシング (WES)、カスタムパネルシーケンシング (CPS) から対象の範囲を選択することになる。WGS はその情報量に魅力があるが、コストは下がったとはいえやはり未だ高価である。また、取得された大量のデータ処理、ストレージに耐えられる設備が必要となり、一部施設では安定かつ継続的な運用は難しいかもしれない。一方、WES では解析の対象を WGS の 1/50 以下まで絞り込むことができ、その利便性から広く普及している実験となった。しかし、それでもクリニカルシーケンスの実現を目指す上では、対象とする疾患とは無関係な疾患関連変異を検出してしまいうリスクも高く、このような "secondary (あるいは、incidental と呼ばれる) finding" の倫理的問題をどのようにクリアするのか未だに議論が続けられている。こうした時代背景もあり、昨今では疾患の診断に直結する既知遺伝子のみをカスタマイズして解析を行う、CPS がクリニカルシーケンシングのひとつのソリューションとして注目を集めるようになってきている。

CPS は大きくマルチプレックス PCR 法とハイブリダイゼーションキャプチャー法のいずれかの技術を使って実施することができる (図 1)。双方にメリットとデメリットがあり、まずはこの点について概要を紹介したい。マルチプレックス PCR 法のメリットは実験手順のシンプルさにある。NGS ライブラリーの調製はターゲット領域の増幅を実施する 1st PCR、これら PCR 産物にシーケンスアダプター配列を付与する 2nd PCR の 2 反応だけで完了する。逆に、デメリットにはセットアップの手間と煩雑さが挙げられるだろう。1st PCR ではターゲット全域を網羅できるようなプライマーセットを 1 本のチューブに入れて PCR 反応を実施する必要がある。すなわち、仮に平均的な遺伝子が 300 塩基からなる 10 エクソンで構成され、これを 150 塩基長のシーケンシングで網羅するならば、1 エクソンにつき 4 本、遺伝子全長で 40 本のプライマーで実施することになる。10 遺伝子であれば 400 本、100 遺伝子であれば 4000 本のプライマーセットをデザインしなくてはならない。プライマーのデザインには、それを目的としたツールが複数配布されており、これらを利用すれば大きな労力を割く必要はないように思われる。しかしながら、マルチプレックス PCR という特殊な状況を想定したツールは稀であり、当研究グループの経験では 3' 末端から 10 塩基以上の配列が完全に相補的なプライマーが同一マルチプレックス PCR 用プライマープール中にデザインされてしまうケースがしばしば起こる。また、デザインしたプライマー上に高頻度の SNP が含まれてしまう場合には、その SNP の位置によっては片側のアリル配列を見落としてしまう可能性にも直面する。クリニカルシーケンシングという実験の性質上、こうした不安要素はシーケンスの信頼性を著しく下げてしまうために何らかの対策を講じる必要がある。概して、これらを解消する作業は個別対応が求められる場合が多く、スループットの著しい低下をもたらすという弊害が生じる。

次に、ハイブリダイゼーションキャプチャー法について紹介する。ハイブリダイゼーションキャプチャー法を選択するメリットはセットアップの簡便さにある。プライマーデザインの良し悪しがマルチプレックス PCR 法の効率を左右するように、理想的なプローブ設計が高効率なハイブリダイゼーションキャプチャー法の鍵となることは間違いない。ただ、経験的にその影響はマルチプレックス PCR 法におけるプライマーデザインに比べればはるかに小さく、xGen Lockdown プローブ (IDT 社)、SureSelect XT プローブ (Agilent 社)、SeqCap EZ プローブ (Roche 社) などから提供されるプローブはカスタムデザインでも安定した結果が得られることを経験している。一方、デメリットは高額な初期投資だろう。プローブは高価であり、各ラインナップで必要コストが大きく変わるため、目的に応じて適切な選択をした方がよい。この判断のためには、現在利用されているハイブリダイゼーションキャプチャー法のためのキャプチャープローブの合成原理が 2 つに大別されることを理解しておく必要がある。一つは、マイクロアレイ作製技術の発展形として成立している少量多種類のオリゴマー合成法に依拠した方法であり、もう一つは従来のオリゴマー合成技術をハイスループット化した方法である。前者には複数のメーカーが存在するが、後者を提供しているのは IDT 社のみである。この原理から分かれるとおり、IDT 社のプローブは解析遺伝子数が少ないときには融通性が高いが、数が増えると他社のキャプチャープローブ合成法が経済的には有利になる。およそのコスト計算の目安として、ここでは xGen Lockdown プローブ (IDT 社) とあるマイクロアレイ型合成法によるメーカーの 2 製品を比較してみたい。xGen Lockdown プローブは 10 遺伝子 16 反応で 100,000 円 (1 反応 6,250 円) という定価設定になっている。1 遺伝子追加することに 10,000 円の追加で良い。一方、例えばマイクロアレイ型合成法では最低でも一定数のオリゴマーを同時に合成してしまうため、最小のカスタムキャプチャープローブデザインのターゲット領域でもほぼ 500kb 相当 (遺伝子数にして 150-200 遺伝子相当) になってしまい、同じ 16 反応用のプローブでもこの系では定価で 60 万円以上が必要になる。状況を分かりやすくまとめれば、図 2 のようなグラフを書くことができるだろう。この例の場合、xGen Lockdown プローブに 66 遺伝子を搭載した時点で価格の逆転現象がおこる。すなわち、1 - 10 遺伝子程度の比較的小さなカスタムパネルを組む場合は xGen Lockdown プローブが圧倒的に有利であり、100 遺伝子以上の網羅性を望む場合はマイクロアレイ型合成法で調製されたキャプチャープローブが経済的により良い選択となる。

xGen Lockdown プローブを用いたターゲット濃縮の実際

次に、マルチプレックス PCR 法とハイブリダイゼーションキャプチャー法のパフォーマンスの比較をしてみたい。図 3 に、マルチプレックス PCR 法ならびにハイブリダイゼーションキャプチャー法によって濃縮した NGS ライブラリーの実測データの一例を示した。図上部の円グラフは取得された全リードのうち、ターゲット領域内をきちんと読めた割合 (On-Target)、ヒトゲノム配列上にマッピングされなかったもの (MisAligned)、PCR によって増幅されたもの (Duplicated)、ターゲット以外の領域の配列を読んできたもの (Off-Target) を表している。続いて、図下部の棒グラフはプローブに含まれる遺伝子 (ここでは例として DMD 遺伝子) の平均リード深度を示す。ご覧の通り、マルチプレックス PCR 法は高い On-Target 率が特徴であり、読まれたリードのほとんどを解析に利用することができるというメリットがある。一方、ハイブリダイゼーションキャプチャー法の一般的な有効リードの割合は 10~50% 程度 (プローブの大きさに依存して変動する) であり、一部リードしか解析に使うことはできない。その反面、マッピングされたリードのポジションを評価し、PCR 増幅に由来した重複リードを除去することにより、リードの定量性を向上させるという大きなメリットを得ることができる。

実際、ハイブリダイゼーションキャプチャー法のデータはマルチプレックス PCR 法のデータに比べ、各エクソンのリードが均一に出力されている様子が見て取れる。すなわち、マルチプレックス PCR 法では平均リード深度が最も小さいエクソンと最も大きいものの違いが数万倍であるのに対し、ハイブリダイゼーションキャプチャー法のデータでは大きいところでもせいぜい 2~3 倍の差であった。図3は、DMD 遺伝子の例を示しているが、我々の経験ではこの傾向は他の遺伝子でも一般的に見られる。

一般にショートリードシーケンシングの技術的な限界で、大きな挿入 / 欠損を含む短い塩基配列をゲノム上に正確にアラインさせることには限界がある。これはマッピングツールの統計処理上の問題で、大雑把な説明をすればリファレンス配列との大きな齟齬が挿入 / 欠損のような実際の現象を反映しているのか、あるいは外来配列のコンタミのような排除すべき原因に由来しているかを区別できないためである。ハイブリダイゼーションキャプチャー法の高いリード深度の再現性を利用すれば、この弱点をうまく補うことができる。1 アレルで大きな欠損が生じた場合、他の検体に比べてそのポジションのリード深度は半分程度まで落ち込むことになる。逆に、1 アレルで大きな挿入が生じているポジションではリード深度は 1.5 倍となって検出される。実際、当研究グループのこの性質を利用した過去の解析では、コピー数多型 (CNV) の異常を持つ検体が一定の割合で拾われてくる。このように、リード深度の均一性と再現性は、コピー数異常の検出にはマルチプレックス PCR 法よりも有利であろう。構造的な異常が知られている遺伝疾患を対象としたクリニカルシーケンシングでは、CNV 異常の検出までを視野に入れ、ハイブリダイゼーションキャプチャー法によるデータ取得がより良い選択と考えている。

おわりに - 保険診療での遺伝子検査をめざして

最後に、クリニカルシーケンシングの実現を視野に入れたシーケンスコストがどの程度を達成すべきかについて議論したい。平成 28 年度の希少難病の遺伝学的検査の保険点数は 3,880 点と定められており、実験のトータル検査コストを最低でもこの範囲内に抑えたいという社会的ニーズがある。ライブラリー調製コストを 5,000 円、シーケンスコストを 5,000 円と見積もれば、ターゲット濃縮反応のコストは 28,800 円以下に収める必要がある。ただし、この上限額からは人件費やその他の諸経費を無視した計算となっており、現実的には 5,000 円程度まで押し下げない限り安定的な運用はまず望めないだろう。もちろん、次世代シーケンサーのスペックを活かし、複数検体を混合したうえでターゲット濃縮を実施すれば、その1検体あたりの単価を安くすることは可能だろう。しかし、WHO によれば単一遺伝疾患の種類は約 10,000 と推定されており、全世界における疾患出生率は 10/1000 と見積もられている。本邦の出生数が年間 100 万人であることを考えれば、希少疾患の年間出生数は計算上 1 ないし 2 件となってしまう、単一疾患の遺伝子検査の実施は多く見積もってもせいぜいその 10 倍程度だろう。従って、多数の検体を集めることで低コスト化を計るしくみでは、検査結果を返すまでの時間的制約も考え合わせると、長期的視野にたてばその運用が難しくなることは明白である。このような理由から、保険診療で実施される遺伝子検査には越えられないコスト的な課題が残されており、すぐの実現は難しいように思われていた。ところが、つい最近 xGen Lockdown プローブの販売形態の改革とその単価が引き下げられたことにより、ようやく希少難病の遺伝子検査を社会実装するための条件を満たす道が開かれた。

現在に至るまで、診断を目的した解析プラットフォームの開発は、検討が十分になされてきたとは言い難い状況である。企業経営の立場に立てば、遺伝子解析事業の収益性の低さが主な原因だろう。しかし、もはや状況は変わりつつある。当研究グループは希少難病で苦しむ患者さんやそのご家族、その治療に関わっておられる臨床医の方々の少しでもお役に立ち、継続的なクリニカルシーケンシングの技術開発と実運用を担うことで貢献することを目指したい。それは、これまでヒト遺伝子構造解析技術の発展の一部を担ってきたわれわれ公的研究機関としての矜持でもある。

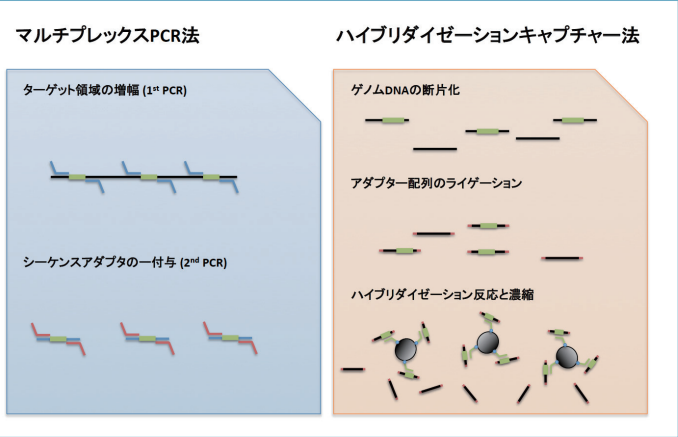


図 1：マルチプレックス PCR 法とハイブリダイゼーションキャプチャー法の概略
マルチプレックス PCR 法では、2 段階の PCR でターゲット濃縮 (1st PCR) とアダプター付加反応 (2nd PCR) を実施する。1st PCR で使うプライマーの 3' 末端側にはターゲット領域に特異的な配列をデザインし、5' 末端側にはライブラリー化に必要な共通配列 (概してシーケンスプライマー配列) を組み込んでおく。一方、2nd PCR で使うプライマーについては、3' 末端側には 1st PCR の共通配列を、5' 末端側には多サンプル同時解析用のインデックス配列を含むアダプター配列を配置する。

図 2：市販プローブのコスト比較
縦軸は 1 反応あたりのプローブの価格を表し、横軸はプローブに搭載している遺伝子数を示す。IDT 社の xGen Lockdown プローブが遺伝子数単位での価格設定であるのに対し、例示したメーカーのカスタムキャプチャープローブはターゲット領域のサイズを基にした価格設定となっている。両者をわかりやすく比較するため、例示したマイクロアレイ型合成法でのカスタムプローブに含まれる遺伝子サイズを平均 3 kb として算出した。

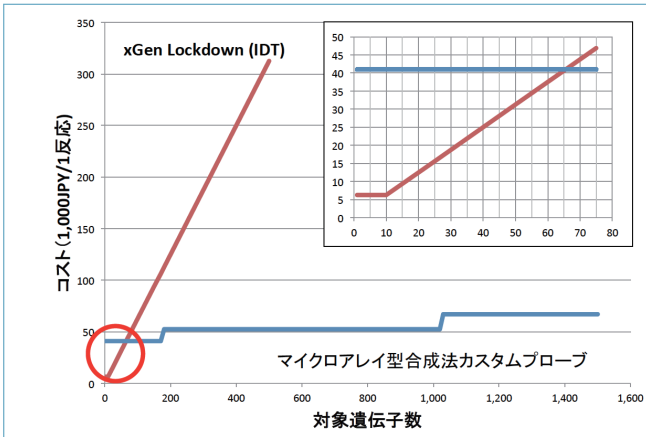
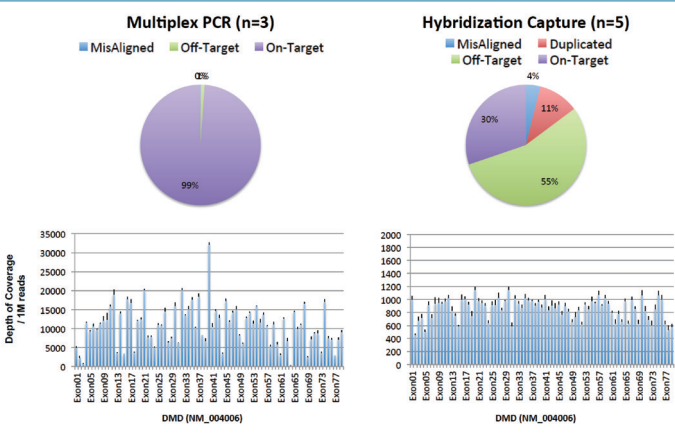


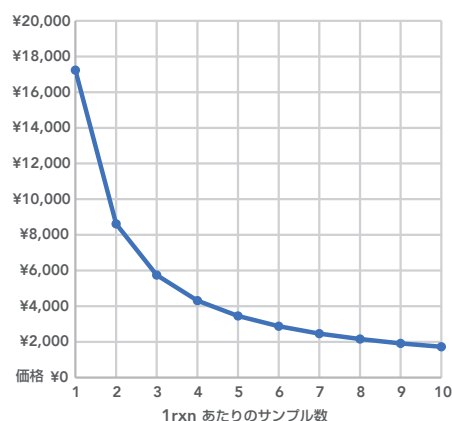
図 3：xGen Lockdown プローブを使って得たデータの実例
左側はマルチプレックス PCR 法で取得したデータを図表化したものである (n=3)。DMD (NM_004006) 遺伝子の 79 エクソンを合計 232 本のプライマーで濃縮した。一方、右側には xGen Lockdown プローブを使って取得したハイブリダイゼーションキャプチャー法のデータである (n=5)。図上部の円グラフは取得された全リードのうち、ターゲット領域内をきちんと読めた割合 (紫: On-Target)、ヒトゲノム配列上にマッピングされなかったもの (青: MisAligned)、PCR によって増幅されたもの (赤: Duplicated)、ターゲット以外の領域の配列を読んだしまったもの (緑: Off-Target) を表している。図下部の棒グラフは 100 万リードあたりの平均リード深度を示す。



【Column】検体数と1サンプルあたりのハイブリダイゼーションの価格

左ページ図2では、プローブの費用のみを算出して頂きましたが、本コラムでは、ハイブリダイゼーションに掛かる費用を算出しました。ハイブリダイゼーション費用は、マルチプレックスを行う事で検体数で等分できるため、検体あたりの費用も算出しています。下記は xGen® Predesigned Gene Capture Pools を用いて 10 遺伝子をハイブリダイゼーションする場合の価格で、ハイブリダイゼーションは IDT のプロトコルに準拠し、価格は全てカタログ価格 (2017 年 4 月現在) で計算しています。

10 遺伝子をターゲット、16 rxn 使用し、さらにプレプールした場合の 1 サンプルの価格



1 rxn あたりのサンプル数	価格
1	¥17,231
2	¥8,616
3	¥5,744
4	¥4,308
5	¥3,446
6	¥2,872
7	¥2,462
8	¥2,154
9	¥1,915
10	¥1,723

プロトコルは下記 URL の右カラムにある Support よりご取得ください。



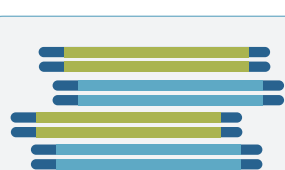
<https://sg.idtdna.com/pages/products/nextgen/target-capture/xgen-lockdown-probes>

IDT からご購入いただく試薬	メーカー	カタログ番号	サイズ	サイズ (1 rxn)	価格	価格 (1 rxn)
xGen® Predesigned Gene Capture Pools (10 遺伝子)	IDT		16 rxn	1 rxn	¥100,000	¥6,250
xGen® Universal Blockers—TS Mix	IDT	1075474	16 rxn	1 rxn	¥92,500	¥5,781
xGen® Lockdown® Reagents	IDT	1072280	16 rxn	1 rxn	¥8,000	¥500
Custom DNA Oligos (Illumina® P5 Primer)	IDT		25 nmole スケール	2.5 µL (10 µM)	¥520	-
Custom DNA Oligos (Illumina® P7 Primer)	IDT		25 nmole スケール	2.5 µL (10 µM)	¥546	-
その他ご購入いただく試薬	メーカー	カタログ番号	サイズ	サイズ (1 rxn)	価格	価格 (1 rxn)
Agencourt® AMPure® XP – PCR Purification beads	Beckman-Coulter	A63880	5 mL	75 µL	¥33,000	¥495
Dynabeads® M-270 Streptavidin	Thermo Fisher Scientific	65305	2 mL	100 µL	¥72,000	¥3,600
Human Cot-1 DNA®	Thermo Fisher Scientific	15279-011	500 µg	5 µg	¥34,500	¥345
KAPA HiFi HotStart ReadyMix	Kapa Biosystems	KK2601	1.25 mL	25 µL	¥13,000	¥260
計					¥354,066	¥17,231

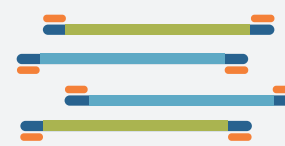
ターゲットキャプチャーとは

Target Capture とは、ターゲットとなるゲノム領域を選択的に濃縮する手法です。ターゲット領域のみを解析するため、必要な領域をより深く解析する事が可能です。また不要データを除く事で試薬解析コストも抑えられます。

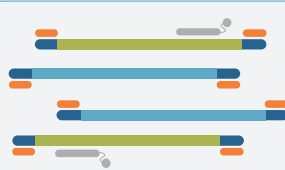
ターゲットキャプチャー ワークフロー



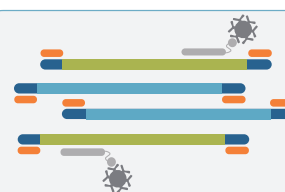
ライブラリーを準備します。



アダプター同士の結合による非特異リードの混入を防ぐため、ブロッキングオリゴを加えます。



キャプチャープローブをターゲットにハイブリダイズさせます。



ストレプトアビシンでコートされたマグネットビーズと、キャプチャープローブのビオチンを結合させます。その後、磁石を用いてターゲットを単離します。

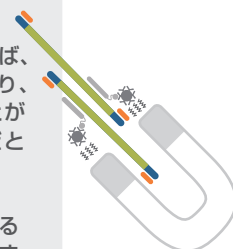
- ターゲット配列
- オフターゲット配列
- アダプター
- ブロッキングオリゴ
- キャプチャープローブ
- 磁気ビーズ

xGen® プローブの特徴

xGen® で使用されるプローブは、5' 末端をビオチン修飾した 120 mer の Ultramer® です。例えば GC リッチ領域でエンリッチメントが出来ない場合は、プローブの合成不良が疑われますが、IDT では、すべてのプローブに品質管理 (QC) を行っているため、GC リッチや合成不良によるバイアスは掛かりません。この QC によりパネルやオーダー毎のロット差も小さくなり、いつでも均一なカバレッジデータを取得できます。

IDT では、プローブが正しく合成できていれば、カバレッジデータを取得できると考えており、全プローブの品質管理データを取得することが正確なデータを取得するために必要な事だと考えています。

Ultramer ... 通常合成より正確に合成できる DNA 合成。200mer まで合成・提供できます。



xGen® Lockdown® Probes

xGen® Predesigned Gene Capture Pools

ヒトの各遺伝子ごとにプレデザインされたプローブセットです。

1 遺伝子あたり 10,000 円〜と、安価に目的のプローブセットをご購入頂けます。

お手持ちのプローブセットに加えて使用する事も可能です。

16 反応分では、全遺伝子は、1 チューブに混合して納品されますが、

96 反応分では、プレートを選択いただいた場合、各遺伝子プローブを

個別ウェルに納品できます。

反応回数	納品方法	価格 / 遺伝子	納期
16	チューブ	¥10,000	1 ~ 3 週間
96	チューブ	¥15,000	
	プレート	¥15,000	

※10 遺伝子分から発注可能です。

※ご注文の際には Gene Symbol または Gene ID をご入力下さい。

xGen® Custom Target Capture Probes

目的の領域に合わせたカスタムプローブセットを設計、ご購入頂けます。

ご注文いただくプローブの本数と rxn 数により、価格と納品量が変わります。

1 度に大容量を合成しますので、1 回あたりのコストを抑える事ができます。

合成スケール	rxn 数	価格	最小発注必要数	プレート納品対応	納期
Mini	1	¥1,500 / プローブ	200 プローブ	不可	約 3 週間
Standard	8	¥2,500 / プローブ	96 プローブ	可	
XL	64	¥5,000 / プローブ	96 プローブ	可	

価格例

Mini

Mini スケールで 200 プローブご注文の場合

キャプチャー実験数: $200 \text{ プローブ} \times 1 \text{ rxn} = 200 \text{ 回分}$

価格: $200 \text{ プローブ} \times ¥1,500 = ¥300,000$

1 回あたりのコスト: $¥300,000 \div 200 = ¥1,500$

キャプチャー領域※:

$200 \text{ プローブ} \times 120 \text{ bases/ プローブ} = 24,000 \text{ bases}$

Standard

Standard スケールで 96 プローブご注文の場合

キャプチャー実験数: $96 \text{ プローブ} \times 8 \text{ rxn} = 768 \text{ 回分}$

価格: $96 \text{ プローブ} \times ¥2,500 = ¥240,000$

1 回あたりのコスト: $¥240,000 \div 768 = ¥313$

キャプチャー領域※:

$96 \text{ プローブ} \times 120 \text{ bases/ プローブ} = 11,520 \text{ bases}$

XL

XL スケールで 96 プローブご注文の場合

キャプチャー実験数: $96 \text{ プローブ} \times 64 \text{ rxn} = 6,144 \text{ 回分}$

価格: $96 \text{ プローブ} \times ¥5,000 = ¥480,000$

1 回あたりのコスト: $¥480,000 \div 6,144 = ¥78$

キャプチャー領域※:

$96 \text{ プローブ} \times 120 \text{ bases/ プローブ} = 11,520 \text{ bases}$

※IDT 推奨の 120mer プローブを使用した場合。プローブは 60 ~ 120mer まで選択できます。

xGen® Lockdown® Panels

xGen® Exome Research Panel

xGen® Exome Research Panel は 39 Mb の領域に対するプローブにより構成され、51 Mb の領域をカバーしております。

IDT の高品質なプローブ合成法により、従来のエクソームシーケンスでは解析が困難な GC に偏りのある領域等もキャプチャー可能です。

xGen® Acute Myeloid Leukemia Cancer Panel

AML(Acute Myeloid Leukemia: 急性骨髄性白血病)に関連する 260 遺伝子をターゲットにしたプローブセットです。

xGen® Pan-Cancer Panel

12 種のがんに共通して変異が見られる 127 遺伝子のプローブセットです。

The Cancer Genome Atlas (TCGA) の研究結果によりデザインされており、関連遺伝子を効率よく詳細にシーケンス可能です。

xGen® Inherited Diseases Panel

HGMD® (Human Gene Mutation Database) に掲載されている遺伝子リストに基づき、遺伝性疾患に関わる 11.1 Mb の領域と SNPs をターゲットにしたプローブセットです。

xGen® Human ID Research Panel

ゲノム上の 76ヶ所の SNP 領域を解析できるヒト DNA の識別用に設計されたプローブセットです。

特に多検体を扱う実験の際に、サンプルの取り違い等のミスがないことを確認でき、実験の精度がより高くなります。

腫瘍 / 正常シーケンスのサンプルの区別や、長期的な実験におけるサンプルの状態変化の確認も可能です。

xGen® Human mtDNA Research Panel

ヒトミトコンドリア DNA を網羅的に解析可能なプローブセットです。

ミトコンドリア DNA に存在する学習障害、神経疾患などの症状に関連する変異を解析できます。

パネル名	反応数	価格
xGen® Exome Research Panel v1.0	16 rxn	¥480,000
	96 rxn	¥2,400,000
xGen® AML Cancer Panel v1.0	16 rxn	¥250,000
	96 rxn	¥850,000
xGen® Pan-Cancer Panel v1.5	16 rxn	¥240,000
	96 rxn	¥1,440,000
xGen® Inherited Diseases Panel v1.0	16 rxn	¥240,000
	96 rxn	¥1,440,000
xGen® Human ID Research Panel v1.0	16 rxn	¥35,000
	96 rxn	¥95,000
xGen® Human mtDNA Research Panel v1.0	16 rxn	¥35,000
	96 rxn	¥95,000

納期: 約 1 週間



http://sg.idtdna.com/jp/site/ngs_oligo.html#Panels

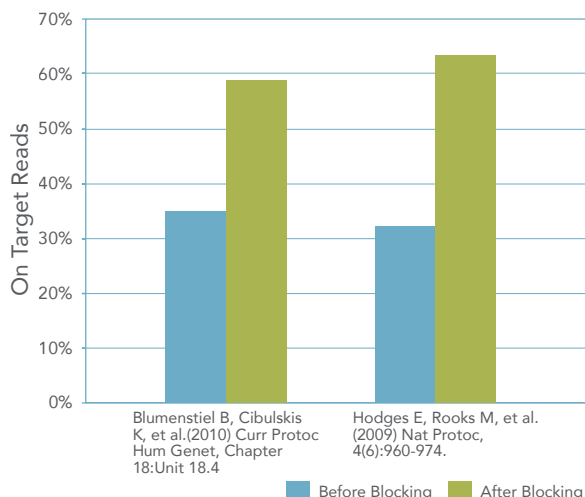
※遺伝子 / プローブリストはウェブサイトから取得できます。

xGen® Blocking Oligos



xGen® Universal Blocking Oligos は HPLC 精製された高品質オリゴです。3' 末端には、C3 スペーサーが付加され、非特異的な配列の結合・増幅を防ぎます。アダプター配列中のインデックス部分には、イノシン塩基が結合するよう設計されていますので、マルチプレックス実験にも対応可能です。本製品には、シングルインデックス (6nt 及び 8nt) 用ブロッキングオリゴとデュアルインデックス用ブロッキングオリゴが含まれているため、どちらのアダプターでも対応出来ます。

製品名	反応回数	価格	納期
xGen® Universal Blockers-TS Mix	16	¥92,500	約 1 週間
	96	¥450,000	
	384	¥1,650,000	



ブロッキングオリゴの使用前と使用後の比較結果

ブロッキングオリゴの使用によりオンターゲット率が劇的に向上することが、いくつかの論文で報告されています。例として、Blumenstiel らが行った実験ではオンターゲット率が 35% から 59% に向上し、Hodges らが行った実験では 32% から 64% に向上しました。オンターゲット率が 2 倍近くに改善されることで、マルチプレックスのサンプル数を増やすことや、低頻度の変異の検出が容易になります。

References

Blumenstiel B, Cibulskis K, et al. (2010)
Targeted exon sequencing by in-solution hybrid selection.
Curr Protoc Hum Genet, Chapter 18:Unit 18.4.

Hodges E, Rooks M, et al. (2009)
Hybrid selection of discrete genomic intervals on custom-designed microarrays for massively parallel sequencing.
Nat Protoc 4(6):960-974.

※Ion-Torrent 用ブロッキングオリゴについては、web サイトをご参照下さい。

Hybridization and Wash Kit

キャプチャープローブを用いたターゲットエンリッチメントの工程に必要な、ハイブリダイゼーションバッファーと洗浄バッファーのセットです。xGen® 製品を使用する際にキャプチャー効率が最大化するように調製されています。

製品名	反応数	価格	納期
xGen® Lockdown® Reagents	16 rxn	¥8,000	約 1 週間
	96 rxn	¥28,800	

ご注文の流れ



※本製品は研究用試薬です。それ以外の目的に使用できません。

代理店

お問い合わせ先

2017.06

INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES 株式会社

http://sg.idtdna.com/jp/site
japan-cc@idtdna.com

IDT 次世代

検索

〒108-0073 東京都港区三田一丁目4番28号 三田国際ビル24階

TEL 03-6865-1217 FAX 03-6865-1218