

NGSメチル化検出システム

NGSメチル化プロファイリングにおける比類のない効率を提供

Twist NGS メチル化検出システムは、ヒトゲノムにおけるメチル化領域を同定するための堅牢な end-to-end のサンプル調製ソリューションを実現します。ライブラリ調製は、DNA に対するダメージがはるかに少ない独自の酵素プロセスを採用、必要なサンプルのインプット量を削減するとともに、より高品質で高性能のライブラリ調製を可能にします。また、Twist カスタムメチル化パネルのデザインにより、CpG 検出のためのターゲットエンリッチメント用の非常に効率の良いプローブを提供します。最適化されたハイブリダイゼーション試薬により、ワークフローのタイミングを調整できるだけでなく、オンターゲット率も改善します。細胞分化の研究やリキッドバイオプシーのがんスクリーニングにおいて最も効率的なメチル化検出を実現するシステムです。

主なポイント

End-to-end のソリューション

- 最先端の酵素プロセスを使用して、非メチル化シトシンを変換。
- キャプチャには、高性能の Twist プローブと最適化された試薬を使用。

革新的なライブラリ調製

- 既存のバイサルファイトシーケンス解析パイプラインの適用が容易。
- 優れたマッピング効率、GC 均一性およびシーケンス指標を実現。
- バイサルファイト法と比較して 15% 増の CpG 検出を実現。
- サンプルダメージの低減により、困難なサンプルの使用が可能。

高効率のカスタムパネル*

- 精巧な設計、正確な合成、緻密な品質管理(QC) によって、キャプチャの均一性と再現性を最大化。
- あらゆるパネルサイズ、ターゲット領域およびマルチプレックス要件を網羅する卓越した性能を発揮。
- パネルのコンテンツの拡張および強化が容易。

最適化されたハイブリダイゼーション試薬

- 性能を落とさずハイブリダイゼーションのタイミングを調整。
- メチル化エンハンサーを用いてオンターゲット率を改善。

*別売

Twist ターゲットメチル化シーケンス用 NEBNext® EM-seq™ キット

Twist Bioscience は、New England Biolabs (NEB)® との提携により、ライブラリの品質を改善、調製時のダメージを与えるバイサルファイト処理を不要にする新しいメチル化シーケンスのワークフローを提供します。このワークフローは、5-メチルシトシン (5mC) および 5-ヒドロキシメチルシトシン (5hmC) の部位を同定するため、非メチル化シトシンの酵素による変換 (図 1) を含みます。

酵素による変換によって、より良好な状態でより完全なライブラリが作製され、最終的に、より高感度のメチル化検出が可能となります。このライブラリ調製システムは、ターゲットメチロームシーケンスを行う Twist メチル化パネルを用いた下流のエンリッチメントに適しています。

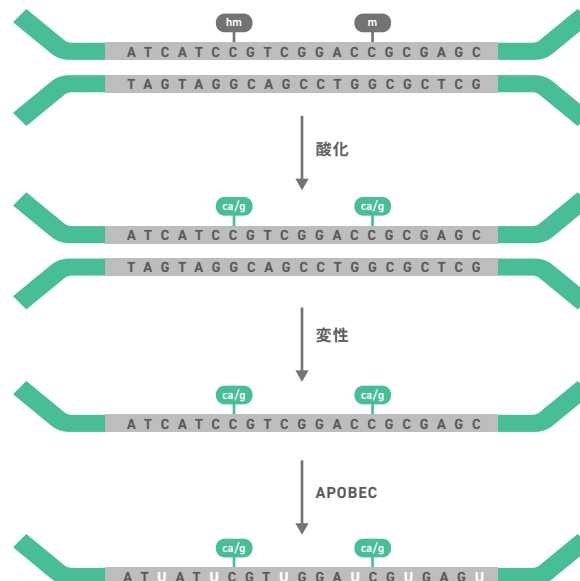


図 1: 非メチル化シトシンを同定するため、EM-seq 変換には、一連の酵素反応が伴います。第 1 反応時に、テンイレブ転座ジオキシゲナーゼ 2 (TET2) により、メチル化シトシン (5mC および 5hmC) が 5-カルボキシルシトシン (5caC) に変換され、酸化エンハンサーにより、5hmC がグルコシル化 (5ghmC) されます。これらの反応により、5mC および 5hmC は下流の脱アミノ化から保護されます。次に DNA が変性され、その後の APOBEC によりシトシンが脱アミノ化されてウラシルとなります。以後の PCR 増幅により、修飾された 5mC または 5hmC はシトシンに、ウラシルはチミンに変換されます。PCR 後のヌクレオチド状態はバイサルファイト変換 DNA で得られるものと同じであるため、EM-seq と Bismark や bwa-meth などの既存の解析パイプラインとの適合性があります。

Twist 高速ハイブリダイゼーションシステムおよびカスタムメチル化パネル

Twist 高速ハイブリダイゼーション・洗浄キットは、最大の柔軟性で最適な性能を実現します。試薬およびステップを最適化することにより、下流のシーケンス指標を調整し、ハンズオン時間およびピペット使用を削減できます。Twist カスタムメチル化パネルは、非常に高度なアルゴリズムを駆使して、広範なターゲットサイズに対して想像を超える効率でターゲットをキャプチャします。コンポーネントを組み合わせることで、特定の領域に対する業界トップクラスのハイブリッドキャプチャを実現します。

Twist メチル化エンハンサー

ターゲットメチル化シーケンスワークフローでは、オフターゲットキャプチャが頻繁に起こります。これは、変換プロセスにより、ライブラリ調製時のサンプルの配列の複雑性が低減されるためです。変換後のサンプルのキャプチャを最大化するために、Twist メチル化検出システムは、メチル化検出用に設計された専用のブロッカーを備えています。この試薬は、メチル化エンハンサーと呼ばれ、他の性能指標に影響を及ぼすことなく、オフターゲットキャプチャを 1/2 も低減します (図 2)。

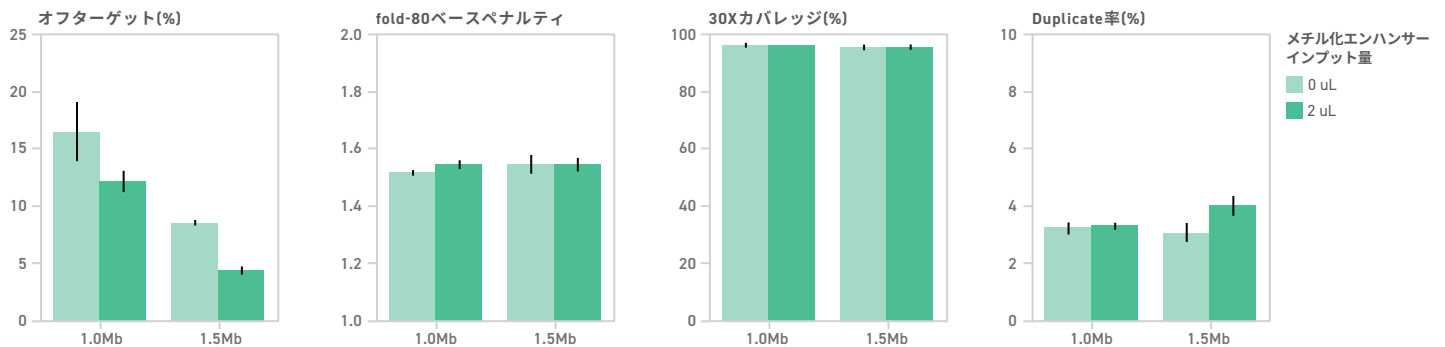


図 2: メチル化エンハンサーの性能 メチル化エンハンサーの追加により、1.0Mb および 1.5Mb カスタムメチル化パネルによるオフターゲットキャプチャが効果的に低減されました。

特異的にメチル化された領域の高感度検出

メチル化レベルはヒトゲノム全体で大きな差がありますが、特異的にメチル化された領域 (differentially methylated regions; DMR) を使用することで、特定のがんを同定することができます。メチル化レベルが Twist メチル化検出システムの性能に及ぼす影響を確認するため、低メチル化および高メチル化ゲノム DNA を所定の割合で組み合わせることにより、さまざまなメチル化レベル (メチル化率 0 ~ 100%) のライブラリを作製しました。この解析により、メチル化レベルが最終的なシーケンシング指標に及ぼす影響が極めて少ないことが示されました (図 3)。

Twist メチル化検出システムは、低メチル化も高メチル化領域も高感度でキャプチャします。図 4 に、*CCND2* 遺伝子座におけるメチル化検出を示します。Twist メチル化検出システムは、低いインプットレベルでも、高感度のメチル化検出を示しました。

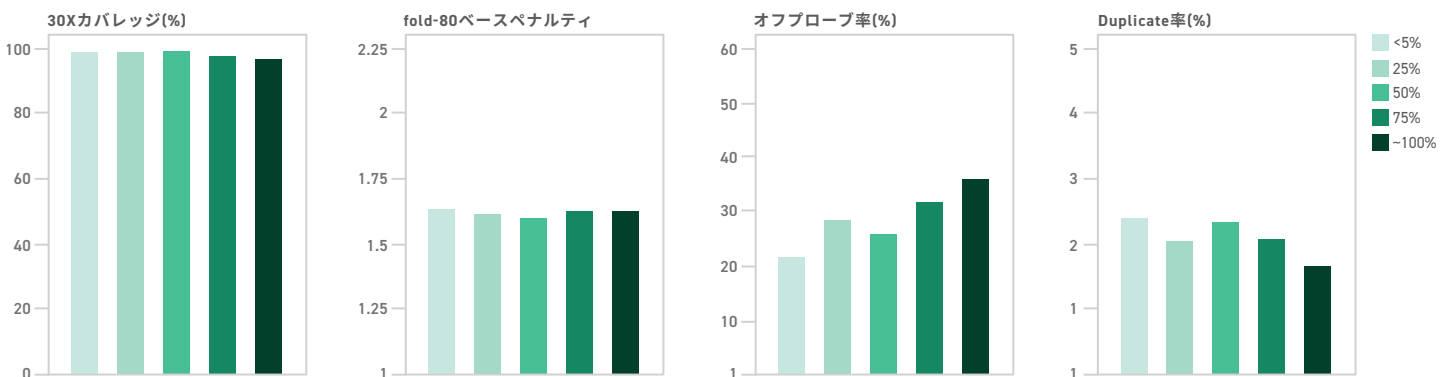


図 3: DMR の検出。Twist メチル化検出システムは、メチル化率 0 ~ 100% のインプットされた DNA の特異的にメチル化された領域を、30x カバレッジおよび均一性 (fold-80 ベースペナルティ) を含むシーケンス指標への影響が極めて少ないかまたは全くない状態で、効率的にキャプチャします。

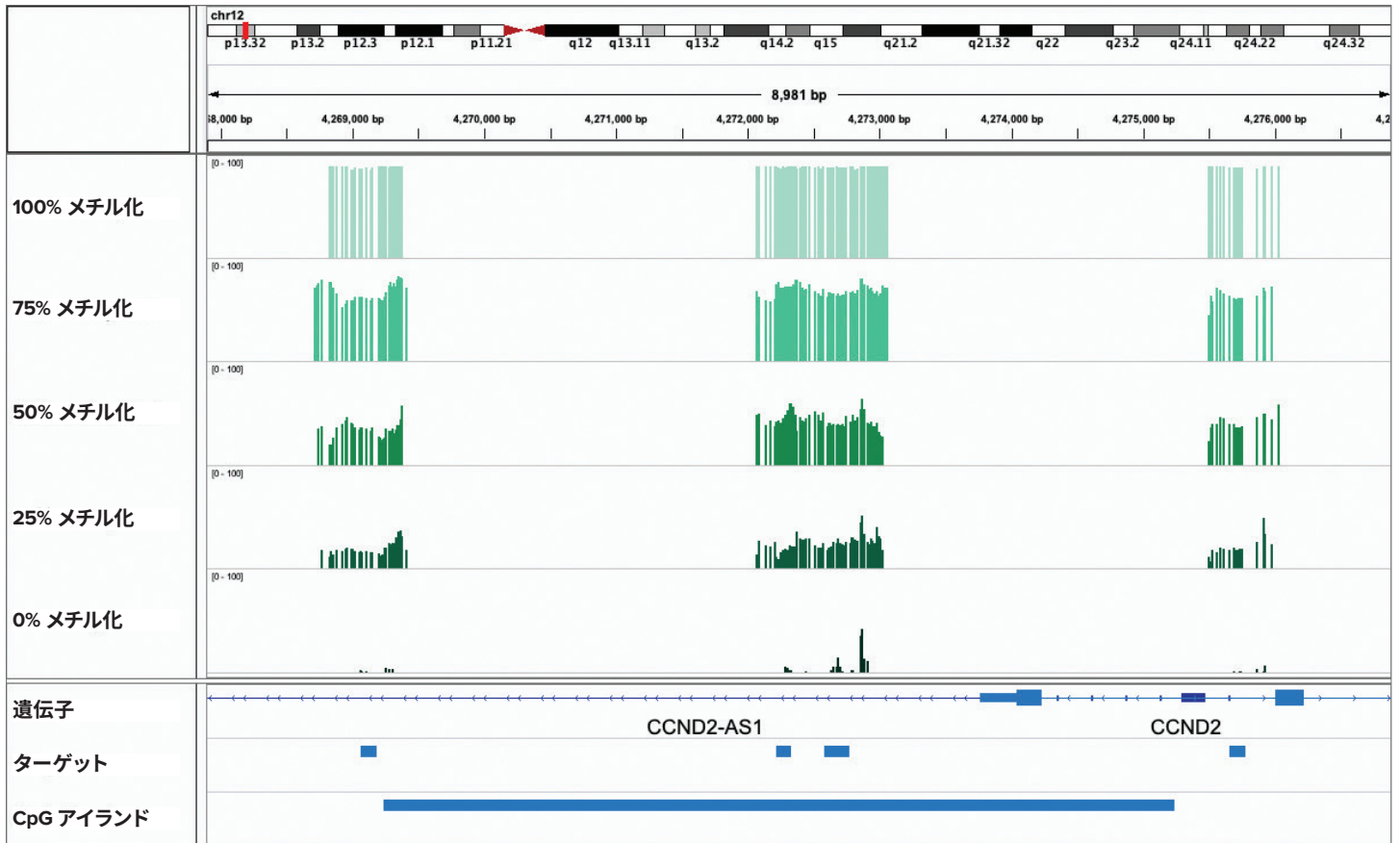


図 4：高感度メチル化検出。広範なメチル化レベルおよびターゲットに対してメチル化の検出が可能です。

本製品は、米国特許番号 US9896726、US9121061、US10619200、US10260088、US10226646、欧州特許番号 EP2825645B1 および諸外国の対応する特許の下で、New England Biolabs, Inc. より研究用にライセンス許諾されています。本製品を Twist Bioscience Corporation、関連会社、または正規販売代理店から購入した場合、本製品の使用は研究用に限定され、譲渡することは出来ません。

お問い合わせ先
 twistbioscience.com
 jsales@twistbioscience.com
 customersupport@twistbioscience.com

注文案内

- 101976 : NEBNext® EM-Seq Kit™ for Twist Targeted Methylation Sequencing、96 サンプル**
- 103558 : Twist Methylation Enhancer、96 反応**
- 100767 : Twist Universal Blocker、96 反応**
- 100984 : Twist Binding and Purification Beads Kit、96 反応**
- 101175 : Twist Fast Hybridization and Wash Kit、96 反応**

反応数 2 および反応数 12 のサイズも、エンリッチメント用に提供されています。

Twist カスタムパネルは別途ご注文いただくことができます。詳細については、販売担当者までお問い合わせください。