

次世代シーケンス(NGS)に関するお役立ち情報をお届けします。

今号のポイント: タカラバイオの、イルミナ社NGS装置用全ゲノム増幅&ライブラリー調製キットを使うことで、一度のシーケンスでSNVとCNVの同時解析が可能になりました。

【キーワード】 全ゲノム増幅(WGA)、少数細胞、一塩基変異(SNV)解析、コピー数多型(CNV)解析

SMARTer® PicoPLEX® Gold Single Cell DNA-Seq Kitを用いた5細胞からのSNVとCNVの同時解析

(クローンテック取得データ)

■ 実験の背景

臨床サンプルのゲノム解析はDNA量が少ないことが多いため、特にシングルセル解析はがんなどの病気の分子メカニズムを解明するためには重要である。正確性の高い一塩基変異(single nucleotide variants:SNV)解析と再現性の高いコピー数多型(copy number variants:CNV)解析が求められているが、全ゲノムシーケンスによるSNV解析はシーケンス量が多くコストが高くなるため、ターゲットシーケンスが好まれている。一方、CNV解析のシーケンス量はSNV解析より少ないが、全ゲノムを解析する必要があるため、SNVとCNVを解析するためには従来おのおの個別のライブラリーを作製する必要があった。

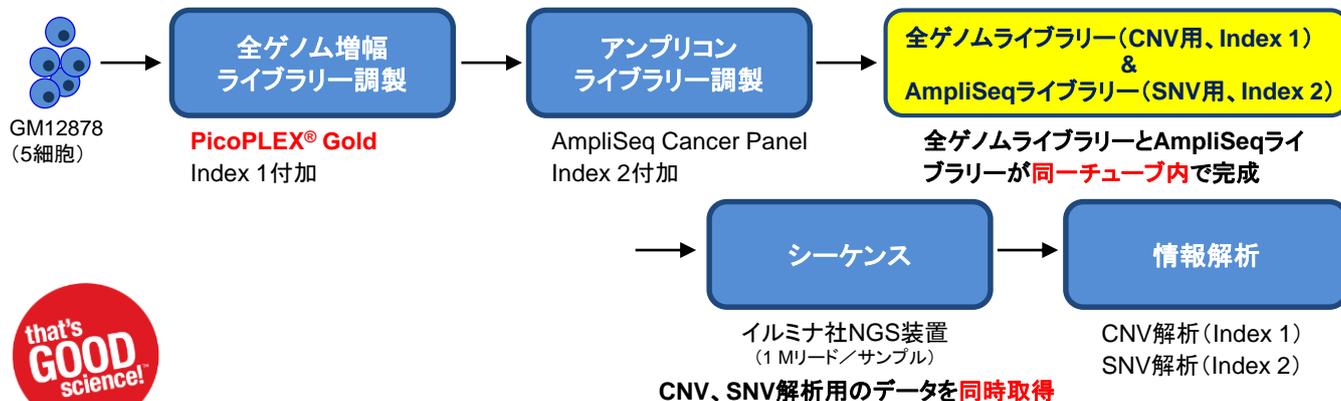
本実験ではシングルセルからの全ゲノム増幅とライブラリー調製が可能なSMARTer® PicoPLEX® Gold Single Cell DNA-Seq Kitとターゲットシーケンスが可能なAmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2(イルミナ社)を組み合わせることで、全ゲノムとターゲットシーケンス用のライブラリーを同時に作製することができ、かつ1回のシーケンスでSNV、CNV解析を同時に行うことが可能となった。

■ 使用製品： シングルセルからでも均一な全ゲノム増幅が可能なライブラリー調製キット

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
SMARTer® PicoPLEX® Gold Single Cell DNA-Seq Kit	24回	R300669	¥134,000

※別途Index Kitが必要です。

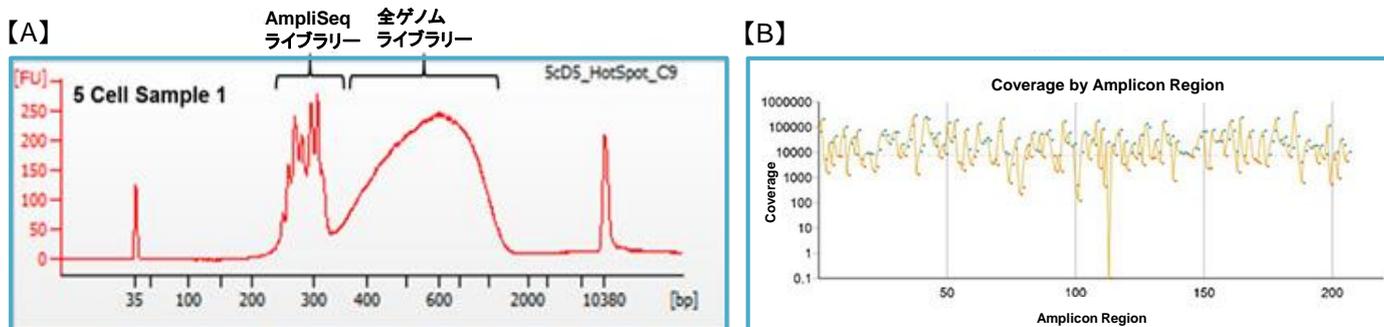
■ 実験ワークフロー



裏面につづく ➡



■ ライブラリーの電気泳動(バイオアナライザー)結果【A】とアンプリコンカバレッジ深度【B】



【A】 PicoPLEX® GoldとAmpliSeqを組み合わせて作製したライブラリーの電気泳動結果は、**全ゲノムライブラリーとAmpliSeqライブラリーの両方が含まれたサイズパターン**となり、予想通りの結果が得られた。

【B】 設計された207個のアンプリコンのうち206個が検出され、いずれも100x以上の深度でカバーされた。**PicoPLEX® Goldによる全ゲノム増幅はゲノムカバー率が高いことが示された。**

■ SNV解析結果

	True positives*	% True positives	Allele dropouts**	False positives***	% False positives
Reference	11	100	0	0	0
Sample 1	11	100	0	1	4.5x10 ⁻³
Sample 2	11	100	0	1	4.5x10 ⁻³

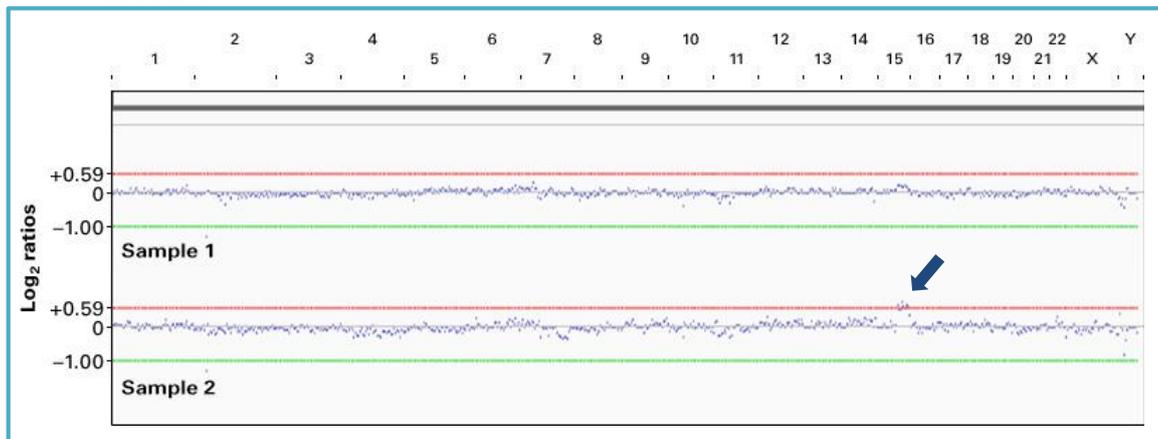
* For the GM12878 cell line, there were eleven variants contained in the Hot-Spot Cancer Panel.

** Filters: Minor allele frequency >0.3, Variant depth >10

*** Total panel size=22 kb

本実験で使用したGM12878細胞は使用したAmpliSeqパネル中に11個の変異が存在するが、5細胞を用いた反復実験(Sample 1, 2)では11個すべての変異を検出することができた。偽陽性は1個検出されたが、アレルドロップアウトは検出されず、**5細胞からでも精度良くSNVを検出できることが示された。**

■ CNV解析結果



本実験で使用したGM12878細胞は本来、コピー数異常がない細胞だが、培養を重ねるとコピー数異常が検出されることがよくある。本実験ではSample 2のみにおいて、15番染色体でコピー数異常が検出され(青矢印)、CNV解析も精度良く検出できることが示され、**一度のシーケンスでSNV、CNVの同時解析が可能であることが示された。**

・本チラシで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
 ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
 ・ライセンス情報については弊社ウェブサイトにてご確認ください。 ・本チラシに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。
 ・本チラシ記載の価格は2019年5月7日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2019年5月作成G

タカラバイオ株式会社

東京支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282

関西支店 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995

テクニカルサポートライン

TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995

Website <http://www.takara-bio.co.jp>

Facebook <http://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店