

次世代シーケンサーによる高速シーケンス解析サービス

性能アップならびに新型シーケンサー導入でますます充実!

タカラバイオが次世代シーケンサーを用いた解析受託サービスを開始してから約2年が経ちました。この間ご利用いただいた皆様からは、研究の大幅なスピードアップに役立ったとのご意見をいただいています。現在、シーケンサーの性能向上と新型次世代シーケンサーの登場により、研究目的に合わせたシーケンサーの選択が可能となりました。弊社では皆様のさまざまなご要望にお応えするために、一歩進んだ次世代シーケンサーによる解析受託サービスをご提供しています。

■ 次世代シーケンサーの特徴

欧米では次世代(および次々世代)シーケンサーの話題が毎日ニュースヘッドラインを賑わしており、次世代シーケンサーによる研究の加速が大きなインパクトを与えています。現在、市販の次世代シーケンサーの中で最も文献数が多く、多用途に活用されているのが454 Life Sciences社が開発したGenome Sequencer 20 System(GS 20)およびGenome Sequencer FLX System(GS FLX)*です。GS FLXは旧機種種のGS 20に比べ、解析長が約100 baseから約250 baseに伸びたほか、1解析で得られる解析数が20万クローン以上から35万クローン以上に増加しています。これらの改善により、ゲノム配列解析やPCR産物の多クローン解析の研究にますます利用しやすくなりました。

*: ロシュ・ダイアグノスティクス社AS事業部が販売

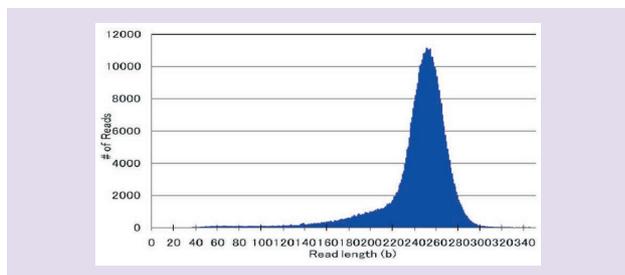


図1 GS FLX 解析長ヒストグラム

弊社では2006年夏からこのシリーズを導入し、これまでに80件以上の受託解析を行い、日本の研究者の皆様の研究スピードの加速をサポートしてまいりました。

一方、新型次世代シーケンサーには、1リードの解析塩基長は数十baseであるものの、1解析で得られる解析数が1億クローンにも達するものも登場し、そのひとつにアプライド

バイオシステムズ社のApplied Biosystems SOLiD™システム(SOLiD™システム)があります。その特徴から、SOLiD™システムはシーケンスデータをtagとしてとらえる発現解析やChIP(Chromatin Immuno-Precipitation)サンプルの解析などにも効果的と考えられています。また、GS FLXが苦手とするpolybase配列にも高い正確性を有しており、GS FLXと組み合わせて使用することにより、ゲノム解析がさらに効率アップすることが期待されます。弊社では、SOLiD™システムによる解析受託サービスを近日中に開始いたします。

以下に、GS FLXおよびSOLiD™システムを用いた解析受託サービス例として、ゲノム配列解析例を中心にご紹介いたします。



図2 GS FLXとSOLiD™システム

表 次世代シーケンサー比較

	現行シーケンサー	次世代シーケンサー	
機種	ABI3730xl	GS FLX	SOLiD™システム
解析長 (base)	600~	250	25~35
解析数 (/ Run)	96/384リード	35万リード	1億リード
適応解析	—	<ul style="list-style-type: none"> ゲノム配列解析 PCR産物解析 メタゲノム解析 	<ul style="list-style-type: none"> ゲノム配列解析 ゲノム変異解析 発現解析

■ 解析サービス例

・微生物ゲノム配列解析

近縁種のゲノム配列が未公開である株の場合、すべての基本設計図であるゲノム配列を新規に得る(*de novo sequencing*)ためには、1リードの解析塩基長が長く、高いアセンブル精

度を期待できる GS FLX の利用が有効です。

弊社では、解析目的・解析コスト・解析精度などについてお客様と相談の上で作業を開始いたします(図3)。第1段階としてのドラフトシーケンスでは、約250 baseのシーケンスデータを、総量としてゲノムサイズの約15倍(ゲノムサイズ3 Mbならば約45 Mb)程度解析します。解析データをアセンブルしコンティグ配列を得た後、SOLiD™システムまたはサンガー法による解析データを追加してコンティグ整理化・精度アップを行います。最終的に残された gap 領域を個々に解析して全ゲノム配列を決定していきます。

得られたゲノム配列は、遺伝子予測・比較ゲノム・パスウェイ解析などを行います。結果は、クライアント・サーバー型ゲノム解析支援データベース GenomeDIA にて閲覧していただくことも可能です(図4)。GS FLX の登場は、ゲノムサイズが数 Mb の細菌ゲノムだけでなく、数十 Mb の真菌にも全ゲノム配列解析の幅を広げました。

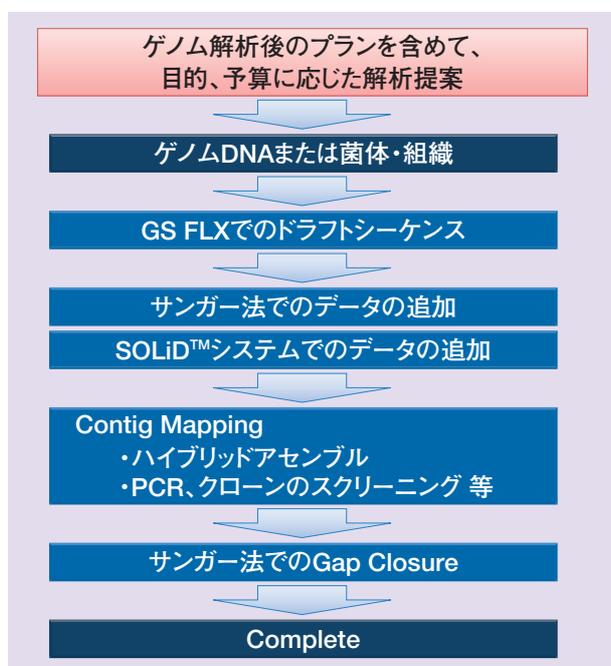


図3 de novo sequencing フローチャート

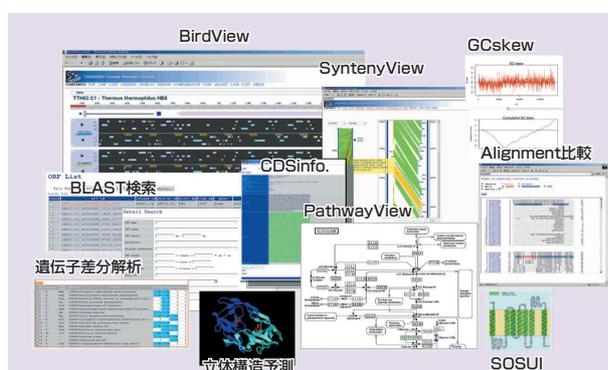


図4 GenomeDIA 機能一覧

一方、同種あるいは近縁種のゲノム配列(参照ゲノム配列)が公開情報などで既に存在している場合、その変異株の変異塩基の同定を主目的とする解析(resequencing)は、解析データの精度が高く、一度に大量のシーケンスデータが得られる SOLiD™システムを利用することがさらに有効です。取得したデータを参照ゲノム配列にマッピングし、変異塩基を抽出することによって迅速に変異遺伝子を推定できます。

・PCR産物の多型、変異解析、エピジェネティクス解析
 特定領域をPCR増幅し、その領域の多型や変異・メチル化塩基を解析する以下の研究にも、次世代シーケンサーは有効です。

- ・16S rRNA 領域の解析
- ・癌組織等の変異領域解析
- ・メチル化 DNA の塩基配列解析

GS FLX は250 base程度のシーケンスデータが得られるため、上記解析に適しています。シーケンスで得られたPCRプライマー領域の配列を指標にして群分けが可能のため、PCR多領域混合・多検体混合産物を一度にシーケンスして効率的に解析することも可能です。

・レトロウイルスやトランスポゾン挿入位置の網羅的解析

例えば、iPS細胞はレトロウイルスベクターによる特定遺伝子の導入により作製されます(本号17~19ページ参照)が、個々のiPS細胞ゲノムには導入遺伝子の非特異的部位への挿入が起きています。これらの挿入位置の特定は、iPS細胞の実用化と品質管理にとって大変重要な課題です。レトロウイルスやトランスポゾンのゲノム挿入解析にはLAM-PCR(linear amplification mediated-PCR)法が用いられますが、配列決定による挿入位置や分布の同定にGS FLXを利用すれば、解析の網羅性が従来よりも格段に向上します。

GS FLXおよびSOLiD™システムを用いた解析受託サービスに関して、解析価格などの詳細は下記のドラゴンジェノミクスセンターまでお問い合わせください。

タカラバイオでは上記以外にもさまざまな受託サービスを提供しております。また、サービスメニューにない解析についてもご要望に応じてサポートいたします。まずはお気軽にお問い合わせください。

【お問い合わせ先】

タカラバイオ(株)

ドラゴンジェノミクスセンター

TEL : 077-543-7331 FAX : 077-543-7225

<http://catalog.takara-bio.co.jp/jutaku/>