

# 次世代シーケンス解析 Illumina MiSeq Amplicon Deep Sequence



クローニング不要 /

★  
PCR 産物の  
Deep Sequence

★  
1 検体 10 万本の  
データ取得

★  
リードカウント  
データ解析付き

1 検体からご依頼いただけます。 **¥ 60,000 / 検体 (税別)**

## ご利用例

- ★ CRISPR ゲノム編集領域における変異導入の確認
- ★ ウイルス多型領域の頻度解析
- ★ 疾患組織で検出された低頻度変異のバリデーション
- ★ バイサルファイト処理サンプルのメチル化頻度解析

ターゲット領域における多型配列の検出、頻度集計を目的とした解析にご利用いただけます。

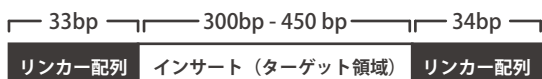
## ご用意いただくサンプル

### ターゲット領域の PCR 産物

<条件>

- 指定リンカー配列が付加されていること
- プライマーや非特異的産物の除去が行われていること
- 必要量：5ng (0.2ng/μl) 以上
- ターゲット領域のサイズ：300bp - 450bp 程度

ご提供いただくアンプリコンの構造



## 解析のワークフロー

### ターゲット領域の PCR 増幅

指定リンカー配列の付いたプライマーを用いて、ターゲット領域の PCR 増幅を行い、リンカー配列の付加されたアンプリコンを作製。

### Tailed PCR によるアダプター付加

1st PCR 産物のリンカー配列に対する Tailed PCR により、シーケンスに必要なアダプター配列を付加し、ライブラリを作製。

### MiSeq データ取得・リードカウント

Sequence	Count
CGGTGCCACCATGGTGGCAAGGGGCGAGAGCTG	26,552
CGGTGCCACCATGGTGGCAAGGGGCGAGAGCTG	21,408
CGGTAGCCACCATGGTGGCAAGGGGCGAGAGCTG	6,585
CGGTGCCACCATGGTGGCAAGG—AGAGCTG	5,033
CGGTGCCACCATGGTGGCAAGGGGCGAGAGCTG	2,699
CGGTGCCACCATGGTGGCAAGGGGCGAGAGCTG	959

MiSeq 300bp ペアエンドシーケンスにより、1 検体約 10 万リードペアのデータ取得を行い、同一配列のリード数を集計。

本解析は、Illumina 社より公開されているプロトコル (16S Metagenomic Sequencing Preparation) に従い実施いたします。リンカー配列および PCR・精製の方法につきましては、上記プロトコルをご参照の上、詳細はお問い合わせください。

## リードカウント

サンプルごとに、同一配列のリード数を集計します。

¥0

表面のプランに含まれます

### ○ リードカウントテーブル

Sequence	Count
CCGGTCGCCACCATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG...	26,552
CCGGTCGCCACCATGGTCAGCAAGGGCGAGGAGCTG...	21,408
CCGGTAGCCACCATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTG...	6,585
CCGGTCGCCACCATGGTGAGCAAGG---AGGAGCTG...	5,033
CCGGTCGCCACCATGGTCGCAAGGGCGAGGAGCTG...	2,699
CCGGTCGCCACCATGGTCGCAAGGGCGGGAGCTG...	959

※納品データでは、赤字やハイフンの目印は付いておりません。

## 検体間比較

複数サンプルのリードカウント結果を統合し、検体間比較テーブルを作成します。

¥50,000

1テーブルあたり

### ○ 検体間比較テーブル

Sequence	Count			
	SampleA	SampleB	SampleC	SampleD
ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAG	33,256	18,657	31,820	256
ATGGTCAGCAAGGGCGAGGAG	22,305	27,054	9,521	187
ATGGTGAGCAAGGAGGAG	5,243	0	1,682	35,672
ATGGTCGCAAGGGCGAGGAG	2,702	1,350	38	0
ATGGTCGCAAGGGCGGGGAG	982	537	4,689	16

## ターゲット解析

### ① ターゲット領域のリードカウント (塩基配列・アミノ酸配列)

Sequence	Count
ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAG	33,256
ATGGTCAGCAAGGGCGAGGAG	22,305
ATGGTGAGCAAGGAGGAG	5,243
ATGGTCGCAAGGGCGAGGAG	2,702
ATGGTCGCAAGGGCGGGGAG	982

Sequence	Count
MVSKGEELFTGVVPIILVELDG	55,687
MVSKELFTGVVPIILVELDG	5,267
MVSKELFTGVVPIILVELDG	2,715
MVRKGEELFTGVVPIILELDG	972
MVRKGEELFTGVVPIELDG	584

### ② アライメント (塩基配列・アミノ酸配列)

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAG  
ATGGTCAGCAAGGGCGAGGAG  
ATGGTGAGCAAG---CGAGGAG  
ATGGTCGCAAGGGCGAGGAG  
ATGGTCGCAAGGGCGGGGAG  
\*\*\*\*\* \*\*

MVSKGEELFTGVVPIILVELDG  
MVSK-EELFTGVVPIILVELDG  
MVSK---ELFTGVVPIILVELDG  
MVRKGEELFTGVVPII-ELDG  
MVRKGEELFTGVVPI--ELDG  
\*\* \* \*\*\*\*\* \*\*

### ③ ポジション毎の出現頻度集計 (塩基・アミノ酸)

% base count	A	T	G	C	-
	99.87	0.00	0.04	0.00	4.15
0.00	99.56	0.00	0.00	94.27	1.12
0.00	0.44	97.21	98.45	0.00	68.74
0.13	0.00	2.75	0.00	1.58	30.14
0.00	0.00	0.00	1.55	0.00	0.00

SeqID	count	POS1	POS2	POS3	POS4	POS5	POS6	POS7	POS8	POS9
Ref.	-	A	T	G	G	T	G	A	G	C
Seq001	5976	A	T	G	G	T	G	A	-	-
Seq002	2642	A	T	G	G	T	C	A	G	-
Seq003	384	A	T	G	G	A	G	A	G	C
Seq004	145	A	T	C	G	T	C	A	G	C
Seq005	98	A	T	C	G	T	G	A	G	C

※図は塩基の集計例

¥25,000  
ターゲット解析  
基本料金

+

¥2,500  
1テーブル  
あたり

- ① アンプリコン内部のターゲット領域に相当する塩基配列、および翻訳したアミノ酸配列を対象として、同一配列の集計を行います。
- ② 同一配列集計後の塩基配列・アミノ酸配列を対象としてアライメントを行います。
- ③ アライメント結果を基に、リファレンス配列上の各ポジションにおける塩基・アミノ酸の出現頻度を纏めたテーブルを作成します。

### 3 検体の解析例

#### ● 基本解析

Amplicon Deep Sequence 解析 60,000 円 × 3 サンプル  
(ライブラリ調製・シーケンスデータ取得・リードカウント解析を含む)

#### ● オプションデータ解析：ターゲット解析

ターゲット解析 基本料金 25,000 円 × 3 サンプル  
ターゲット領域のリードカウント (塩基) 2,500 円 × 3 サンプル  
ターゲット領域のリードカウント (アミノ酸) 2,500 円 × 3 サンプル  
アライメント (アミノ酸) 2,500 円 × 3 サンプル  
ポジション毎の出現頻度集計 (アミノ酸) 2,500 円 × 3 サンプル

#### ● オプションデータ解析：検体間比較

検体間比較テーブル作成 (3 検体) 50,000 円 × 1 テーブル

一式合計 335,000 円 (税別)

代理店

北海道システム・サイエンス株式会社

〒001-0932 札幌市北区新川西2条1丁目2-1

☎ 0120-613-190

TEL: 011-768-5903 FAX: 011-768-5951

E-mail: hss-ngs@hssnet.co.jp

URL: http://www.hssnet.co.jp