

DNBSEQ-G400を用いた 次世代シーケンシング 国内受託解析サービス

高品質・低コストでより多くの有効なデータをご提供
核酸抽出、ライブラリ調製からシーケンシング、解析まで国内実施



国内ラボにDNBSEQ-G400を導入

早く、便利に!

まずはWGS、10xシングルセルRNA-Seqから

会社概要	3
GENEWIZ/ジーンウィズ次世代シーケンシング受託サービス	4
DNBSEQ-G400シーケンシングプラットフォームの概要	5
ヒト全ゲノムおよび全エクソーム解析のデータ比較 <ジーンウィズによる検証>	6
トランスクリプトームテストデータの比較 <ジーンウィズによる検証>	7
DNBSEQ-G400によるジーンウィズ受託解析の概要	8
MGISEQ-2000シーケンシングプラットフォームの使用例	9
BGISEQ/MGISEQ/DNBSEQを用いて発表された論文の実績	10

会社概要



GENEWIZは、1999年に創立された、アメリカ・ニュージャージー州に本社を置く、ゲノム研究と遺伝子技術の応用に特化したバイオテクノロジー企業です。全世界の研究者向けに、次世代シーケンシング、サンガーシーケンス解析、人工遺伝子合成、プライマー合成、遺伝子編集、分子生物学に関する多様なサービスおよびCLIA、GLP基準を満たすゲノミクス受託サービスを提供しています。

確かな技術と優れたサービスが認められ、世界の有名企業や国立機関から戦略的なパートナーおよび推奨される取引先として指定されています。

日本ジーンウィズ株式会社は埼玉県川口市に所在し、オフィスとラボ、専門スタッフを設置・配備しています。アメリカ、中国、ヨーロッパの十数か所の解析拠点と協力してGENEWIZグローバルサービスネットワークを構築、生命科学の各分野において、迅速でかつ利便性に優れた品質の高いサービスをお客様に提供しています。

2018年にGENEWIZはBrooks Automation社の傘下に入り、NASDAQ上場企業の一員となりました。生命科学分野の研究者に向けて「合成から解析まで」、ワンストップソリューションを提供します。



次世代シーケンシングプラットフォーム

次世代シーケンシング技術は、数十万本から数億本のDNA配列を一括で検出、解析することができ、従来のサンガーシーケンス解析に比べ、ハイスループットな処理を可能にします。

Illumina NovaSeq、HiSeq X Ten、MiSeq、PacBio Sequel、DNBSEQ および10x Genomics Chromiumなどを保有し、多種多様なハイスループットシーケンシングソリューションをご提供、お客様のご研究をサポートします。



Illumina NovaSeq



PacBio Sequel



DNBSEQ-400G
(旧製品名: MGISEQ-2000)



Illumina HiSeq X Ten



Illumina MiSeq



10x Genomics Chromium

次世代シーケンシングのアプリケーション

遺伝子制御および発現解析

真核生物トランスクリプトーム
シーケンシング (RNA-Seq)
原核生物トランスクリプトーム
シーケンシング
全長トランスクリプトーム
シーケンシング (Iso-Seq)
シングルセル RNA-Seq
Small RNAシーケンシング
LncRNAシーケンシング
CircRNAシーケンシング
全ゲノムメチル化シーケンシング
ChIP-Seq
ATAC-Seq
免疫レパトア解析

ゲノミクス解析

全ゲノムリシーケンシング
全エクソンシーケンシング
ターゲットリシーケンシング
多型同定 (塩基置換、挿入欠失、構造、コピー数)
新規ゲノム配列決定
CRISPR ON/OFFターゲット解析
BSA形質マッピング
連鎖解析
系統進化分析
アンプリコンシーケンシング

マイクロバイーム解析

微生物多様性シーケンシング
(16S/18S/ITS)
全長16S rRNAシーケンシング
全メタゲノムシーケンシング
メタトランスクリプトームシーケンシング
微生物ゲノムリシーケンシング
細菌ゲノムドラフトマップ
細菌ゲノム詳細マップ
真菌ゲノムドラフトマップ
真菌ゲノム詳細マップ
ウイルスゲノムシーケンシング

DNBSEQ-G400 シーケンシングプラットフォームの概要



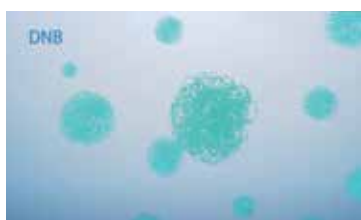
DNBSEQ-400G (旧製品名: MGISEQ-2000) シーケンシングプラットフォームは、MGI Tech が提供するDNA配列解析システムで、結合的プロンプ/アンカー合成技術(cPAS)およびDNAナノボール技術(DNB)の採用により、高いシーケンシング精度と高出力を可能にしています。

シーケンシング仕様

選択可能リード	データ作成量	データ量	平均稼働時間
SE50	150-180G	Q30 > 85%	~15hrs
PE100	600-720G	Q30 > 80%	~48hrs
PE150	900-1080G	Q30 > 75%	~72hrs
PE200	1200-1440G	Q30 > 75%	~108hrs
SE400	1200-1440G	Q30 > 70%	~109hrs

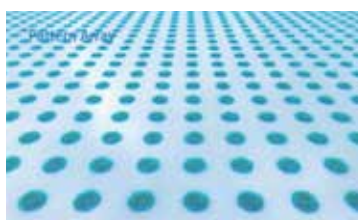
* 出力は2Flow Cell (計8レーン) 当たりのデータ量。弊社受託シーケンシングでは、リードオプションPE150のみ提供中 (2020年2月現在)

シーケンシング技術の原理



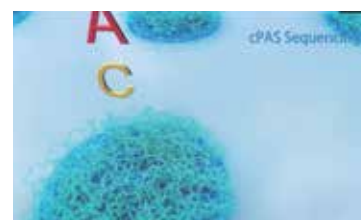
DNB

ゲノムDNAは、ライブラリ調製の最初に断片化を行い、アダプターを結合して環状化、その後、1本鎖環状DNAを形成します。その後ローリングサイクル増幅(Rolling circle amplification)を用いて、1本鎖環状DNAを増幅します。この増幅産物はDNAナノボール(DNB)と呼ばれます。



パターン配列

リソグラフィーとドライエッチング技術を用いて、アレイとアライメントマークをシリコンウェハの表面に形成し、「深紫外フォトレジスト塗布-アレイパターン露光-局所シリコン表面に造影-化学蒸着(アミノシラン修飾)」の順で処理し、DNAナノボールを固定します。



cPAS

シーケンシングは合成の原理に基づいており、1回のサイクルにおいて、フルオロフォアとブロッキング基を有する4種類のdNTPを加え、重合反応後、2つの波長(緑と赤)のレーザーを励起、フィルタリング処理して、2台のカメラにより同時に写真を撮影します。

高い精度

独自の線形増幅法で常に元のテンプレートから増幅することにより、一般的なPCR法のようなエラーの蓄積を生じず、ゲノム本来の配列情報が最大限に反映されます。

低い重複率

1本鎖環状DNAライブラリーの採用により、環状PCR2本鎖ライブラリーのうち1本だけがDNBの形成に使用されます。DNBは溶液中で事前に増幅され、ライブラリーにはポリメラーゼ、プライマー、dNTPなどのPCR条件が存在しないため、重複の低い結果が得られます。

特長および優位性

有効なデータ

1本鎖環状DNAライブラリーの作成において、残留アダプターは環状化に関与せず、直接消化されて、シーケンスデータ中のシーケンスアダプターの含有量が低化します。線形ローリング増幅技術の採用により、Index Hoppingの発生確率を低減します。

ヒト全ゲノムおよび全エクソーム解析のデータ比較 <ジーンウィズによる検証>

ヒト全ゲノム解析は、同一のヒトゲノムサンプルを使用し、それぞれDNBSEQ-G400およびIllumina HiSeqを用いて、PE150の仕様でシーケンシングを実施しました。

ヒト全エクソームは、異なる4人のゲノムサンプル (GW146/GW158/GW181/GW216) をDNBSEQ-G400およびIllumina HiSeqにより解析しました。

1. ヒト全ゲノム解析のデータ品質の比較結果

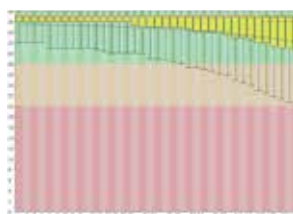


図1. DNBSEQ-G400でのRead1(左)、Read2(右)の塩基ごとの品質

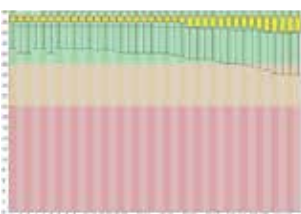


図2. HiSeqでのRead1(左)、Read2(右)の塩基ごとの品質

各プロットの横軸は1-150 bpまでの塩基、縦軸はクオリティスコアを示しています。DNBSEQ-G400ではRead1の後半で若干の品質低下が見られる一方、Read1およびRead2とも各塩基の品質は安定していることが分かります。

2. ヒト全ゲノム解析のマッピング結果および多型・変異検出に対する有効性

プラットフォーム	DNBSEQ-G400	HiSeq
リード数 (M)	780.00	726.00
データ量 (Gbp)	101.37	94.37
マッピング率 (%)	99.85	99.93
重複率 (%)	8.61	12.26
既知の一塩基多型および挿入欠失 (%)	98.5;93.7	97.9;89.7



図3. マッピング率と多型・変異検出の結果

DNBSEQを用いた解析では、HiSeqに匹敵するリード数およびデータ量が得られたとともに、重複率が有意に少なく、有効なデータ量が多いことが分かりました。また、既知の多型・変異の検出についても高い再現性があることが示されました。

3. ヒト全エクソーム解析のシーケンスデータの評価

	DNBSEQ-G400				HiSeq			
	GW146	GW158	GW181	GW216	GW146	GW158	GW181	GW216
サンプルID	GW146	GW158	GW181	GW216	GW146	GW158	GW181	GW216
リード数 (M)	51.03	48.79	45.82	42.15	51.87	47.86	46.60	43.04
重複率 (%)	6.94	5.25	3.21	3.46	21.17	20.07	18.08	19.80
エクソームのカバー率 (%)	99.19	99.16	99.31	99.22	99.16	99.11	99.31	99.20

まとめ：

- ✓ 高いシーケンシング品質：MGISEQ/DNBSEQのデータ品質はHiSeqと同等、さらにRead1とRead2の各塩基の品質も安定しているため、品質的により均一な信頼性の高い結果を得ることができます。
- ✓ 低い重複率：データの無駄を低減することで、相対的に有効なデータ量が増加します。これにより、多型・突然変異の検出精度の向上に繋がります。
- ✓ 高い再現性：既知の多型・変異の大部分を検出、同定が可能です。高いシーケンシング品質と低い重複率により、データをより有効に利用でき、信頼性の高い情報を得ることができます。
- ✓ 高いカバレッジ：同程度のデータ量でも、MGISEQ/DNBSEQならより多くのゲノム領域、エクソン領域をカバーすることができます。

トランスクリプトームテストデータの比較 <ジーンウイズによる検証>

4匹のマウスからそれぞれトータルRNAを抽出、RNA-Seqライブラリ調製を行い、DNBSEQ-G400およびIllumina HiSeqを用いてシーケンシング、遺伝子発現解析を行いました。

1. DNBSEQ-G400でのデータ品質とマッピング結果

サンプルID	GW1-MGI	GW2-MGI	GW3-MGI	GW4-MGI
リード数 (M)	43.07	45.50	49.03	50.43
リード仕様 (bp)	150	150	150	150
Read1 Q30 (%)	88.37	89.24	89.54	89.01
Read2 Q30 (%)	86.90	88.60	88.08	86.28
平均Q30 (%)	87.64	88.92	88.81	87.65
マッピング率 (%)	93.91	94.53	94.13	93.75
重複マッピング率 (%)	8.14	7.92	8.27	8.02
ユニークなマッピング率 (%)	85.77	86.61	85.87	85.73

2. 遺伝子発現の相関分析

各サンプルについてDNBSEQとHiSeqの比較をした場合の相関係数を示しています。両プラットフォームの間で高い相関があることが分かります。

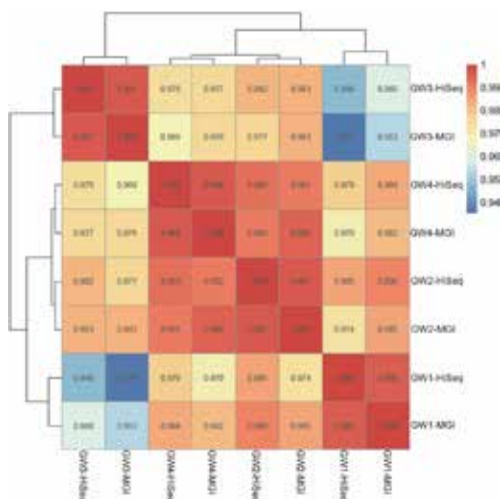


図4. 相関性分析の結果

3. 遺伝子発現の高い検出力

発現の検出できた遺伝子の総数には、DNBSEQとHiSeqで大きな違いがなく、両方の結果で共通して発現していた遺伝子の数は、検出された全遺伝子の94%以上になります。

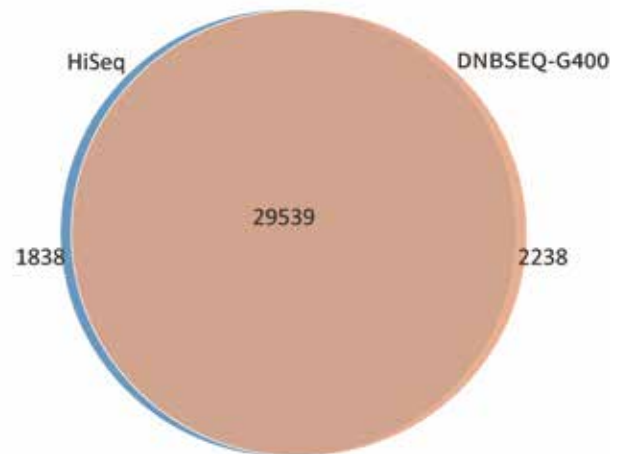


図5. DNBSEQ/HiSeqで検出された遺伝子の重複度

まとめ:

- ✓ 高いシーケンシング品質: DNBSEQはシーケンシング品質やマッピング効率に影響せず、高い品質のデータを出力します。
- ✓ 低い重複率: 有効なデータ量が増加するだけでなくRNA-Seqでは実際の遺伝子発現状況に近い値を示すことが期待できます。
- ✓ 遺伝子発現および同定: 低いシーケンシングコストでも、MGISEQ/DNBSEQは主流のプラットフォーム (Illumina HiSeq) によるRNA-Seqの結果と高いレベルで一致します。

DNBSEQ-G400 によるジーンウィズ受託解析の概要

原理	特長	目的・利用法
<ul style="list-style-type: none"> • DNA ナノボール • ローリングサークル増幅 	<ul style="list-style-type: none"> • シークエンシングコストが低い • 重複率が低い • ローリングサークル増幅によりエラーのコピーと蓄積が発生しない • Read1 と Read2 において品質の一貫性が高い 	動植物ゲノムのリシークエンシング、トランスクリプトーム解析、次世代シークエンシングの各種アプリケーション

ゲノム解析、遺伝子発現解析でのサンプル提出ガイドラインとシークエンシング仕様

アプリケーション	サンプル条件	シークエンシング仕様	データ量の目安	通常納期
ヒト全ゲノムシークエンシング	ゲノム DNA : ≥ 200 ng (PCR-Free の手法を希望の場合 ≥ 2.0 μ g) OD260/280 比 : 1.8-2.2 溶液量 ≥ 10 μ l アガロースゲル電気泳動により著しい分解が認められないこと。 サンプルは無色透明で粘性がなく、不溶性物質を含まないこと。	PE150 bp	120 Gb (30-40x カバレッジ相当)	20-25 営業日
ヒト全エクソームシークエンシング	ゲノム DNA : ≥ 200 ng OD260/280 比 : 1.8-2.2 溶液量 ≥ 10 μ l アガロースゲル電気泳動により著しい分解が認められないこと。 サンプルは無色透明で粘性がなく、不溶性物質を含まないこと。	PE150 bp	12 Gb (100x カバレッジ相当)	20-25 営業日
真核生物トランスクリプトームシークエンシング	トータル RNA : ≥ 1.0 μ g RIN ≥ 6.5 ; OD260/280 比 : 1.8-2.2 溶液量 ≥ 10 μ l サンプルは無色透明で粘性がなく、不溶性物質を含まないこと。	PE150 bp	6 Gb (2,000 万 PE リード相当)	20-30 営業日

備考:

納期は通常、土日祝日を除く営業日数で、ご提出のDNA/RNAサンプルの品質確認ができてからシークエンシング、あるいは標準解析が完了するまでの期間です。

サンプル数に限らず、原則、レーン単位でのご利用となります(レーン出力:約4億PEリード、PE150 bp仕様でデータ量:約120 Gb)。上記以外のアプリケーションにつきましては、弊社または販売代理店にお問い合わせください。

MGISEQ-2000 シークエンシングプラットフォームの使用例

中国のヤガ科の昆虫ツマジロクサヨトウの染色体レベルのゲノム構築

ヤガ科の昆虫ツマジロクサヨトウは、トウモロコシやイネに対して有害な外来種であるため、この昆虫について理解を深めることは、作物生産上、重要な課題となります。研究者らは、MGISEQ-2000 (現製品名:DNBSEQ-G400) によって得られたシーケンシングデータから中国雲南省のツマジロクサヨトウ2匹 (オスとメスそれぞれ1匹のずつ、図1) について、信頼性の高い新規ゲノム配列を取得しました。オスのゲノムサイズは542Mb、メスのゲノムサイズは530Mbと推定されました。さらにHi-C技術との組み合わせにより、ゲノムのアセンブル結果を補正、染色体レベルでのゲノム配列構築に成功しました。

5齢幼虫と6齢幼虫2匹に対するトランスクリプトーム解析および全ゲノム解析の結果、ツマジロクサヨトウは22,201個の遺伝子を持ち、そのうち、93.48%が機能を有していると推測されました。9つの昆虫種について2,001個の遺伝子配列を用いて系統解析をした結果、ツマジロクサヨトウ (*S.frugiperda*) はハスモンヨトウ (*S. litura*) と近縁にあることが分かりました (図2、表1)。また、ツマジロクサヨトウの遺伝子について機能解析をした結果、薬剤抵抗性をもつことが予測されました。



図1. ゲノム構築に使用した2つの個体、左側がメス、右側がオス

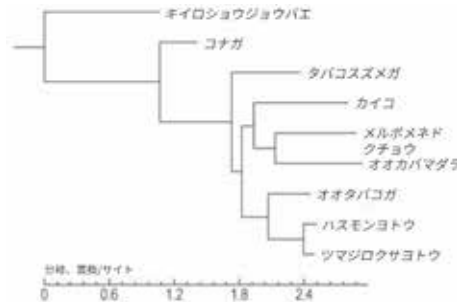


図2. 9虫種の系統樹

表1. 9つの虫種について確認された遺伝子情報

Liu H, Lan T, Fang D他。中国の侵略的外来種害虫- ツマジロクサヨトウ (*Spodoptera frugiperda*) の染色体レベルのドラフトゲノム作成
DOI: <https://doi.org/10.1101/671560>

10x Genomicsシングルセル遺伝子発現解析をMGISEQ-2000とIlluminaシーケンサーで比較 非常に高いレベルで結果が一致

オーストラリア・ガーバン医学研究所の研究者は、10x Genomics Chromiumを用いて7万個以上の細胞についてシングルセルレベルでの遺伝子発現解析用ライブラリを作成、MGISEQ-2000とIllumina NextSeq 500、NovaSeq 6000によりシーケンシングを実施、結果を比較しました。MGISEQ-2000はシーケンシング品質、細胞クラスタリング、発現マーカーおよび遺伝子発現同定においてNovaSeq 6000との間で高い類似性が確認できました。また、同程度のシーケンシング出力の場合、MGISEQ-2000はNextSeq 500 に比べ、より多くの細胞、遺伝子、発現マーカーを検出できました (図2)。

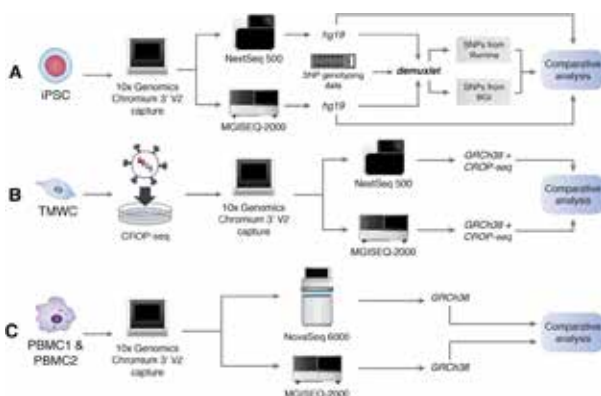


図1. 実験設計図

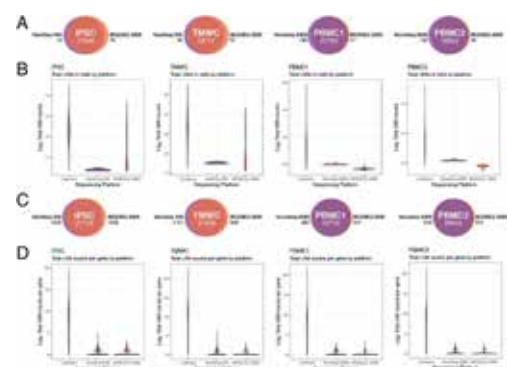


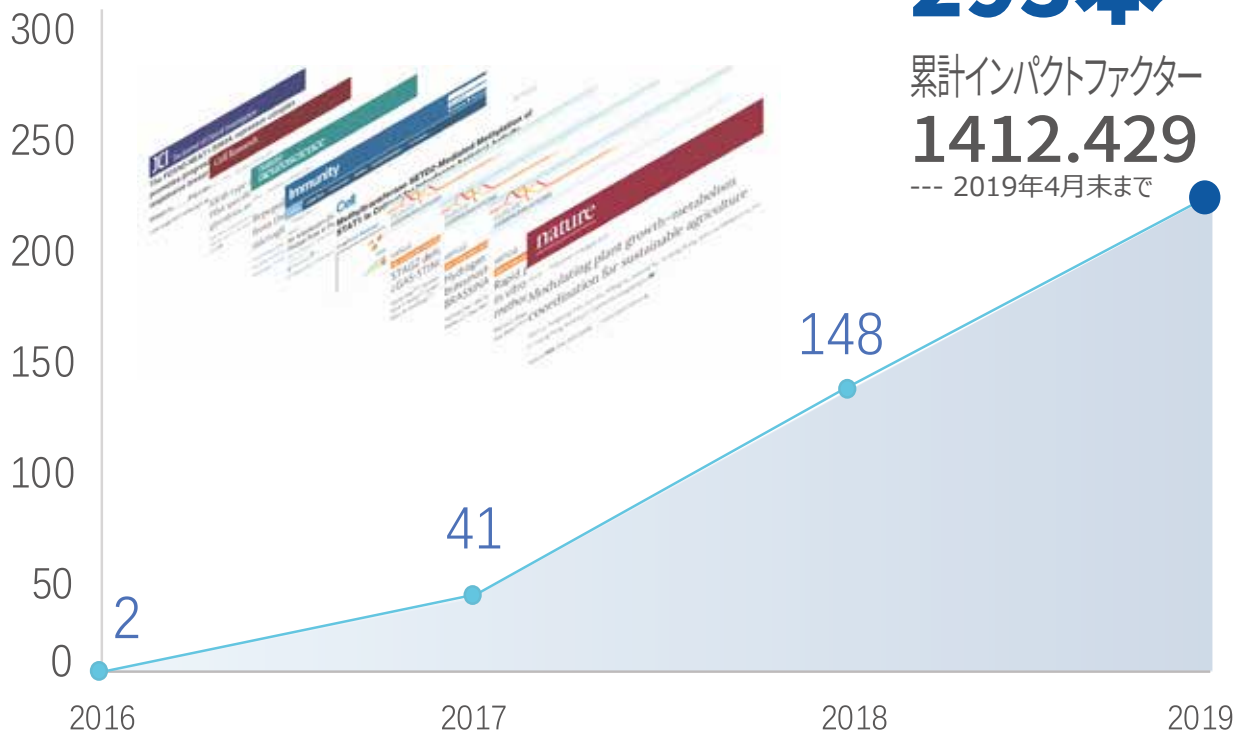
図2. 2つのプラットフォームにおいて検出された細胞バーコードと特異的マーカーの比較

シングルセルRNA-SeqのためのBGIおよびイルミナ社シーケンステクノロジーのパフォーマンス比較
<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/552588v2>

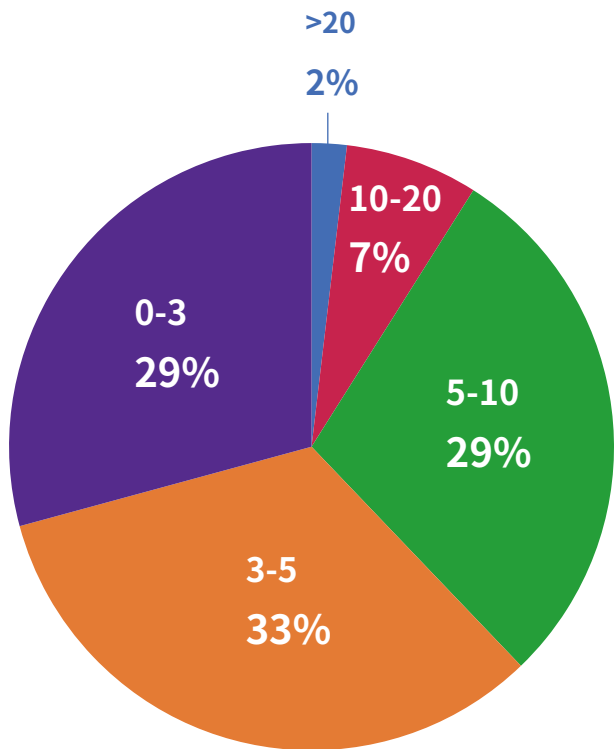
BGISEQ/MGISEQ/DNBSEQ を用いて発表された論文の実績

293本

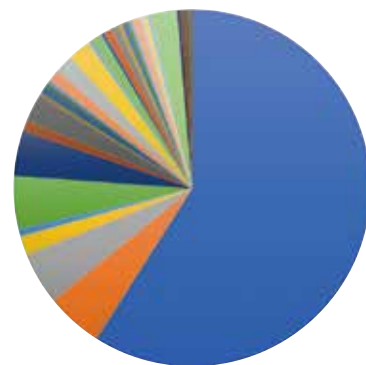
累計インパクトファクター
1412.429
 --- 2019年4月末まで



BGISEQ/MGISEQ/DNBSEQプラットフォームに関して発表された論文の数



論文のインパクトファクターの分布



- RNA-Seq
- Small RNA
- WGS
- RNA-Seq&ChIP-Seq
- ChIP-Seq
- メタゲノミクス
- WES
- レジュー
- De Novo トランスクリプトーム解析
- 方法論-長いフラグメント
- プラスチムDNA
- 酵母DNA
- WGS&PCR-Free
- RNA-Seq&miRNA
- scRNA-Seq
- 病原体
- 方法論-tLFR
- NIFTY
- 植物ゲノミクス
- Hi-Cライブラリー
- PGS
- cDNA
- ATAC-Seq&LICAT-Seq
- scCAT-Seq
- RNA-Seq&ChIP-Seq
- 採集
- RNA-Seq&ATAC-Seq
- WGS&WES
- RPBs-Cap
- 葉緑体DNA
- ATAC-Seq
- ミトコンドリアDNA
- WGS&Hi-Cライブラリー&RNA-Seq
- miRNA

幅広い分野で利用されています



Solid science. Superior service.
確かな技術と優れたサービス

日本ジーンウィズ株式会社

〒333-0844 埼玉県川口市上青木3-12-18
埼玉県産業技術総合センター内 508号室(オフィス)・553号室(ラボ)
TEL: 048-483-4980 FAX: 050-3730-9242
E-mail: NGS.Japan@genewiz.com

www.genewiz.com/ja-JP

取扱店・代理店記入欄

NGS016BL-R1-2007TC

©2020 GENEWIZ Inc.
本サービスは研究用のみに使用できます。診断目的に使用することはできません。
当印刷物に記載されている会社名および商品名などは、各社の商標または登録商標です。本印刷物記載の内容は2020年7月現在のものです。