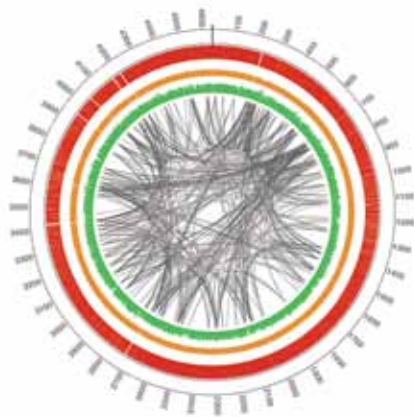


図2：大腸菌アセンブルのMiSeq結果をCircosで描画



大腸菌MG1655株のMiSeqのデータをアセンブルした結果を示します。ゲノムの位置は白の外円で、遺伝子は赤で表示しています（数値は1000単位）。*De novo*アセンブルのカバレッジはオレンジで示しており、BLASTを使って完全なリファレンスにアラインし、一致率99%でフィルターしています。GC%は緑で、ゲノム上の繰り返し配列は灰色の線で示しています。

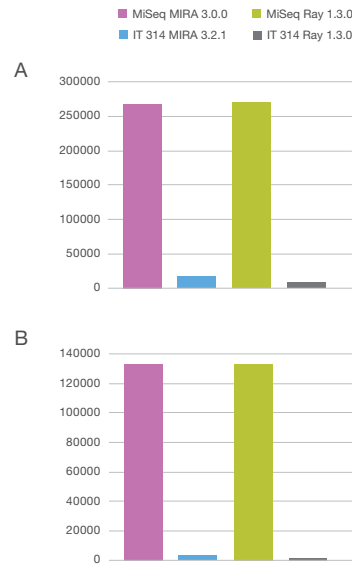
のGC%の範囲でも均一なカバレッジを示しています（図1）。MiSeqシステムからのアセンブルを大腸菌リファレンス配列に重ねたCircosというソフトウェアを用いて描画したところ（図2）、全ゲノムに対して優れたカバレッジが得られていることがわかりました。

MiSeqの150塩基ペアエンド解析ランでおこなった*de novo*アセンブルは、Ion Torrent³のデータと比較しました。同等の比較を行うために、MiSeqのデータは50xカバレッジまでダウンサンプリングを行い、231Mbのデータセットとしました。これはMiSeqランの約7分の1のデータ量に相当します。最大コンティグ長およびN50の値は、ダウンサンプリングしたMiSeqデータの方がIon Torrentのデータセットと比べて圧倒的に優れている結果となりました（図3Aおよび4A）。

まとめ

バクテリアDNAから作成したライブラリーをMiSeqとHiSeqシステムでランを行ったところ、同様のデータが得られました。両システムともQ30以上の塩基が全体の85%以上を占め、また均一なGCカバレッジで高品質のデータを産出しました。同じデータセットを用いて*de novo*アセンブルを行ったところ、

図3： *de novo*アセンブルで得られたコンティグとN50長



A. MiSeqおよびIon Torrentアセンブリで得られた最大コンティグ長を示します。MiSeqの結果は紫(MIRA v3.0.0)、緑(Ray v1.3.0)で表示し、Ion Torrentアセンブリ結果は青(MIRA v3.2)および灰色(Ray v1.3.0)で表示しています。
B. N50は、コンティグ長の長い配列から順にコンティグ長を足していった際に、全コンティグの合計塩基長の50%となった時のコンティグの長さを示し、アセンブルの結果を評価する際の1つの指標として利用されます。

リファレンス配列と比較したカバレッジも優れており、両システム同様の結果となりました。MiSeqシステムで得られるシーケンス結果は、高スループットのHiSeq 2000システムのデータとも再現性があり、MiSeqシステムがスピードと精度を必要とする大規模プロジェクトのパイロットテストや、独立した実験系に適していることがわかりました。*De novo*アセンブルでは、MiSeqから得られる高品質なペアエンド法の重要性が、Ion Torrentと比較して特に明らかとなりました。MiSeqのペアエンド法で得られる高品質なアセンブル結果は、優れたデータがゲノムの正確な全体像を捉えることを示しています。

References

1. http://www.chevreux.org/projects_mira.html
2. <http://sourceforge.net/projects/denovoassembler/files>
3. <http://pathogenomics.bham.ac.uk/blog/2011/05/first-look-at-ion-torrent-data-de-novo-assembly>

イルミナ株式会社

〒108-0014
東京都港区芝5-36-7 三田ベルジュビル22階
Tel (03)4578-2800 Fax (03)4578-2810
www.illumina.co.jp

代理店

本製品の使用目的は研究に限定されます。

© 2013 Illumina, Inc. All rights reserved.

Illumina, illumina Dx, BaseSpace, BeadArray, BeadXpress, cBot, CSPRO, DASL, DesignStudio, Eco, GAlIx, Genetic Energy, Genome Analyzer, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, Infinium, iSelect, MiSeq, Nextera, NuPCR, SeqMonitor, Solexa, TruSeq, TruSight, VeraCode, the pumpkin orange color, the Genetic Energy streaming bases design は Illumina, Inc. の商標または登録商標です。

その他の会社名や商品名は、各社の商標または登録商標です。予告なしに仕様を変更する場合があります。

Pub. No. 770-2011-J009 20SEP11

illumina®