

次世代シーケンス用オリゴ合成サービス： xGen® ターゲットキャプチャー製品

xGen® ターゲットキャプチャー製品 (xGen® 製品) を用いて次世代シーケンスを行うことにより、精度のよい且つ効率的なシーケンス解析が可能になります。高い品質のIDTのオリゴDNAプローブであるため均一性の高いカバレッジで結果を得ることができます。実証済みのプローブパネルとしてだけでなく、お客様が独自に解析対象のターゲット領域を絞ったパネルを作製する際、既成のプローブパネルを改善する際にも、お使いいただけます。

xGen® Lockdown® Panels

エクソーム、疾患遺伝子、がん遺伝子などの特定のターゲット領域解析用の均一性の高いカバレッジで結果を得られることが実証されています。

xGen® Lockdown® Probes

オリゴDNAプローブを必要な本数と必要な量を指定し発注することができるため、ターゲット領域やサンプル数に応じて柔軟にカスタムパネルの作製を行うことが可能です。オリゴDNAプローブは1本ずつ質量分析により品質管理が行われており、基礎研究用だけではなく、高い品質管理が求められる臨床用まで、幅広い用途でお使いいただけます。

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を提供いたします。

xGen® Universal Blocking Oligos and xGen® Lockdown® Reagents

xGen® Lockdown® ProbesやxGen® Lockdown® Panelを用いたキャプチャー実験の際に、ターゲット領域をより深く解析するための、ブロッキングオリゴと、ハイブリダイゼーションバッファーです。

xGen® Lockdown® Panels

お見積もり・ご注文方法 ▶▶▶ p.83

疾患関連遺伝子を解析するために全エクソームシーケンスを行うと、注目しているターゲット遺伝子やSNPsの領域以外のオフターゲット領域も検出してしまいます。

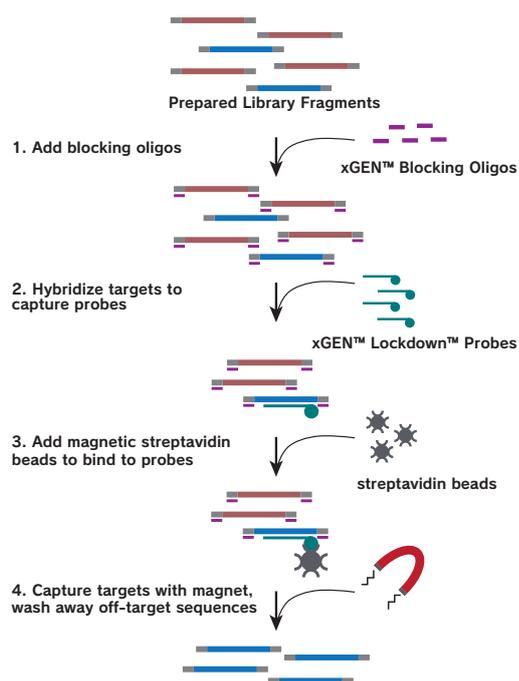
右図のように、5' ピオチン化DNAプローブとアビジンビーズを用いてライブラリのDNA断片からターゲット領域の断片のみを濃縮(ターゲットエンリッチメント)することで、ターゲット領域の解析量(カバレッジ)を上げることが出来ます。

IDTからは、この方法で用いる4種類のプローブセット (Panel) を提供しています。

- ヒト遺伝子のエクソーム : xGen® Exome Research Panel v1.0
- がん関連主要遺伝子 : xGen® Pan-Cancer Panel v1.5
- 遺伝性疾患関連遺伝子 : xGen® Inherited Diseases Panel v1.0
- 急性骨髄性白血病関連遺伝子 : xGen® Acute Myeloid Leukemia Cancer Panel v1.0

5' ピオチン化DNAプローブにはIDTのxGen® Lockdown® Probes (p.13参照) が用いられており、GC rich領域も含めた全てのターゲット領域を均一に検出することや、別途合成したxGen® Lockdown® Probesを追加してターゲット領域を自由に拡張することも可能になります。xGen® Lockdown® Probesは、IDT独自の高いカップリング効率で合成し、1本ずつ品質チェックを行った高品質のIDT製5' ピオチン化オリゴであるため、ターゲット領域をより均一に検出できます。

IDT製のプローブを使用しているからこそ可能になる高感度のターゲットエンリッチメントをぜひ実感して下さい。



xGen® Exome Research Panel v1.0

(ヒトの19,396遺伝子のエクソンをターゲットとする429,826本のプローブセット、ターゲット領域約39 Mb)

エクソームシーケンシングは、ヒトゲノムのタンパク質をコードする領域のみを解析する方法です。網羅的な解析により、臨床研究および基礎研究のどちらにおいても、重要な結果を得ることができます。一方で、エクソームはヒトゲノム中のごく一部の領域であるため、解析対象の総データ数を減らすこともでき、非常に効率の良い手法です。

このエクソームパネルはGMP基準で製造された高品質のプローブセットであり、このパネルを使用することで、より均一性が高く、より深いカバレッジで結果を得ることができます。

xGen® Pan-Cancer Panel v1.5

(12種のがんに共通して関わる127遺伝子をターゲットとする7,816本のプローブセット、ターゲット領域約800 kb)

この疾患パネルによりエンリッチメントされるターゲットは、12種のがんにおいて横断的に変異の発生がみられる127遺伝子です。The Cancer Genome Atlas (TCGA)の研究成果に基づいています。

■ 参考文献

Kandoth C, et al. Nature 502, 333-339 (2013)

xGen® Inherited Diseases Panel v1.0

(遺伝性疾患関連4,503遺伝子と180 SNPsをターゲットとする116,355本のプローブセット、ターゲット領域約11.2 Mb)

この疾患パネルによりエンリッチメントされるターゲットは、疾患を引き起こす変異を持つことがHGMD® (Human Gene Mutation Database)に記載されている中で、エモリー大学 the Emory Genetics Laboratory にて臨床的意義について再確認された遺伝子です。

具体的な対象疾患は、糖質代謝疾患、神経疾患、眼科疾患、糖尿病、難聴、遺伝性がん症候群、遺伝性自己炎症性疾患、炎症性腸疾患、骨格形成異常、X連鎖精神遅滞などです。

xGen® Acute Myeloid Leukemia Cancer Panel v1.0

(AMLに関わる264遺伝子をターゲットとする11,743本のプローブセット、ターゲット領域約1.2 Mb)

xGen® AML Cancer Panel v1.0は、AML (acute myeloid leukemia: 急性骨髄性白血病) 関連遺伝子を高い信頼性で効率良くシーケンス解析できるプローブセットです。

■ 参考文献

Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. N Engl J Med. 368, 2059-2074 (2013)

価格

製品名	価格 (16 反応)	価格 (96 反応)
xGen® Exome Research Panel v1.0	¥960,000	¥4,800,000
xGen® AML Cancer Panel v1.0	¥500,000	¥1,700,000
xGen® Inherited Diseases Panel v1.0	¥480,000	¥2,880,000
xGen® Pan-Cancer Panel v1.5	¥480,000	¥2,880,000

「1 反応分」とは？

解析対象のライブラリ (両末端にアダプターを結合したサンプルDNA断片) 500 ng に対して、キャプチャー反応を1回行うことが可能なプローブセット (Panel) です。
詳細は、このPanelを用いたキャプチャー反応のプロトコール Hybridization capture protocol - xGen® Lockdown® Probes and Reagentsをご覧ください。下記のウェブサイトからダウンロード可能です。

各パネルのターゲット遺伝子リスト、ターゲット領域配列とプローブ配列 (BEDファイル) は下記のウェブサイトからダウンロード可能です。

http://ruo.mbl.co.jp/bio/idt/ngs_oligo.html

IDT 次世代シーケンス

検索

xGen® Lockdown® Probes

お見積もり・ご注文方法 ▶▶▶ p.83

◎ カスタムプローブセット、カスタムパネルの作製

お客様が独自に着目しているターゲット領域を解析するために、xGen® Lockdown® Panels (p.12参照) で用いられる5'ビオチン化プローブを、カスタムプローブセットとして設計し購入することが可能です。これにより、お客様独自のカスタムパネルの作製が可能です。

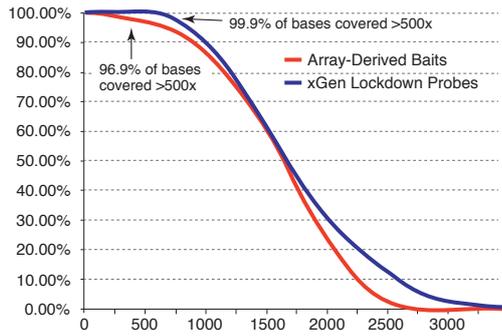
概要

- ◎ 質量分析による品質チェック済みの高品質のプローブ (5' Biotin 標識 Ultramer® DNA) です。
- ◎ プローブの長さは60~120 basesです。
- ◎ 他社キャプチャーキットの補完用 (GC richのターゲット領域用など) にも使用できます。

合成スケール	価格 /probe	納品量 /probe	最小発注必要数	納品時チューブ	プレート納品可否	納期
Mini	¥3,000	3 pmole	200 probes	2 mL チューブ	不可	約3週間
Standard	¥5,000	24 pmole	96 probes	4.5 mL チューブ	可	
XL	¥7,000	192 pmole	96 probes	10 mL チューブ	可	

※ チューブ納品では、すべてのプローブを1本のチューブに入れて納品します。プレート納品では、1プローブ/1ウェルで納品します。

■ 解析例：ターゲット領域について十分なデータを得られています。



- ・ 増幅済ライブラリー (2 μg) に対し、ターゲット領域全体をカバーする 1,000 本の xGen® Lockdown® Probes を使った。
- ・ 24 時間の hybridization を行った後に、エンリッチされたターゲット領域を HiSeq 2000 System (Illumina, 49x49 paired-end reads) で解析した。

xGen® Lockdown® Probes を使用することで、従来のアレイ上で製造される DNA を基に合成される RNA プローブを使用するよりも、より良いエンリッチメントを達成できます。

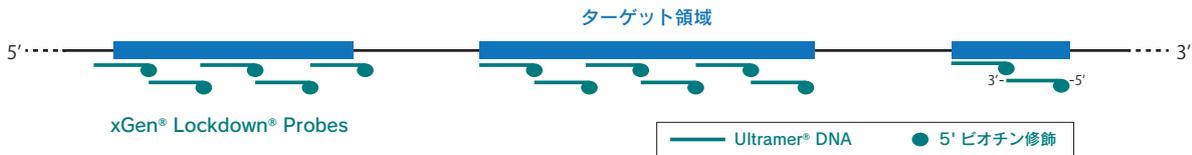
■ プローブ長および対象ターゲット領域と、キャプチャー反応回数とプローブ費用について

xGen® Lockdown® Probes は、比較的狭いターゲット領域、かつ多検体 (多サンプル) を解析する際に有用です。

例：長さ 120 bases、合成スケール Standard (24 pmole) のプローブで、対象ターゲット領域 100 Kb のカスタムパネルを作製

発注本数	約 1,000 本程度 (≒ 100,000 bases ÷ 120 bases)
パネルの価格	¥5,000,000 (= ¥5,000 × 1,000 本)
プローブの総モル数	24 nmole (= 24 pmole < 合成スケール Standard で納品される 1 本あたりのモル数 > × 1,000 本分)
このパネルで解析できるキャプチャー反応回数	8,000 反応 (= 24 nmole ÷ 3 pmole < 解析対象のライブラリ 500 ng に対してキャプチャー反応するために必要なプローブの総モル数 >)
1 キャプチャー反応分に必要なプローブ費用	¥625/反応 (= ¥5,000,000 ÷ 8,000 反応) ※合成スケール Standard の場合は常に ¥625/反応。Mini では ¥3,000/反応、XL では ¥109/反応。

■ IDT 推奨のプローブの設計方法：120 bases のプローブを、互いに隣り合うようにタンデムに配置 (= 1X Tiling Density と言います)



■ 設計ツール (xGen® Lockdown® Design Tool) を用いた、プローブの設計方法

IDT では、ターゲット領域の情報から、具体的なプローブの配列リストを設計するツールを用意しています。

設計ツールの URL : <https://sg.idtdna.com/site/order/ngs>



なお、この設計ツールを使用するためには、IDT アカウントでのログインが必要です。ログイン方法は p.47 をご参照ください。

xGen® Predesigned Gene Capture Pools

お見積り・ご注文方法 ▶▶▶ p.83

ヒトの各遺伝子ごとにプレデザインされたプローブを提供いたします。

xGen® Predesigned Gene Capture Pools は、ヒト遺伝子のコーディング領域をカバーするプレデザインのプローブセットです。10 遺伝子から合成が可能のため、少数のターゲット遺伝子の場合、安価にパネルを構築できます。遺伝子の指定も、Gene Symbol もしくは Gene ID で簡単に行えます。

- ◎ ヒト遺伝子のコーディング領域をカバーするプレデザインのプローブセット
- ◎ 少数のターゲット遺伝子のみ解析の場合に安価にパネル構築が可能
- ◎ Gene Symbol もしくは Gene ID のリストで発注が可能
- ◎ 10 遺伝子分から発注可能
- ◎ チューブに全遺伝子分をまとめて納品 (Tubes)、あるいはプレートのウェルに遺伝子毎にロードして納品 (Plates)、どちらかを選択可能です。

価格

反応数	納品方法	価格 / 遺伝子	最小発注必要数
16	Tubes	¥20,000	10 遺伝子
	Plates	¥20,000	10 遺伝子
96	Tubes	¥30,000	10 遺伝子
	Plates	¥30,000	10 遺伝子

xGen® Universal Blocking Oligos (化学修飾ブロッキングオリゴ、プレデザイン版)

xGen® Universal Blocking Oligos は、アダプター配列を介したサンプルDNA同士のハイブリダイゼーションによる非特異的エンリッチメントを防ぎ、より多くのターゲット領域のシーケンスデータの取得を可能にする化学修飾ブロッキングオリゴです。

DNAライブラリーの末端に存在するアダプターに相補的に結合することで、アダプター同士のクロスハイブリダイゼーションや、アダプターへのプローブの非特異的結合をブロックします。

◎ 3種類のプレデザイン版があります。

Dual-Index Illumina Adapters用 : TS HT-i5を1本、TS HT-i7を1本、合計2本の購入が必要。

Single-Index Illumina Adapters用 : TS-p5を1本、TS-p7(6nt)もしくはTS-p7(8nt)を1本、合計2本の購入が必要。ただし、6nt (adapters 1-12) と8nt (adapters 13-27)を同時に用いる場合はTS-p7(6nt)およびTS-p7(8nt)の両方が必要となり、TS-p5と併せて合計3本の購入が必要。

Ion Torrent™ Adapters用 : IT-Aを1本、IT-P1を1本、合計2本の購入が必要。

◎ 10反応用、25反応用の2つの製品サイズから選択可能です。

◎ 他のライブラリー用、任意の配列でのブロッキングオリゴのカスタム合成をご要望の場合はお問い合わせください。お見積りいたします。

製品名		製品サイズ	価格 /oligo	納期		
xGen® Universal Blocking Oligos	Dual-Index Illumina Adapters用	xGen® Universal Blocking Oligo - TS HT-i5 xGen® Universal Blocking Oligo - TS HT-i7	10 反応分	¥60,000	1 ~ 2 週間	
	Single-Index Illumina Adapters用	xGen® Universal Blocking Oligo - TS-p5 xGen® Universal Blocking Oligo - TS-p7(6nt) xGen® Universal Blocking Oligo - TS-p7(8nt)				
	Ion Torrent™ Adapters用	xGen® Universal Blocking Oligo - IT-A xGen® Universal Blocking Oligo - IT-P1	25 反応分			¥120,000

■ xGen® Blocking Oligoによるアダプター領域のブロッキング



左図は、アダプター配列がマスクされて他の断片が間接的に結合しない状態を表しています。ライブラリー断片が左図のようにブロックされていれば、アダプター配列を介した非特異濃縮が起きにくくなるため、よりターゲットが濃縮されやすくなります。

クリニカルシーケンス分野において、ターゲット領域が比較的小さい設定のプロジェクトや、非常に多数のサンプルをマルチプレックスするプロジェクトなど、オンターゲット率が重要な解析において xGen® Blocking Oligo はオンターゲット率の向上に大きく貢献致します。

xGen® Lockdown® Reagents

お見積もり・ご注文方法 ▶▶▶ p.83

◎ xGen® Lockdown® ProbesあるいはxGen® Lockdown® Panelsを用いたキャプチャー実験の際に、ターゲット領域をより深く解析するためのハイブリダイゼーションバッファーです。

◎ 下記のHybridization capture protocolにより、4時間のハイブリダイゼーションで実験が可能です。

製品名	反応数	価格 / 反応
16 rxn xGen® Lockdown® Reagents	16	¥16,000
96 rxn xGen® Lockdown® Reagents	96	¥57,600

<キットの構成品>

- ・ 2X Hybridization Buffer
- ・ Hybridization Buffer Enhancer
- ・ 2X Bead Wash Buffer
- ・ 10X Wash Buffer I
- ・ 10X Wash Buffer II
- ・ 10X Wash Buffer III
- ・ 10X Stringent Wash Buffer

Hybridization capture protocol - xGen® Lockdown® Probes and Reagents

◎ xGen®製品を利用して行うハイブリダイゼーション実験のプロトコルです。

◎ xGen®製品により良い結果が得られるように最適化されています。

◎ ハイブリダイゼーション時間は4時間、セットアップおよびポストハイブリダイゼーションの処理時間を併せて9時間のプロトコルです。

プロトコルの詳細は、下記ウェブサイトからダウンロード可能です。

http://ruo.mbl.co.jp/bio/idx/ngs_oligo.html

IDT 次世代シーケンス

検索

